

Cilt / Volume: 9, Sayı / Issue: 2

Haziran / June, 2019

ISSN 2146-0574

E-ISSN 2536-4618

FBED / JIST

Uluslararası Hakemli Dergi / International Peer Reviewed Journal

**İĞDIR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER
ENSTİTÜ DERGİSİ**

**JOURNAL OF THE INSTITUTE
OF SCIENCE AND
TECHNOLOGY**



FBED / JIST

İĞDIR ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLER

ENSTİTÜ DERGİSİ

***Journal of the Institute
of Science and Technology***

<http://dergipark.gov.tr/jist>



İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi (FBED)
Journal of the Institute of Science and Technology (JIST)
(Uluslararası Hakemli Dergi / International Peer Reviewed Journal)

Basılı ISSN 2146-0574
Elektronik ISSN 2536-4618

Veri Tabanı / Indexed by

TR Dizin, EBSCO, ROAD, Open Access Library (oalib), COSMOS IF, Sobiad, Google Scholar, Türkiye Atıf Dizini, International Institute of Organized Researches, Sindex, CrossRef, Eurasian Scientific Journal Index, CiteFactor, International Scientific Indexing, CAB Abstract

Sahibi / Owner

Prof. Dr. Mehmet Hakkı ALMA
Rektör / Rector

Sorumlu Müdür / Director

Doç. Dr. Süleyman TEMEL / Assoc. Prof. Dr. Süleyman TEMEL
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü / Director of the Inst. of Sci. and Technology

Baş Editör / Editor in Chief

Doç. Dr. Süleyman TEMEL / Assoc. Prof. Dr. Süleyman TEMEL

Yardımcı Editörler / Associate Editors

Doç. Dr. Bilal KESKİN / Assoc. Prof. Dr. Bilal KESKİN
Dr. Öğr. Üyesi Ersin GÜLSOY / Assist. Prof. Dr. Ersin GÜLSOY
Dr. Öğr. Üyesi Adem KOÇYİĞİT / Assist. Prof. Dr. Adem KOÇYİĞİT
Dr. Öğr. Üyesi Ümit YILDIKO / Assist. Prof. Dr. Ümit YILDIKO

Danışma Kurulu/ Advisory Board

Prof.Dr. Kağan KÖKTEN / *Field Crop*, Bingol University, Agricultural, Bingol, Turkey
Prof.Dr. Abdulmecit TÜRÜT/ *Physics*, İstanbul Medeniyet University, İstanbul, Turkey
Prof.Dr. Muhammad SARWAR, *Animal Science*, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan
Prof.Dr. Vaqif ABBASOV, *Chemistry*, Neft Kimya Prosesleri Institutu, Azerbaijan
Prof.Dr. Şükrü BAYDEMİR, *Biochemistry*, Anadolu University, Eskisehir, Turkey
Prof.Dr. Salih DOĞAN, *Zoology*, Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, Turkey
Doç.Dr. Özkan AKSAKAL, *Botanical*, Ataturk University, Erzurum, Turkey
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet POLAT, *Horticulture*, Isparta University, Isparta, Turkey
Dr.Snezana ANDJELKOVIC, *Forage Crops*, Institute Za Krmno Bilje, Krusevac, Republic of Serbia

Tasarım / Design

Doç.Dr.Bilal KESKİN
Arş.Gör. Barış EREN
Arş.Gör. Hasan Kaan KÜÇÜKERDEM

ULUSAL EDİTÖRLER KURULU
NATIONAL EDITORIAL BOARD

Doç. Dr. Beyhan KİBAR, Bahçe Bitkileri
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Ersin GÜLSOY, Bahçe Bitkileri
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Mücahit PEHLUVAN, Bahçe Bitkileri
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Prof. Dr. Ahmet ULUDAĞ, Bitki Koruma
Düzce Üniversitesi, Düzce, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Celalettin GÖZÜAÇIK, Bitki Koruma
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Tuba GENÇ KESİMCİ, Bitki Koruma
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜRBÜZ, Bitki Koruma
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Prof. Dr. Ümit İNCEKARA, Biyoloji
Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Emel DİRAZ, Biyoloji
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üni., K.Maraş, Türkiye

Doç. Dr. Hakan KİBAR, Biyosistem
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, Türkiye

Doç. Dr. Sefa ALTIKAT, Biyosistem,
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Doç. Dr. Handan UCUN ÖZEL, Çevre Mühendisliği
Bartın Üniversitesi, Bartın, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun ALTIKAT, Çevre Mühendisliği
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Züleyha BİNGÜL, Çevre Mühendisliği
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Adem KOÇYİĞİT, Elektrik-Elekt.Müh.
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Kenan ÇİÇEK, Elektrik-Elekt Müh.
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Doç. Dr. Ferdi AKMAN, Fizik
Bingöl Üniversitesi, Bingöl, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi İkrım ORAK, Fizik
Bingöl Üniversitesi, Bingöl, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Abdulkemir KARABULUT, Fizik
Sinop Üniversitesi, Sinop, Türkiye

Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN, Gıda Mühendisliği
Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

Prof. Dr. İhsan Güngör ŞAT, Gıda Mühendisliği
Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Uğur GÜLLER, Gıda Mühendisliği
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Doç. Dr. İlker KAZAZ, İnşaat Mühendisliği,
Erzurum Teknik Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Yasin ÇODUR, İnşaat Müh.,
Erzurum Teknik Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Mehrzad MOHABBİ, İnşaat Mühendisliği
Bingöl Üniversitesi, Bingöl Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Fikret TÜRKAN, Kimya,
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Zeynep TURHAN IRAK, Kimya,
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Ümit YILDIKO, Kimya
Kafkas Üniversitesi, Kars, Türkiye

Doç. Dr. Mahir UZUN, Makine Mühendisliği
İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Gökçen AKGÜN, Makine Mühendisliği
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi İsmail Hakkı KORKMAZ, Makine Müh.
Erzurum Teknik Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

Doç. Dr. Rıdvan ŞAHİN, Matematik
Gümüşhane Üniversitesi, Gümüşhane, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Gökçe DİLEK KÜÇÜK, Matematik
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Lokman BİLEN, Matematik
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Kaan HÜRKAN, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Prof. Dr. Mehmet Hakkı ALMA, Orman Endüstri Müh.
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Doç. Dr. Ahmet Tuğrul POLAT, Peyzaj Mimarlığı,
Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye

Doç. Dr. Murat ZENGİN, Peyzaj Mimarlığı
Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye

Prof. Dr. Deniz ÇOBAN, Su Ürünleri
Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi İlknur MERİÇ, Su Ürünleri
Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Yakup Erdal ERTÜRK, Tarım Ekonomisi
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Prof. Dr. Burhan KARA, Tarla Bitkileri
Isparta Üniversitesi, Isparta, Türkiye

Doç. Dr. Bilal KESKİN, Tarla Bitkileri
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Doç. Dr. Süleyman TEMEL, Tarla Bitkileri
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Adem GÜNEŞ, Top. Bilimi ve Bitki Bes.
Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi Serdar SARI, Top. Bilimi ve Bitki Bes.
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Prof. Dr. Sulhaddin YAŞAR, Zootekni
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

Dr. Öğr. Üyesi İsa YILMAZ, Zootekni,
Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye

ULUSLARARASI EDİTÖRLER KURULU
INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Muhammad HANIF, Mathematic
Lahore Üniversitesi, Lahore, Pakistan
Prof. Dr. Muhammad SARWAR, Animal Science
University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan
Prof. Dr. Tan YANWEN, Economics
South China Agricultural University, Guangzhou, China
Prof. Dr. Abdul WAHID, Department of Botany
University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan
Prof. Dr. Zafar IQBAL, Veterinary Science
University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan
Prof. Dr. Khalid JAVED, Dep. of Livestock Prod.
University of Vet. & Animal Sciences, Lahore, Pakistan
Prof. Dr. Guang Jie ZHAO, Forestry,
Beijing Forestry University, China
Prof. Dr. Vaqif ABBASOV, Chemistry,
Neft Kimya Prosesleri Institutu, Azerbaijan
Prof. Dr. Emanuele BOSELLI, Food Science and Technology
Free University of Bozen, Bolzano, Italy
Prof. Dr. Lenka KOURIMSKA, Food and Nutrition,
Czech University of Life Sciences Prague, Suchdol, Czech
Republic

Assist. Prof. Dr. Christina BENEKI, Dep. of Bus. Admin.
Tech. Educ. Inst. of Ionian Islands, Cephalonia, Greece
Dr. Abdul WAHEED, Animal Science
Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan
Dr. Snezana ANDJELKOVIC, Forage Crops
Institute for Forage Crops(IFC), Krusevac, Republic of Serbia
Dr. Ferhat ABBAS, Vet- Animal Science, CASVAB
University of Balochistan, Balochistan, Pakistan
Dr. Naveen KUMAR, Horticulture
University of Florida, Florida, USA

DİL EDİTÖRLERİ
LANGUAGE CONSULTANTS

Okutman Didem ERDEL,
İğdır Üniversitesi, İğdır, Türkiye
Uzm. Handan YILDIZ,
Milli Eğitim Müdürlüğü, İğdır, Türkiye
Uzm. Talha YILDIZ,
İğdır Üniversitesi, İğdır, Türkiye

BU SAYININ HAKEM LİSTESİ
REFEREE LIST IN THIS NUMBER

Prof. Dr. Selçuk HELHEL, Elektrik Elektronik
Mühendisliği
Prof. Dr. Abdullah MART, Biyoloji
Prof. Dr. Adem TATAROĞLU, Fizik
Prof. Dr. Atilla DURMUŞ, Biyoloji
Prof. Dr. Bilgehan GÜZEL, Kimya
Prof. Dr. Cüneyt AKI, Biyoloji
Prof. Dr. Duygu AKTÜRK, Tarım Ekonomisi
Prof. Dr. Erdal DAĞISTAN, Tarım Ekonomisi
Prof. Dr. Ferhad MURADOĞLU, Bahçe Bitkileri
Prof. Dr. Feyyaz DURAP, Kimya
Prof. Dr. Hakan AŞKIN, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Prof. Dr. Halil CETİŞLİ, Kimya
Prof. Dr. Hasan YILMAZ, Peyzaj Mimarlığı
Prof. Dr. İbrahim Abdülhey HAYOĞLU, Gıda
Mühendisliği
Prof. Dr. İlkey DELLAL, Tarım Ekonomisi
Prof. Dr. Kenan YILDIZ, Bahçe Bitkileri
Prof. Dr. Keziban ORBAY, Matematik
Prof. Dr. Mehmet Ali KOYUNCU, Bahçe Bitkileri
Prof. Dr. Mehmet Ali TABUR, Biyoloji
Prof. Dr. Mehmet Murat KARAOĞLU, Gıda
Mühendisliği

Prof. Dr. Mesut TAŞKIN, Moleküler Biyoloji ve
Genetik
Prof. Dr. Murat AYDIN, Fizik
Prof. Dr. Murat KAYA, Biyoloji
Prof. Dr. Mustafa Hürşit ÖNSİPER, Matematik
Prof. Dr. Mustafa SÖZEN, Biyoloji
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ, Kimya
Prof. Dr. Nafiz ÖNCÜ CAN, Kimya
Prof. Dr. Nermin GOZUKIRMIZI, Moleküler Biyoloji
ve Genetik
Prof. Dr. Sait GEZGİN, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme
Prof. Dr. Selahattin MADEN, Matematik
Prof. Dr. Serpil ÖNDER, Peyzaj Mimarlığı
Prof. Dr. Şevki ARSLAN, Biyoloji
Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ, Fizik
Prof. Dr. Tamer UĞUR, Matematik
Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN, Biyoloji
Prof. Dr. Yusuf ATALAY, Fizik
Prof. Dr. Yüksel COŞKUN, Biyoloji
Prof. Dr. Zeki BAYRAMOĞLU, Tarım Ekonomisi
Doç. Dr. Ahmet TOPAL, Su Ürünleri
Doç. Dr. Arzu ÖZEK YILDIRIM, Fizik
Doç. Dr. Çeknas ERDİNÇ, Bahçe Bitkileri
Doç. Dr. Fatih DADAŞOĞLU

- Doç.Dr. Fatma MUTLU, Biyoloji
Doç.Dr. Feride AKMAN, Kimya
Doç.Dr. Gülden YILMAZ, Biyoloji
Doç.Dr. Halil GÖKCE, Fizik
Doç.Dr. Havva KAVURMACI ÖNALAN, Matematik
Doç.Dr. IŞIK SEZEN, Peyzaj Mimarlığı
Doç.Dr. Mehmet POYRAZ, Kimya
Doç.Dr. Menekşe DİDEM DEMİRCAN
Doç.Dr. Mesut KARAHAN, Biyokimya
Doç.Dr. Metin DEMİR, Peyzaj Mimarlığı
Doç.Dr. Murat DURAN, Kimya
Doç.Dr. Mücahit PEHLUVAN, Bahçe Bitkileri
Doç.Dr. Oğuz TAŞBOZAN, Su Ürünleri
Doç.Dr. Orhan GEZİCİ, Kimya
Doç.Dr. Selim CEYLAN, Kimya
Doç.Dr. Semet ÇELİK, İnşaat Mühendisliği
Doç.Dr. Seyrani KONCAGÜL, Zootekni
Doç.Dr. Sezer OKAY, Biyoloji
Doç.Dr. Tarık ARAL, Kimya
Dr.Öğr. Üyesi İbrahim DOLAK, Kimya
Dr.Öğr. Üyesi Serkan ÖRTÜCÜ, Biyoloji
Dr.Öğr.Üyesi Gökçe KARADAYI, Moleküler Biyoloji ve enetik
Dr.Öğr.Üyesi İrfan DELİ, Matematik
Dr.Öğr.Üyesi Abdülmelik ARAS, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Adnan YILDIZ, Çevre Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Ahmet Refik ÖNAL, Zootekni
Dr.Öğr.Üyesi Ahmet Turan TEKEŞ, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Alkan ÖZKAN, Matematik
Dr.Öğr.Üyesi Aysun ALTIKAT, Çevre Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Bedrettin SAVAŞ, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Burcu BEGÜM KENANOĞLU, Bahçe Bitkileri
Dr.Öğr.Üyesi Burcu Emine TEFON ÖZTÜRK, Biyoloji
Dr.Öğr.Üyesi Cüneyt ÇAĞLAYAN, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Demet İSKENDEROĞLU, Fizik
Dr.Öğr.Üyesi Eda FEYZA AKYÜREK, Makina Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Emre DEMİRER DURAK
Dr.Öğr.Üyesi Erbay KALAY, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Ersin GÜLSOY, Bahçe Bitkileri
Dr.Öğr.Üyesi Evren KOÇ, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Eyüphan MANAY, Makina Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Faruk KARAASLAN, Matematik
Dr.Öğr.Üyesi Fatih ŞEN, Fizik
Dr.Öğr.Üyesi Fatih TOSUNOĞLU, İnşaat Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Ferhat KIZILGEÇİ, Tarla Bitkileri
Dr.Öğr.Üyesi Ferit SÖNMEZ, Bahçe Bitkileri
Dr.Öğr.Üyesi Hakan Can SÖYLEYİCİ, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Hamid CEYLAN, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Dr.Öğr.Üyesi Hasan BİRCAN, Fizik
Dr.Öğr.Üyesi Hüccet VURAL, Peyzaj Mimarlığı
Dr.Öğr.Üyesi Kadirhan POLAT, Matematik
Dr.Öğr.Üyesi Maksut MAKSUTOĞLU, Fizik
Dr.Öğr.Üyesi Mehmet Harbi ÇALIMLI, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Mehmet Nuri ATALAR, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Mehmet salih NAS, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Melahat GÖKTAŞ, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Mesut IŞIK, Kima
Dr.Öğr.Üyesi Mubin KOYUNCU, Gıda Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Nurgül ARISOY, Peyzaj Mimarlığı
Dr.Öğr.Üyesi Ömer Faruk YEŞİL, Gıda Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi ÖZKAN BAYRAM, Elektrik-Elektronik Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Raciye MERAL, Gıda Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Rahim Kağan AKBULUT, İnşaat Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Serdar SARI, Toprak
Dr.Öğr.Üyesi Sevil ERDOĞAN, Biyoloji
Dr.Öğr.Üyesi Türkay KOTAN, İnşaat Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi Ümit YILDIKO, Kimya
Dr.Öğr.Üyesi Yasemin ÖZTÜRK, Biyoloji
Dr.Öğr.Üyesi Zakir ÇALDIRAN, Fizik
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep Neşe KURT ALBAYRAK, İnşaat Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi. Cemalettin BALTACI, Gıda Mühendisliği
Dr.Öğr.Üyesi. Gülden SANDAL ERZURUMLU, Peyzaj Mimarlığı
Dr. Şenay SÜNGÜ ŞEKER, Biyoloji
Dr. Yunus Emre OSMANOĞLU, Fizik
Dr. Elanur ADAR, Çevre Mühendisliği
Dr. Merve KAYACI ÇODUR, Endüstri Mühendisliği.
Dr. Mustafa Tuğfan BİLKAN, Fizik
Dr. Zehra Nur ERENGİL ÖZER, Fizik

İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi (FBED)

YAYIN İLKELERİ

1. FBED, Uluslararası hakemli bir dergi olup yılda dört kez yayınlanır. Dergimiz herhangi bir ücret talep etmemektedir. Makalelerin tümüne açık erişimle ulaşılabilir ve tam metin olarak indirilebilir.
2. Dergiye gönderilebilecek makale konuları bahçe bitkileri, bitki koruma, bitkisel ve hayvansal üretim, biyoloji, biyosistem mühendisliği, çevre mühendisliği, elektrik elektronik mühendisliği, fizik, gıda mühendisliği, harita mühendisliği, inşaat mühendisliği, kimya, makina mühendisliği, matematik, moleküler biyoloji ve genetik, orman mühendisliği, peyzaj mimarlığı, su ürünleri, tarım ekonomisi, tarımsal mekanizasyon, tarımsal yapılar ve sulama, tarla bitkileri, toprak bilimi ve bitki besleme ve zootečni'dir
3. Dergide orijinal araştırma makalesi, derleme, teknik not yayımlanabilir.
4. Tüm yazılar en az iki profesyonel hakem tarafından değerlendirilir, Editör ve Yayın Kurulu tarafından incelenir.
5. FBED Türkçe ve İngilizce dillerinde yazılmış orijinal araştırma makaleleri, kısa notlar, teknik notlar ve derlemeler (toplam yayınların %20) yayınlamayı planlamaktadır. Ayrıca, FBED diğer ülkelerden gelen araştırmaları kabul etmektedir.
6. Yayınlanması istenilen eserlerin herhangi bir yerde yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur.
7. Dergiye yayınlanmak üzere gönderilen eserlerle birlikte Telif Hakkı Devir Sözleşmesi de tüm yazarlarca (farklı adreslerde bulunan yazarlar forma ait tüm bilgileri doldurarak ayrıca imzalamak suretiyle gönderebilirler) imzalanarak gönderilmelidir.
8. Eserlerin tüm sorumluluğu yazarlarına aittir.
9. Aynı sayıda ilk isim olarak bir yazarın en çok iki makalesi basılır.
10. Eserler bilim etiği ilkelerine uygun olarak hazırlanmalı, gerekliyse Etik Kurul Raporu'nun bir kopyası eklenmelidir.
11. Sunulan metinler en çok 15 sayfa olmalıdır.
12. Herhangi bir sorunuz için lütfen fbed@igdir.edu.tr adresine başvurun.

Journal of the Institute of Science and Technology (JIST)

PUBLISHING POLICIES

1. JIST is International Peer Reviewed Journal and published four times a year. Our journal does not charge any fees. All of the articles are accessible by open access and can be downloaded in full text.
2. The articles that can be sent to the journal are horticulture, plant protection, plant and animal production, biology, biosystem engineering, environment engineering, electrical-electronic engineering, physics, food engineering, topographical engineering, civil engineering, chemistry, mechanical engineering, mathematics, molecular biology and genetic, forestry engineering, landscape architecture, fisheries, agricultural economy, agricultural mechanization, agricultural structures and irrigation, field crops, soil science and plant nutrition and animal science.
3. Our journal can be published research article, review, short communication and technical note.
4. All the manuscripts submitted to our journal are peer reviewed by two professional referees, Editor in Chief, and Editorial Board.
5. JIST intends to publish original research papers, short notes, technical notes, and reviews (20% of total papers) written in Turkish and English languages. Also, JIST gladly accepts manuscript submissions from other countries.
6. Manuscripts and communications are accepted on the understanding that these have not been published nor are being considered for publication elsewhere.
7. All the authors should submit their manuscript with transfer form of copyright for potential publication. The transfer form of Copyright should be signed by all authors.
8. All the authors will be responsible contextually for contents of their manuscripts.
9. Only two manuscripts of each author as first author can be published in same issue of JIST.
10. Manuscripts should be prepared in accordance with scientific ethic rules. When required, ethical committee reports with the related documents should be submitted to JIST.
11. Manuscripts submitted should be maximum 15 pages.
12. Please contact for any question to fbed@igdir.edu.tr

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Bahçe Bitkileri / Horticulture

Sürmene İlçesinde (Trabzon) Doğal Olarak Yetişen Muşmula Genotiplerinin (*Mespilus germanica* L.) Seleksiyonu
Selection of Medlar Genotypes (*Mespilus germanica* L.) Grown in Sürmene (Trabzon, Turkey) Province
Murat UZUN, Saim Zeki BOSTAN 604

Kivide Depolama Ve Raf Ömrü Süresince Modifiye Atmosfer Paketlemenin (Map) Meyve Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi
The Influence Of Modified Atmosphere Packaging On Quality Properties Of Kiwifruits During Cold Storage And Shelf Life
Burhan ÖZTÜRK, Erdal AĞLAR 614

Bitki Koruma / Plant Protection

Çilek Bitkilerinde Besin Elementi Miktarına *Verticillium dahliae*'nin Etkisi
The Effect of *Verticillium dahliae* on the Amount of Nutrients in Strawberry Plants
Tuba GENÇ KESİMCİ, Erkol DEMİRCİ, Uğur ŞİMŞEK, Faruk TOHUMCU, Erhan ERDEL 626

Biyoloji / Biology

Kadıköy Barajı'nın (Türkiye) Rotifera Bolluğu ve Tür Çeşitliliği
Diversity and Abundance of Rotifera in Kadıköy Reservoir of Turkey
Hüseyin GÜHER 636

Karadeniz Deniz Sedimentlerinden İzole Edilen Denizel Aktinobakteriler Tarafından Alkali Enzimlerin Üretimi
Production of Alkaline Enzymes by Marine Actinobacteria Isolated from Black Sea Sediments
Cengiz ÇORBACI, Kadriye ÖZCAN 647

Bir Ekmeklik Buğday Çeşidinde (*Triticum aestivum* L. cv. Ceyhan 99) Krom Stresine Karşı Fulvik Asitin Etkileri
The Effects of Fulvic Acid Against on Chromium Stress in a Bread Wheat Variety (*Triticum aestivum* L. cv. Ceyhan 99)
Adnan AKÇİN 655

His-etiketli pro-Mikrobiyal Transglutaminaz Enziminin *Pichia pastoris*'te Üretim Şartlarının Optimizasyonu
Optimization of Production Conditions of His-tagged pro-Microbial Transglutaminase Enzyme in *Pichia pastoris*
Aysun TÜRKANOĞLU ÖZÇELİK 666

Türkiye'den Bazı *Iris* L. Taksonlarının Tohumları Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Gözlemler
Morphological and Anatomical Observations on Seeds of Some *Iris* L. Taxa from Turkey
Mehmet Cengiz KARAİSMAİLOĞLU 674

Comparison of different methods for the isolation of Arabidopsis thaliana nuclear membranes
Fatih ERCİ 681

Heybeli Gölü (Bitlis) Kuş Çeşitliliği Üzerine Bir Araştırma
A Study on Bird Diversity of Heybeli Lake (Bitlis)
Hümevra NERGİZ 692

Gala Gölü Milli Parkı Memelileri
Mammals of Gala Lake National Park/
Beytullah ÖZKAN 699

Karbondioksit'in Neden Olduğu Sıçan Böbrek Dokusu Hasarlarına Karşı Kuersetin'in Koruyucu Etkisi
The Protective Effect Of Quercetin Against To Renal Tissue Damage Induced Carbontetrachloride in Rat
Hurrem TURAN AKKOYUN 708

Pleurotus Sajor-Caju (Fr) Singer'in Yetiştiriciliği ve Verimi Üzerine Araştırmalar
Research on the Production and Yield of Pleurotus Sajor-Caju (Fr) Singer
Hilal ACAY, Abdunnasır YILDIZ 717

Çevre Mühendisliği / Environmental Engineering

Ömrünü Tamamlamış Elektrikli Araç Bataryalarının Çevresel Yönetimi
Environmental Management of End-of-life Electric Vehicle Batteries
Emine CAN GÜVEN, Kadir GEDİK 726

Çevre Mühendisliği / Environmental Engineering

Mezbaha Atıksularının Karakterizasyonu ve Arıtılabilirliğinin Değerlendirilmesi

Characterization of Slaughterhouse Wastewaters and Evaluation of its Treatability

Dilara ÖZTÜRK, Erdiñ ALADAĞ, Alper Erdem YILMAZ, Recep BONCUKCUOĞLU, Tuba BAYRAM

738

The Investigation of Thermodynamics Parameters and Adsorption Kinetic of The Maxilon Blue 5G Dye on Turkey Green Clay

Mehmet Salih NAS

749

Elektrik Elektronik Mühendisliği / Electrical Electronic Engineering

BHR Metamateryal Lens Tasarımı

SRR Metamaterial Lens Design

Bilal TÛTÛNCÛ, Bülent URUL

759

Fizik / Physics

Bazı Seçilen Ferrit Seramikler İçin Radyasyon Soğurma Parametrelerinin Hesaplanması

Calculation of Radiation Absorption Parameters for Some Selected Ferrite Ceramics

Mehmet Fatih TURHAN, Fatma AKDEMİR, Ferdi AKMAN, Aslı ARAZ, Rıdvan DURAK

771

Ditiyofosfatların Bir Türevinin Elektronik ve Termodinamik Özellikleri

Electronic and Thermodynamic Properties of a Derivative of Dithiophosphonates

Alpaslan BAYRAKDAR

780

Naringenin'in Çözücü Ortamlardaki Yapısal-Spektroskopik Özellikleri ve Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Structural-Spectroscopic Properties and Antioxidant Activity Studies of Naringenin in Solvent Media

Mustafa Tuğfan BİLKAN, Çiğdem BİLKAN

790

Gama ile Işınlanmış Etosüksimid Numunesinin Radyasyon Duyarlılığının Elektron Paramanyetik Rezonans Spektroskopisi Yöntemiyle İncelenmesi

Investigation of Radiation Sensitivity of Gamma-Irradiated Ethosuximide Sample by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy

Kerem SÛTÇÛ

800

A study on Sb and F doped tin oxide thin films preparing in condition of different temperature and molarity and their physical comparison

Ahmet BATTAL, Bahattin DUZGUN

811

Structural, Spectroscopic (FT-IR, Raman, NMR and UV-Vis.) and Computational Studies on N-phenylpropanamide

Nuri ÖZTÜRK, Halil GÖKCE, Gökhan ALPASLAN, Yelda BİNGÖL ALPASLAN, Can ALAŞALVAR

823

Effects of (0.01Ni-PVA) interlayer, interface traps (D_{it}), and series resistance (R_s) on the conduction mechanisms(CMs) in the Au/n-Si (MS) structures at room temperature

Seçkin Altındal YERİŞKİN

835

Kimyasal Banyo Biriktirme Metodu ile hazırlanmış CdO İnce Filmlerin Yapısal, Morfolojik ve Optik Özellikleri Üzerinde Molar Konsantrasyonu Etkisi

Effect of Molar Concentration on Structural, Morphological and Optical Properties of CdO Thin Films Prepared by Chemical Bath Deposition Method

Sibel MORKOÇ KARADENİZ

847

Gıda Mühendisliği / Food Engineering

Agar ve Selüloz Gam İlavetinin Kavılca (Triticum Spelta L.) Un ve Ekmeğinin Reolojik ve Dokusal Özellikleri Üzerine Etkisi

The Effect of Addition of Agar and Cellulose Gums on the Rheological and Textural Properties of Kavılca (Triticum Spelta L.)

Flour and Bread

Ferhat YÛKSEL

855

Keçiboynuzu (Ceratonia siliqua L.) Ununun Tavuk Köfte Üretiminde Kullanım Olanakları

Usage Possibilities of Carob (Ceratonia siliqua L.) Flour in Producing of Chicken Meatballs

Osman KILINÇEKER, Ali Mücahit KARAHAN

862

İnşaat Mühendisliği / Civil Engineering

Farklı Görünüm Oranlı Bazalt Liflerin Betonun Mekanik Özelliklerine Etkisi Effect of Aspect Ratio of Basalt Fiber on the Mechanical Properties of Concrete Meral OLTULU, Hasan OKTAN	870
Refrakter Yalıtım Malzemesi Üretimine Deneysel Olarak Araştırılması Experimental Investigation of Refractory Insulation Material Production Bekir GÜNEY	880
Kestelek Bor Atık Kili Katkılı Yüksek Plastisiteli Bir Kilin Mukavemet Özelliklerinin Araştırılması Investigation of Strength Properties of a High Plasticity Clay with Kestelek Boron Waste Clay Additive Zeynep Neşe KURT ALBAYRAK, Emrah TURAN	890
Hydro-Estimator Algoritmasının Mevsimsel Ölçekte Suudi Arabistan'da Değerlendirilmesi Evaluation of the Hydro-Estimator Algorithm over Saudi Arabia on a Seasonal Scale Arzu ÖZKAYA	900
Polipropilen Lif ile Rastgele Donatılan Bir CH Kil Zemininin Donma-Çözülme Çevrimlerinde Serbest Basınç Dayanımının Araştırılması Investigation of Unconfined Compressive Strength in a Freezing-Thawing Cycle of a CH Clay Soil Randomly Equipped with Polypropylene Fiber Yasin ÇALIK, Rahim Kağan AKBULUT, Ahmet Şahin ZAİMOĞLU, Temel YETİMOĞLU	911
Kimya / Chemistry	
Rutin yüklü PLGA Nanopartiküller; Farklı Yöntemler Kullanılarak Sentezi ve Karakterizasyonu Rutin Loaded PLGA Nanoparticles; Synthesis by using Different Methods and Characterization Tuğçe KIRIK, Kadriye KIZILBEY	922
Yeni Palladyum-N-Heterosiklik Karben Komplekslerinin Sentezi ve Mono-Florobenzenlerin Direkt Arilasyonundaki Katalitik Uygulamaları Synthesis of Novel Palladium-N-Heterocyclic Carbene Complexes and Their Catalytic Application in the Direct Arylation of Mono-Fluorobenzenes Murat KALOĞLU	933
Extraction of Fe(III) Ions through MDLM System Containing TOPO as Carrier Ramazan DONAT, Ömür DURMAZ	944
Hidrojen Bağlı 8OBA/ADA İkili Kompleks Sıvı Kristalin Termal ve Mikroyapısal Özellikleri Thermal and Microstructural Properties of Hydrogen Bonded 8OBA/ADA Binary Complex Liquid Crystal Murat SÜNKÜR, Mustafa OKUMUŞ	956
Yeni Nitrobenzofuran Türevlerinin Sentezi ve Antifungal Etkileri Synthesis and Antifungal Activity of New Nitrobenzofuran Derivatives Ahmet Çağrı KARABURUN	967
Sulu Ortamda N-Heterosiklik Karben/Pd(OAc) ₂ Katalizli Heck C-C Eşleşmesi N-Heterocyclic Carbene/Pd(OAc) ₂ Catalyzed Heck Coupling in Aqueous Medium Nazan KALOĞLU	975
Biyoaktif Giemsa Boyama Ajanı İle Suda Çözünen Sulfonato Kaliksaren Moleküllerinin Etkileşiminin Spektrofotometrik Olarak İncelenmesi The Spectrophotometric Investigation of Interaction of Water-Soluble Calixarene with Coloring Agent Bioactive Giemsa Dye Mevlüt BAYRAKCI, Bahar YILMAZ	985
Barbitürik Asitin Enaminon Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu Synthesis and Characterization of Enaminone Derivatives of Barbituric Acid Erkan FIRINCI	993
Kitosan Fiberlerinden İlaç Salımının QCM ile İncelenmesi Investigation of Drug Release from Chitosan Fibers by QCM Neslihan NOHUT MAŞLAKCI	1004

Kimya / Chemistry

- Fenolik Bileşiklerin İnsan Serum Paraoksonaz-1 Enzimi Üzerindeki İnhibisyon Etkileri
Inhibition Effects of Phenolic Compounds on Human Serum Paraoxonase-1 Enzyme
Cüneyt TÜRKEŞ 1013
- Yeni 5-Merkapto-2-(5-metil-furan-2-il-metilidenamino)-1,3,4-tiyadiazol Molekülün Sentezi and Teorik Analizi
Synthesis and Theoretical Analyses of Novel 5-mercapto-2-(5-methyl-furan-2-yl-methylidenamino)-1,3,4-thiadiazole Molecule
Gül KOTAN, Hilal MEDETALİBEYOĞLU, Murat BEYTUR, Onur AKYILDIRIM, Haydar YÜKSEK 1023
- Synthesis and Characterization of Poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) Block Copolymers
Serhat ÖZTÜRK, İsmail ÇAKMAK, Ahmet Turan TEKEŞ, Ümit YILDIKO 1035

Makina Mühendisliği / Mechanical Engineering

- Grafen Tabanlı Nanoakışkanların Araç Radyatörü Soğutma Performansı Üzerindeki Etkisinin Deneysel Analizi
Experimental Analysis of Graphene Based Nanofluids on Vehicle Raditor Cooling Performance
Ferhat KILINÇ, Ertan BUYRUK, Koray KARABULUT 1046

Matematik / Mathematics

- Aralık Nötrosofik Kümeler Arasında Mesafe Tabanlı Benzerlik Ölçüsü ve Çok Kriterli Karar Verme Metodu
Distance-Based Similarity Measure Between Interval Neutrosophic Sets and Multi Criteria Decision Making Method
Gökçe DİLEK KÜÇÜK 1057
- Some New Results on Soft n - T_4 Spaces
Orhan GÖÇÜR 1066
- n -kere Türevlenebilen h -konveks ve h -konkav fonksiyonlar için İntegral Eşitsizlikler
Integral Inequalities for n -Times Differentiable h -Convex and h -Concave Functions
Huriye KADAKAL 1073
- 3-Boyutlu Minkowski Uzayında Timelike Binormalı Spacelike Eğrinin Tabii Liftini Asimptotik Kabul Eden Yüzey Ailesi
Surface Family With a Common Natural Asymptotic Lift of a Spacelike Curve with Timelike Binormal in Minkowski 3-Space
Evren ERGÜN, Ergin BAYRAM 1082
- $QC(X)$ Üzerinde Yarı Kompakt-Açık Topoloji
The Quasicompact-Open Topology on $QC(X)$
İsmail OSMANOĞLU 1090

Moleküler Biyoloji ve Genetik / Molecular Biology and Genetic

- Apodemus mystacinus*' un (Mammalia: Rodentia) Genetik Çeşitliliğinin SSR ile Belirlenmesi
Determination of Genetic Diversity in *Apodemus mystacinus* (Mammalia: Rodentia) based on SSRs
Gül OLGUN KARACAN, Dilek BETEŞ 1098
- Tec1 Proteininin *NTH1* Promotoruna Bağlanması Moleküler Modellemesi
The Molecular Modelling of Tec1 Protein Binding to *NTH1* Promoter
Tülay TURGUT GENÇ, Selen ÇAKAS 1109
- Anadolu Orkidesi'nde (*Orchis anatolica* Boiss.) Ribozomal DNA'nın Transkripsiyonu Yapılan İç Ara Bölgelerinin (ITS) Özellikleri
Properties of the Internal Transcribed Spacer Region of the Nuclear Ribosomal DNA on *Orchis anatolica* Boiss.
Kaan HÜRKAN 1117

Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture

- Comparative Analysis of Park User Preferences in Konya (Turkey) and Kirkuk (Iraq) Cities
Walaa Ghassan ALABBAS, Ahmet Tuğrul POLAT 1128
- Kent Parklarında Kullanılan Donatı Elemanlarının Estetik ve Fonksiyonel Açından Yeterlilikleri; Erzurum Kenti Örneği
Efficiency of Equipment Elements Used In Urban Parks From Aesthetical and Functional Perspectives; In the Sample of Erzurum City
Elif AKPINAR KÜLEKÇİ, Mehmet Akif IRMAK 1144

Su Ürünleri / Fisheries

Temefos'a Maruz Kalan Gökkuşluğu Alabalıklarında, Antioksidan Cevaplar
Responses of Antioxidant in Rainbow Trout Exposed to Temephos
Veysel PARLAK, Arzu UCAR, Gonca ALAK, Muhammed ATAMANALP

1156

Tarım Ekonomisi / Agricultural Economy

Dış Göçlerin Mevsimlik Tarım İşçiliği Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi
Evaluation Of External Immigration's Effects On Seasonal Agricultural Labour
Zeki BAYRAMOĞLU, Merve BOZDEMİR

1164

Gıda Kodekslerinin Tarım ve Gıda Ürünleri Dış Ticareti Bakımından İncelenmesi
Evaluation of Food Codex in Terms of Agriculture and Food Products Foreign Trade
Sinan DURU, Aykut GÜL, Seyit HAYRAN

1177

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme / Soil Science and Plant Nutrition

Kükürt Uygulamalarına Bağlı Olarak Hıyar Bitkisinin (*Cucumis Sativus L.*) Antioksidant Enzim Aktivitesindeki Değişimler
The Changes of Antioxidant Enzyme Activity of Cucumber Plant (*Cucumis Sativus L.*) Depending on Sulfur Application
Adem GÜNEŞ, Osman SÖNMEZ

1186

Zootekni / Animal Science

Akkeçilerde İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I'in (IGF-I) Laktasyon Dönemindeki Değişimi
Change of Insulin-Like Growth Factor-I in Lactation Period in White Goats
Naciye Melis TERZİ, Erkan PEHLİVAN, Gürsel DELLAL

1193

CORRECTION: The following corrections are needed in the article entitled "Some New Integral Inequalities Related to Convex Functions" which was published in year 2018, volume 8, issue 3, pages 279-286 of this journal.

- 1- In the title, abstract and keywords (both English and Turkish), all the words "convex, convexity, konveks, konvekslik" have taken prefix " (α, m) ".**
- 2- 1., 2., 6., 7., 9., 10., 11., 13. and 14. references in the article have been changed as follows respectively.**

- Alomari MW, Latif MA, Hussain S, 2012. On Ostrowski-type inequalities for functions whose derivatives are m -convex and (α, m) -convex functions with applications. Tamkang Journal of Mathematics, 43 (4), 521-532.
- Bakula MK, Özdemir ME, Pečarič J, 2008. Hadamard type inequalities for m -and (α, m) -convex functions. Jour. of Ineq. In Pure and App. Math., 9 (4), Art. 96, 12 pp.
- İşcan İ, 2013. A new generalization of some integral inequalities for (α, m) -convex functions. Mathematical Sciences, 7 (22), 8 pp.
- Lara T, Quintero R., Rosales E, 2017. m -convexity and functional equations. Moroccan J. Pure and Appl. Anal., 3(1), 56-62.
- Özdemir ME, Kavurmacı H, Set E, 2010. Ostrowski's type inequalities for (α, m) -convex functions. Kyungpook Math. J., 50, 371-378.
- Özdemir ME, Avcı M, Kavurmacı H, 2011. Hermite-Hadamard-type inequalities via (α, m) -convexity. Comput. Math. Appl., 61, 2614-2620.
- Set E, Özdemir ME, Sarıkaya MZ, Karakoç F, 2017. Hermite-Hadamard type inequalities for (α, m) -convex functions via fractional integrals. Moroccan J. Pure and Applied Anal. 3 (1), 15-21.
- Yıldız Ç, Gürbüz M, Akdemir AO, 2013. The Hadamard type inequalities for m -convex functions. Konuralp J. Math., 1 (1), 40-47.
- Yıldız Ç, 2018. New general integral inequalities for quasi-convex functions. New Trends in Math. Sci., 6 (1), 1-7.

Sürmene İlçesinde (Trabzon) Doğal Olarak Yetişen Muşmula Genotiplerinin (*Mespilus germanica* L.) Seleksiyonu

Murat UZUN¹

Saim Zeki BOSTAN^{2*}

ÖZET: Bu çalışma Trabzon ili Sürmene ilçesinde doğada kendiliğinden yetişen ümitvar muşmula (*Mespilus germanica* L.) genotiplerini seleksiyon ıslahı yoluyla belirlemek amacıyla 2012 ve 2013 yıllarında yürütülmüştür. Ümitvar genotipleri belirlemek üzere tartılı derecelendirme yöntemi kullanılmıştır. Araştırmada toplam 18 genotip değerlendirilmiş olup bunlar arasından 8 tanesi meyve ağırlığı, meyve eti yüzdesi, suda çözünür kuru madde miktarı ve toplam kuru madde miktarı dikkate alınarak yapılan tartılı derecelendirme sonucunda ümitvar olarak seçilmiştir. Çalışma sonucunda, sırasıyla, SÜR-6, SÜR-19, SÜR-20, SÜR-7, SÜR-16, SÜR-9, SÜR-15 ve SÜR-17 no'lu genotipler genel kalite özellikleri bakımından en yüksek puanı almıştır. Ümitvar genotiplerde meyve ağırlığı, meyve eni, meyve boyu, tohum ağırlığı, meyve eti oranı, suda çözünür kuru madde miktarı, asitlik, C vitamini ve toplam kuru madde miktarı, sırasıyla, 19.5-24.4 g; 31.1-35.5 mm; 31.4-35.7 mm; 1.2-1.5 g; %93.3- 94.1; % 18.0-22.0; % 1.2-1.5; 4.4-4.7 mg 100 g⁻¹ ve % 20.9-27.0 arasında değişmiştir. Genel kalite özellikleri bakımından SÜR-6 ve SÜR-19 genotipleri ön plana çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Muşmula, *Mespilus germanica*, seleksiyon, genotip, Türkiye

Selection of Medlar Genotypes (*Mespilus germanica* L.) Grown in Sürmene (Trabzon, Turkey) Province

ABSTRACT: This study was carried out to determine the promising medlar (*Mespilus germanica* L.) genotypes grown in Sürmene province (Trabzon, Turkey) in the Eastern Black Sea Region in 2012 and 2013 years by selection breeding. "Weight-Ranked Method" was used to evaluate the promising genotypes. Total 18 wild medlar genotypes were investigated in the study. According to weighted ranked method was done based on fruit weight, fruit flesh percent, total soluble solids and total dry matter 8 wild medlar genotypes were determined as promising genotypes. As a result of this study. SÜR-6, SÜR-19, SÜR-20, SÜR-7, SÜR-16, SÜR-9, SÜR-15 and SÜR-17 numbered genotypes were had the highest score for general quality characteristics. respectively. In the promising genotypes. the fruit weight varied from 19.5 to 24.4 g; fruit width varied from 31.1 to 35.5 mm; fruit length varied from 31.4 to 35.7 mm; seed weight varied from 1.2 to 1.5 g; fruit flesh percent varied from 93.3 to 94.1 %; total soluble solids varied from 18.0 to 22.0 %; titratable acidity varied from 1.2 to 1.5 %; vitamin C varied from 4.4 to 4.7 mg 100 g⁻¹ and total dry matter varied from 20.9 to 27.0 %. Genotypes 6 and 19 are remarkable in terms of general quality characteristics.

Keywords: Medlar. *Mespilus germanica*, selection, genotype, Turkey

¹ Murat UZUN (Orcid ID: 0000-0002-2652-692X), İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Sürmene, Trabzon, Türkiye

² Saim Zeki BOSTAN (Orcid ID: 0000-0001-6398-1916), Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ordu, Türkiye

*Sorumlu Yazar: Saim Zeki BOSTAN, e-mail: szbostan@hotmail.com

* Bu makale Murat UZUN'un Yüksek Lisans tezinden hazırlanmıştır. Makale 26-28 Ekim 2017 tarihlerinde Tokat'ta düzenlenen "II Ulusal Yumuşak Çekirdekli Meyve Türleri Sempozyumu'nda" poster olarak sunulmuştur.

Geliş tarihi / Received: 25.10.2018

Kabul tarihi / Accepted: 08.02.2018

GİRİŞ

Türkiye birçok meyve türünün hem anavatanı hem de kültüre alındığı önemli bir ülkedir. Ülkenin çok farklı iklim ve toprak yapısına sahip bölgeleri birçok kültür ve yabani meyve türlerinin de yayılma alanları haline gelmiştir. Ayrıca meyve türleri içinde meyve rengi, şekli ve lezzeti bakımından da büyük bir farklılık bulunmaktadır. Yabani meyveler bakımından da doğal bir zenginliğe sahip olan ülkemiz, ayrıca birçok meyve türünün anavatanı durumundadır (Özbek, 1978). Özellikle son yıllarda doğal populasyonlarda yabani halde bulunan bu meyve türleri meyve ıslahçıların özel ilgi alanlarına girmiş ve çalışmaları bu türler üzerine yoğunlaşmıştır. Son yıllarda besin değerinin yüksek olması ve alternatif tıpta kullanımı özellikleri yanı sıra yeni damak tadı arayışı nedeniyle de yabani meyvelere ilgi artış göstermiştir (Bostan ve İslam, 2007).

Bu türlerden birisi olan *M. germanica* L. gülgiller (Fam: Rosacea) familyasına ait doğal olarak yetişen bir bitkidir (Browicz, 1972). Anayurdu Avrupa ve Batı Asya olan muşmula, Türkiye' de özellikle Marmara ve Kuzey Anadolu Dağları'nda yabani olarak yetişmekle (Anonim, 2014) birlikte Karadeniz, Ege ve Marmara bölgelerinde de yabani olarak doğal yetişme alanı bulmuştur (Yılmaz ve Gerçekcioğlu, 2013). Ormanlık alanlar içerisinde ve genellikle yabani olarak yetişme alanı bulmuş olan muşmula (*Mespilus germanica* L.) Karadeniz bölgesinde, ormanlık alanlar içerisinde orman türleri ile birlikte, Marmara bölgesinde aynı ortamlarda genel olarak ağaççık çalı formunda doğal olarak yetişmektedir (Dönmez ve Aydınözü, 2012). Birçok türü bulunan muşmulanın meyvesi tüketilen türü *M. germanica* L. olup bu tür Türkiye'nin farklı bölgelerinde muşmula, döngel, beşbüyük gibi isimlerle de bilinmekte ve yabanileri özellikle Kuzey Anadolu ormanlıkları ile makiliklerde görülmektedir (Davis, 1972).

Muşmula, Dünyada Güney-Batı Asya ve Güney- Doğu Avrupa üzerinde doğal olarak yayılış gösterir. Yaklaşık 3000 yıl öncesinde İran'ın kuzeyinde yetiştirildiğine dair kayıtlar bulunmaktadır. Yunanistan'a götürülüşü milattan 700, Roma'ya götürülüşü ise milattan 200 yıl öncesine dayanmaktadır (Yılmaz ve Gerçekcioğlu, 2013).

Ülkemizde 2016 yılındaki 4 252 ton'luk üretimin 523 ton'u, üretimde 1. il olan Samsun (% 12.30), 397 tonu. 2. il olan Çanakkale (% 9.34) ve 341 tonu 3. il olan Sinop (% 8.02) ilinden karşılırken, geri kalan % 70.34'lük bölümü ise 35 ilden karşılanmakta ve Trabzon ili 172 ton üretimi ve % 4.05'lik üretim payı ile 9. Sırada yer almaktadır (Anonim, 2017). Ülkemizde daha çok sınır ağacı, ev bahçelerinde tek tek, orman ve yol kenarlarında dağınık halde yetişmektedirler. Yumuşak çekirdekli bir meyve türü olan muşmula ülkemizde fazla üretilmemekte olup kapama muşmula bahçesi de bulunmamaktadır (Bostan ve İslam, 2007).

Muşmulanın ticari olarak yetiştirildiği ülkelerde (Almanya, Hollanda gibi) iri meyveli 'Hollandia', 'Royal', 'Nottingham', 'Dutch' (bu çeşidin sinonimleri; 'Giant' ve 'Monstrous'). 'Russian', 'Breda giant' ve 'Large Russian' gibi bir kaç ticari çeşidinin bulunduğu ve dünyada var olan az sayıdaki ticari çeşitlerin yanı sıra, ülkemizde de 2007 yılında 'İstanbul' ve 'İtalyan' adlı yerel çeşitlerin tescil edildiğine 2007 yılındaki kayıtlarda rastlanıldığı belirtilmektedir (Yılmaz ve Gerçekcioğlu, 2013). Bunlara ilaveten 2014 yılında Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından 'Akçakoca 77' çeşidi tescil edilerek üreticilerin hizmetine sunulmuştur (Yılmaz, 2015).

Mespilus gibi türler meyve özelliklerinden ziyade daha çok anaçlık değerleri ile öne çıkmakta ve böyle türlerin meyveleri genellikle pelte, sos veya şarap yapımı için kullanılmaktadır (Westwood, 1978). Ham muşmula meyvesinin bağırsak iltihaplarına iyi geldiği (Bignami, 2000), yine böbrek hastalıkları

ve kabızlık tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (Baytop, 1999). Bu özellikleri dolayısıyla da son yıllarda tanınan muşmula meyvesi gerek yöresel pazarlarda gerekse marketlerde satışa sunulmaktadır (Demir, 2006).

Türkiye'nin kuzey sahilleri çok farklı mahalli meyve tür ve çeşitlerini barındırmaktadır. Bölgede, muşmula meyvesi taze olarak, sirke, turşu, marmelat, preslenmiş ve kurutulmuş şekilde, meyve pulpu olarak tüketilir (Bostan, 2002). Meyvelerin hasadı, meyve zeminin kahverengi veya kırmızımsı kahverengi ve meyve etinin beyaz olduğu dönemde yapılır. Çoğu zaman hasadı neredeyse sonbaharın son dönemlerine rastlamaktadır. İlk hasat edildiğinde meyveler tanenler bakımından zengin olduklarından, çoğu zaman bu haliyle tüketilemez. Tüketilmesi için olgunlaşması beklenir (Özkan ve ark., 1997).

Ülkemizde muşmula seleksiyonu konusunda bugüne kadar yapılan çalışmalar oldukça sınırlı düzeyde kalmıştır (Özkan ve ark., 1997; Bostan, 2002; Bostan ve İslam, 2007; Erçişli ve ark., 2012; Aygün ve Taşçı, 2013; Yılmaz ve Gerçekçioğlu, 2013; Yılmaz, 2015; Akçay ve ark., 2016; Közen ve Bostan, 2016).

Bu çalışmanın amacı Trabzon il Sürmene ilçesinde doğal olarak yetişen muşmula

genotipleri içerisinde ümitvar olanları belirlemektir. Böylece bu çalışma ile kaliteli ve ümitvar görülen ve doğal floraya uyum sağlamış genotiplerin kültüre alınma işlemine başlanabilecektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma 2012 yılı Ekim ayından itibaren, muşmula ağacı varlığının belirlenmesi amacıyla arazi gezisi ile başlamış ve imkânlar ölçüsünde çalışma kapsamındaki bütün yerlere ulaşılmaya çalışılmıştır.

2012 yılında belirlenen 18 genotipten hasat olumu döneminde rastgele 30' ar adet meyve ve yaprak örneği alınmış ve laboratuvarında her bir genotip kalite kriterleri yönünden değerlendirilmiştir. 2013 yılında genotiplerden ikinci yıl örnekleri alınmış ve çeşitli ölçüm ve tartım işlemleri yapılmıştır. Bütün genotipler iki yıllık ortalama değerlere ve önemli meyve kalite özelliklerine göre hazırlanan tartılı derecelendirme tablosu gereğince tartılı derecelendirmeye tabi tutulmuştur. Tartılı derecelendirme sonucunda belli puanın üstündeki genotipler alınmış diğerleri elenmiştir.

18 genotipe ait ağacın rakımları el tipi GPS cihazıyla ölçülmüş Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Genotiplerin bulunduğu yerler ve rakımları

Genotip	Mahalle	Rakım (m)	Genotip	Mahalle	Rakım (m)
SÜR-1	Yazıoba	825	SÜR-12	Güneyköy	650
SÜR-3	Yazıoba	860	SÜR-13	Oylum	755
SÜR-4	Yazıoba	880	SÜR-14	Oylum	840
SÜR-5	Yazıoba	890	SÜR-15	Oylum	810
SÜR-6	Güneyköy	700	SÜR-16	Oylum	825
SÜR-7	Yukarıçavuşlu	200	SÜR-17	Oylum	845
SÜR-8	Orta	350	SÜR-18	Oylum	804
SÜR-9	Yazıoba	890	SÜR-19	Oylum	520
SÜR-10	Yazıoba	765	SÜR-20	Oylum	855

İncelenen 18 genotipte aşağıdaki pomolojik analizler yapılmıştır. Değerlendirmeler her bir genotipi temsil eden 10 adet meyve ve 5 adet yaprak örneğinde yapılmıştır.

Muşmula genotiplerinde özelliklerin belirlenmesinde Özkan ve ark. (1997), Bostan ve İslam (2007), Gülçin ve ark. (2011) ve Erçişli ve ark. (2012)'dan yararlanılmıştır.

Meyve Ağırlığı (g): 10 meyve bir arada 0,01g'a duyarlı terazide tartılmış ve ortalaması alınarak belirlenmiştir.

Meyve Eni ve Boyu (mm): Tesadüfi olarak alınan meyve örneklerinin ayrı ayrı en ve boyları, en geniş ve en uzun kısımları arasında olmak üzere 0,01mm'ye duyarlı kumpas ile ölçülmüştür.

Meyve Hacmi (ml): Suda taşıma yöntemine göre meyveler içerisinde belli düzeyde su bulunan ölçülü silindir kap içerisine daldırılmış ve taşan miktar hacim olarak kaydedilmiştir.

Çiçek Çukur Genişliği ve Derinliği (mm): 0,01mm'lik hassas kumpas ile ölçülerek ortalaması alınmıştır.

Tohum Ağırlığı (g): Tohumlar meyve etinden tamamıyla ayırıldıktan sonra 10 tanesi bir arada 0,01g'a duyarlı terazide tartılarak ortalaması alınmıştır.

Meyve Eti Oranı (%): 10 adet meyvenin meyve ağırlığından toplam tohum ağırlığı çıkartılıp, meyve ağırlığına bölünmesi ve 100 ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır.

Suda Çözünür Kuru Madde (%): Meyve suyunda çözünebilir toplam kuru madde miktarını ölçmek için her genotipten meyve örnekleri önce mutfak tipi blendırda parçalanmış daha sonra bir tül içerisinde sıkılarak suları çıkarılmıştır. Meyve suyunda el refraktometresi ile % olarak suda çözünür kuru madde miktarı belirlenmiştir.

Titre Edilebilir Asitlik (%): Suda çözünebilir toplam kuru madde miktarını ölçmek için hazırlanan meyve suyu örneğinden 5 ml alınarak üzerine iki katı kadar saf su eklenmiş ve NaOH (sodyum hidroksit) ile titre edilmiştir. pH metre de okunan değer 8.1 oluncaya kadar titrasyona devam edilmiştir. Titrasyon sonucunda harcanan NaOH miktarı kaydedilerek aşağıdaki hesaplamada kullanılmıştır (Koçan, 2012).

Titrasyon asitliği (%) = $V \cdot f \cdot E \cdot 100 / M$

V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı, ml.

f: Titrasyonda kullanılan bazın normalitesi.

E: 1 mL 0.1 N NaOH'in eşdeğeri asit miktarı, g.

M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı, ml veya g.

E: 1 ml 0,1 N NaOH'e eşdeğer asit, g. (Malik asit cinsinden değeri 0,006705 olarak alınmıştır).

pH: Suda çözünür kuru madde miktarını ölçmek için hazırlanan meyve suyu örneğinden yeterince alınıp pH metrenin elektrodu meyve suyu içine daldırılmıştır. Değer sabitlenene kadar bekletildikten sonra okunan değer pH olarak kaydedilmiştir.

C Vitamini İçeriği (mg/100 g): Hasat olumundaki meyvelerden elde edilen meyve sularında titrasyon yöntemi kullanılarak 100 gr meyvede mg cinsinden belirlenmiştir. Hazırlanan ve süzektan geçirilen meyve suyunda C vitamini analizi iki aşamada gerçekleştirilmiştir. 1. aşamada erlene 0,2 M KIO₃ çözeltisinden 5 ml konulmuş, üzerine 0,45 g katı KI ilave edilmiştir. Aynı karışıma hazırlanan 0,7 M H₂SO₄ çözeltisinden 5 ml ilave edilerek 0,05 M Na₂S₂O₃ çözeltisi ile açık pembe renk alana kadar titre edilmiş, renk oluşuktan sonra üzerine 0,5 ml nişasta çözeltisi ilave edilmiştir. Koyu mavi renk oluşması gözlenerek ve Na₂S₂O₃ ile renk kaybolana kadar titrasyona devam edilmiştir. Renk kaybolduğu anda harcanan Na₂S₂O₃ miktarı kaydedilmiştir. 2. aşamada erlene 0,2 M KIO₃ çözeltisinden 5 ml konulmuş ve üzerine 0,45 g katı KI ilave edilmiştir, aynı karışıma hazırlanan 0,7 M H₂SO₄ çözeltisinden 5 ml ve üzerine hazırlanan meyve suyundan da 5 ml ilave edilerek 0,05 M Na₂S₂O₃ çözeltisi ile açık pembe renk alana kadar titre edilmiştir. Renk oluşuktan sonra üzerine 0,5 ml nişasta çözeltisi ilave edilerek koyu mavi renk oluşması gözlenmiştir. Na₂S₂O₃ ile renk kaybolana kadar titrasyona devam edilmiştir. Renk kaybolduğu anda harcanan Na₂S₂O₃ miktarı kaydedilmiştir. İki aşamada kaydedilen değerler C vitamini analizinin hesaplamalarında kullanılmıştır (Anonim, 2012).

$$T = \frac{C \cdot V \cdot M_A}{1000}$$

T: Alınan meyve suyu hacminde bulunan askorbik asidin (g) olarak miktarı (mg/100 gr)

C: 0.05 M Na₂S₂O₃ (mol/lit)

V: V₂-V₁ (ml cinsinden 0.7 M Na₂S₂O₃ sarfiyatı)

M_A: 176 g/mol (Askorbik asit)

Toplam Kuru Madde Oranı (%): Hasat olumuna gelmiş meyvelerden alınan 3-5 g meyve örnekleri petri kablarına alınmış ve 0,01 grama duyarlı hassas terazide tartılmıştır. Hazırlanan meyve örnekleri 105 °C sıcaklıkta etüvde kurutulmuştur. Örnekler 4 saat ara ile kontrol edilmiş her kontrolde tartımlar yapılmış sonuç sabitlenene kadar kurutma işlemine devam edilmiştir. 12 saat kurutulan örneklerde toplam kuru madde miktarı hesaplanmış, % kuru madde miktarı çıkarılan değerler % nem olarak kabul edilmiştir.

Toplam Kuru Madde Oranı (%) = (İlk tartım değeri- son tartım değeri) x 100

Yaprak Eni ve Boyu (mm): Yaprak eni yaprağın en geniş kısmından, yaprak boyu yaprağın ucu ile yaprak ayasının yaprak sapında

bittiği nokta arasındaki mesafede 0,01 mm'ye duyarlı dijital kumpasla ölçülerek belirlenmiştir.

Yaprak Sap Uzunluğu ve Kalınlığı (mm): Yaprak sapı uzunluğu yaprak ayasının yaprak sapında bittiği nokta ile dala bağlandığı yer arasındaki mesafeden, yaprak sapı kalınlığı yaprak sapının orta kısmından 0,01 mm'ye duyarlı dijital kumpasla ölçülerek belirlenmiştir.

Ağacın Genişliği ve Yüksekliği (m): Ağacın genişliği metre yardımıyla taç iz düşümüne paralel olarak ağacın en geniş kısmından, ağacın yüksekliği ağaç tabanından tepe noktasına kadar olan mesafede metre yardımıyla ölçülerek belirlenmiştir.

Ağaç Tahmini Yaşı: Ağaç tahmini yaşı ağacın genel gelişme durumu, bahçe sahibinin beyanı ya da gövde iriliği gibi kriterlere göre tahmini olarak belirlenmiştir.

Çalışmada genotiplerin önemli kalite kriterleri bakımından Bostan ve İslam (2007)'ın kullandıkları tabloda değişiklik yapılarak hazırlanan tartılı derecelendirme tablosu gereğince almış oldukları puanlar hesaplanmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. Değiştirilmiş tartılı derecelendirme tablosu

Özellikler	Ağırlıklı Puan	Sınıf Aralığı		Sınıf Puanı
		Min	Max	
Meyve ağırlığı (g)	35	21.0	24.4	5
		19.4	20.9	4
		18.8	19.3	3
		17.4	18.7	2
		15.8	17.3	1
Meyve Eti Oranı (%)	30	93.9	94.2	5
		93.7	93.8	4
		93.5	93.6	3
		93.3	93.4	2
		92.6	93.2	1
Suda Çözünür Kuru Madde Miktarı (%)	20	21.1	22.5	5
		19.6	21.0	4
		18.9	19.5	3
		18.1	18.8	2
		17.3	18.0	1
Toplam Kuru Madde (%)	15	23.5	27.0	5
		22.5	23.4	4
		22.1	22.4	3
		21.6	22.0	2
		20.4	21.5	1

Tartılı derecelendirme tablosunda önemli kalite kriterlerinin iki yıllık ortalama değerlerinin 1'den 5'e kadar sınıf puanları sınıf aralıklarına göre belirlenmiş olup sınıf aralıkları da genotiplerin ilgili özellik bakımından almış olduğu en alt ve en üst değerlere göre oluşturulmuştur.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada incelenen 18 genotipin meyve ve ağaç özelliklerine ait iki yıllık ortalama değerleri Çizelge 3'te sunulmuştur.

İki yıllık ortalama sonuçlara göre, meyve ağırlığı 19.5 g ile 24.4 g; meyve eni 31.1 mm ile 35.5 mm; meyve boyu 31.4 mm ile 35.7 mm; meyve hacmi 19.3 ml ile 24.5 ml; çiçek çukur

derinliği 5.8 mm ile 9.8 mm; çiçek çukur genişliği 15.1 mm ile 19.5 mm; tohum ağırlığı 1.2 g ile 1.5 g; meyve eti oranı % 93.3 ile % 94.1; suda çözünür kuru madde miktarı % 18.0 ile % 22.0; malik asit cinsinden asitlik miktarı % 1.2 ile % 1.5; pH 4.3 ile 4.5; C vitamini 4.4 mg 100 g⁻¹ ile 4.7 mg 100 g⁻¹ ve toplam kuru madde miktarı % 20.9 ile % 27.0 arasında değişmiştir (Çizelge 3).

Ağaç özellikleri olarak, genotiplerde taç yüksekliği 2.7 m ile 5.0 m; taç genişliği 3.5 m ile 5.0 m. tahmini yaşları 10 ile 25; yaprak eni 32.0 mm ile 40.0 mm; yaprak boyu 76.0 mm ile 106.0 mm; yaprak sap uzunluğu 6.4 mm ile 12.0 mm; yaprak sap kalınlığı 1.3 mm ile 1.8 mm arasında değişmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Seçilen genotiplerin meyve, yaprak ve ağaç özellikleri

Pomolojik Özellikler	Genotipler							
	6	7	9	15	16	17	19	20
Meyve ağırlığı (g)	19.7	20.9	20.9	19.6	23.3	19.5	21.8	24.4
Meyve eni (mm)	31.1	32.4	31.3	31.5	35.5	34.5	33.1	35.5
Meyve boyu (mm)	31.4	33.6	33.1	33.8	35.5	34.5	33.9	35.7
Meyve hacmi (ml)	20.3	20.5	21	20.5	23.8	19.3	21.8	24.5
Çiçek çukur derinliği (mm)	5.8	9.8	6.4	7.1	8.1	7.6	7.6	8.5
Çiçek çukur genişliği (mm)	15.1	16.7	17.9	16.3	19.5	18.2	17.5	17.5
Tohum ağırlığı (g)	1.2	1.3	1.3	1.2	1.5	1.3	1.4	1.4
Meyve eti oranı (%)	93.8	94.1	93.9	93.9	93.5	93.3	93.8	93.9
Suda çözünür kuru madde miktarı (%)	22	18.5	18.8	18	19	19.5	20.8	18.8
Titre edilebilir asitlik (%)	1.3	1.4	1.2	1.5	1.5	1.3	1.3	1.4
pH	4.5	4.5	4.3	4.5	4.5	4.3	4.3	4.5
C Vitamini (mg 100 g ⁻¹)	4.5	4.6	4.7	4.4	4.4	4.7	4.6	4.6
Toplam kuru madde (%)	27	23.4	22.1	21.9	22.4	23.2	21.6	20.9
Yaprak Eni (mm)	32	35.5	36.5	39	33.5	36.5	40	38
Yaprak Boyu (mm)	76	96	94	106	83	84	97	93
Yaprak Sap Uzunluğu (mm)	6.4	8.8	12	8.4	7.3	7.6	8.6	6.4
Yaprak Sap Kalınlığı (mm)	1.4	1.8	1.3	1.7	1.6	1.6	1.8	1.6
Taç Yüksekliği (m)	5	5	4	5	3.5	4	3.5	4.5
Taç Genişliği (m)	3.6	5	2.7	3	2.8	3.5	3	3.5
Ağacın Tahmini Yaşı	18	20	10	15	18	25	15	15

Çalışmada meyve özellikleri yönünden önemli bulunan kalite kriterleri için tartılı derecelendirme yapılmış ve genotiplerde seçilen kalite kriterleri yönünden puanlama yapılmıştır.

Genotiplerin incelenen her bir kriter

yönünden ve toplam kalite özellikleri olarak aldığı puanlar Çizelge 4'de sunulmuştur. Tartılı derecelendirme tablosuna göre, toplam kalite özellikleri yönünden en yüksek puanı alan genotip 6, en düşük puanı alan genotip ise 17

numaralı genotip olmuştur. Sadece meyve ağırlığı yönünden 16, 19 ve 20, meyve eti oranı yönünden 7,9,15 ve 20, suda çözünür kuru

madde miktarı yönünden 6, toplam kuru madde miktarı yönünden de 6 no'lu genotip tam puan olarak ilk sırada yer almıştır.

Çizelge 4. Seçilen genotiplerin tartılı derecelendirmede almış olduğu her bir özellik bakımından ve toplam puanları

Genotip	Meyve ağırlığı	Meyve Eti Oranı	SÇKM	Toplam Kuru Madde	Toplam Puan
SÜR-6	140	120	100	75	435
SÜR-19	175	120	80	30	405
SÜR-20	175	150	40	15	380
SÜR-7	140	150	40	60	390
SÜR-16	175	90	60	45	370
SÜR-9	140	150	40	45	375
SÜR-15	140	150	20	30	340
SÜR-17	140	60	60	60	320

Yapılan bu seleksiyon çalışmasında seçilen ümitvar genotiplere ait önemli meyve özelliklerinin diğer benzer araştırmalar ile karşılaştırılması Çizelge 5'te görülmektedir. Meyve ağırlığı yönünden çalışmada elde edilen alt ve üst değerler önceki çalışmaların orta aralığında yer almıştır. Meyve boyutları bakımından elde edilen değerlerde diğer çalışma

sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Önemli kalite kriterleri olan bu değerlerin genotiplere, ekolojiye, beslenme koşullarına ve yıllara göre yüksek oranda değişebileceği düşünüldüğünde çalışmalar arasındaki bu kriterler bakımından az da olsa görülen farklılıkların kabul edilebilir sınırlar içerisinde olduğu söylenebilir.

Çizelge 5. Çalışmada belirlenen bazı önemli pomolojik ve kimyasal özelliklerin literatürlerle karşılaştırılması

	Meyve ağırlığı (g)	Meyve eni (mm)	Meyve boyu (mm)	Tohum sayısı	Tohum ağırlığı (g)	Meyve eti oranı (%)	SÇKM (%)	pH	Toplam kuru madde (%)
Çalışma bulguları	19.50-24.40	31.10-35.50	31.40-35.70	5.00	1.20-1.50	93.30-94.10	18.0-22.0	4.30-4.50	20.9-27.0
Özkan ve ark. (1997)	11.94-26.82	30.81-40.63	24.82-33.03	4.94-5.10	0.17-0.31	89.13-96.49*	17.0-23.6	2.89-3.22	24.0-33.0
Bostan (2002)	16.51-32.98	31.52-42.44	31.64-40.97	4.50-6.18	0.23-0.68	-	13.0-26.0	3.62-5.48	18.5-38.1
Bostan ve İslam (2007)	9.46-40.80	26.53-48.73	23.67-42.51	3.80-6.18	0.14-0.61	84.29-95.73	12.5-25.0	3.70-6.15	16.4-30.9
Erçişli ve ark., (2012)	11.21-33.24	28.44-42.51	27.45-38.85	-	-	-	-	-	-
Aygün ve Taşçı, (2013)	6.32-36.42	20.60-42.70	21.80-40.10	-	-	-	8.0-18.0	3.62-4.90	-
Yılmaz (2015)	15.99- 37.20	31.35-43.59	28.05-35.59	5.00	-	-	13.8-20.5	-	27.3-44.1
Közen ve Bostan, (2016)	18.00-23.50	32.50-36.00	20.50-39.30	-	1.10-1.50	92.80-94.70	18.0-22.0	3.30-4.30	22.3-25.6

*Çalışmada verilen tohum ağırlığı/meyve ağırlığı oranından hesaplanmıştır

İncelenen genotiplerde tohum sayısı literatürdeki değerler arasında yer alırken, tohum ağırlıkları diğer bulgulardan daha yüksek bulunmuştur. Fakat özellikle tohum ağırlığının etkilediği meyve eti oranı bakımından durum değerlendirildiğinde genotiplerinin sahip olduğu değerlerin diğer sonuçlarla paralellik arz ettiği görülmektedir. Yani genotiplerde tohum ağırlığı ne kadar fazla olsa da bütün meyve ağırlığı içerisinde çok fazla yer işgal etmemiştir.

Suda çözünür kuru madde miktarı

bakımından genotipler % 18.0-22.0 değeriyle Aygün ve Taşçı (2013)'nin bulgularının alt ve üst değerlerinden yüksek, diğer çalışma sonuçlarının genel olarak üst sınırlarına yakın aralıkta yer almıştır. pH değerleri Tokat'ta yapılan çalışma (Özkan ve ark., 1997) bulgularından daha yüksek olarak belirlenmiş, Bostan ve İslam (2007) ile ve Aygün ve Taşçı (2013)'nin değerleri arasında yer almıştır. Meyvelerin özellikle kurutmalık değerleri yönünden önemli olan toplam kuru madde

değerleri genotiplerde % 20.9 ile % 27.0 arasında değişim göstermiştir. Bu özellik yönünden bulgular diğer çalışmalardaki alt ve üst değerlerin aralığında yer aldığı görülmektedir. Bu özelliklerin de meyve ağırlığı ve meyve boyutları için söylenen faktörlere göre değişebileceği söylenebilir.

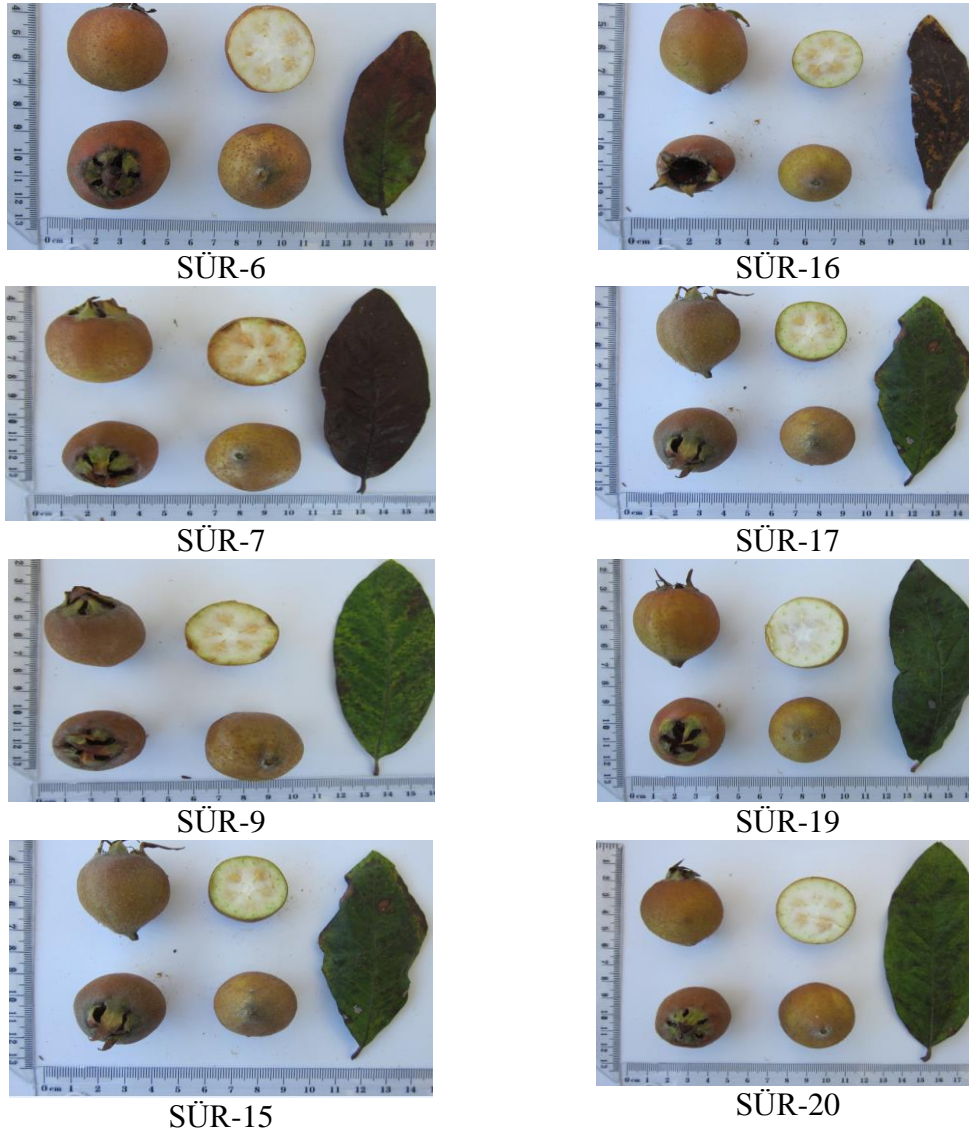
SONUÇ

Bu çalışma sonucunda belirlenen genotipler kendi ekolojilerine uyum göstermiş olduklarından yerinde yapılacak yetiştiricilikte bunlar arasından kaliteli görülenlerin seçilmesinin önemli avantaj sağlayacağı bir gerçektir. Böyle gen kaynakları ıslah açısından genel olarak değer arz etmeleri yanında

buldukları bölge için de ayrı bir değere sahip olmaktadır.

Çalışmamızda tartılı derecelendirmede esas alınan kalite kriterlerini gerek tek tek gerekse toplam kalite kriterleri yönünden dikkate aldığımızda 320 puan ve üzeri toplam puana sahip olan, Sırasıyla, SÜR-6, SÜR-19, SÜR-20, SÜR-7, SÜR-16, SÜR-9, SÜR-15 ve SÜR-17 no'lu genotipler ümitvar olarak değerlendirilmiştir (Şekil 1).

Belirlenen bu aday genotiplerin ıslah çalışmalarının devamında dikkate alınmaları ve daha ayrıntılı olarak değerlendirilmeleri önem arz etmektedir.



Şekil 1. Ümitvar muşmula genotipleri

KAYNAKLAR

- Akçay ME, Özdemir Y, Doğan A, 2016. Muşmula yetiştiriciliğinde yeni bir çeşit olan Akçakoca 77[®]'nin bazı özelliklerinin belirlenmesi. BAHÇE. 45 (Özel Sayı Cilt:1): 832-837. (VII. Bahçe Bitkileri Kongresinde sunulmuştur. 25-29 Ağustos 2015 Çanakkale). (Bildiri Kitabı <http://www.bahceder.org.tr/uye-ozel.php> adresinde PDF olarak yayınlanmıştır).
- Anonim, 2012. Askorbik asit (C vitamini) tayini. <http://marmarabiyokimya.com>-(Erişim tarihi:10.10.2012).
- Anonim, 2014. Muşmula bilgi. <http://web.ogm.gov.tr/birimler/bolgemudurlukleri/bursa/Dokumanlar/eylemlanlari/Yabani%20Meyveli.pdf> – (Erişim tarihi: 22.04.2014).
- Anonim, 2017. TÜİK. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkise1.zul>
- Aygün A, Taşçı AR, 2013. Some fruit characteristics of medlar (*Mespilus germanica* L.) genotypes grown in Ordu. Turkey. Scientific Papers. Series B. Horticulture. Vol. LVII: 149-151.
- Baytop T, 1999. Curing with plants in Turkey. in the past and today (Türkiye 'de bitkiler ile tedavi. geçmişte ve bugün). (2nd ed.). Nobel Medical Boks. 299p.. Çapa. İstanbul.
- Bignami C, 2000. II nespolocomune. L'Informace Agrario. 25: 43-46.
- Bostan SZ, 2002. Interrelationships among pomological traits and selection of medlar (*Mespilus germanica* L.) Types in Turkey. Journal American Pomological Society. 56(4):215-218.
- Bostan SZ, İslam A, 2007. Doğu Karadeniz bölgesi muşmulalarının (*Mespilus germanica* L.) seleksiyon yoluyla ıslahı üzerinde araştırmalar. V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. 4-7.09.2007. Erzurum. Cilt 1: Meyvecilik. Sayfa: 494-501.
- Browicz K, 1972. *Mespilus* L. In:Davis P.H.(Ed.). Flora of Turkeyandthe East Aegean Island. 4: 128-129. Edinburg University Press. Edinburg.
- Davis PH, 1972. Flora of Turkey and East Aegean Islands". Vol. 4: 657. The University Press. Edinburgh.
- Demir Ö, 2006. Muşmula (*Mespilus germanica* L.) Meyvelerinin olgunlaşması sırasındaki polifenol oksidazın karakterizasyonu. Karadeniz Teknik üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Dönmez Y, Aydınözü D, 2012. Bitki örtüsü özellikleri açısından Türkiye. İstanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Coğrafya Bölümü. Coğrafya dergisi. No: 1302-7212.
- Ercişli S, Şengül M, Yıldız H, Şener D, Duralija B, Voca S, Dujmovic Purgar D, 2012. Phytochemical and antioxidant characteristics of medlar fruits (*Mespilus germanica* L.). Journal of Applied Botany and Food Quality. 85: 86-90.
- Gülçin I, Topal F, Öztürk Sarıkaya SB, Bursal E, Bilsel G, Gören AC, 2011. Polyphenol Contents and Antioxidant Properties of Medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products* 5 (3) , 158–175.
- Koçan D, 2012. Titrasyon asitliği tayini. <http://gyurt.aksaray.edu>. (Erişim tarihi: 09.11.2018).

- Közen P, Bostan SZ, 2016. Trabzon İli Tonya İlçesinde Doğal Olarak Yetişen Muşmula Tiplerinin (*Mespilus germanica* L.) Seleksiyonu. International Multidisciplinary Congress of Eurasia. July 11-13. 2016 Odessa (Ukraine). Poster: 50-59. (Bildiri Kitabı www.imcofe.org adresinde PDF olarak yayınlanmıştır).
- Özbek S, 1978. Genel meyvecilik. Çukurova Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Yay.. No: 131. 386 s.. Adana.
- Özkan Y, Gerçekçioğlu R, Polat M, 1997. Tokat merkez ilçede yetiştirilen muşmula (*Mespilus germanica* L.) tiplerinin meyve özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Yumuşak Çekirdekli Meyveler Sempozyumu. 2-5 Eylül 1997. Sayfa: 123-129. Yalova.
- Westwood MN, 1978. Temperate Zone Pomology. W.H. Freeman and Company 428 p.. San Fransisco.
- Yılmaz A, Gerçekçioğlu R, 2013. Tokat ekolojisi muşmula (*Mespilus germanica* L.) popülasyonu ve dağılımı üzerine bir araştırma. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi 6 (2): 01-04.
- Yılmaz A, 2015. Tokat'ta doğal olarak yetişen muşmula (*Mespilus germanica* L.) genotiplerinin seleksiyonu. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi (Basılmış).

The Influence of Modified Atmosphere Packaging on Quality Properties of Kiwifruits During Cold Storage and Shelf Life

Burhan ÖZTÜRK¹, Erdal AĞLAR^{2*}

ABSTRACT: This study was carried out to evaluate the effects of different modified atmosphere packagings (MAPs) on quality characteristics of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. 'Hayward') during cold storage and shelf life. In the study, 4 different MAP were selected as Xtend, Aypek, Fresh and FreshPlus. Kiwifruit were stored at $0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ $90\pm 5\%$ RH during 180 days, and at 21°C , 70% RH for shelf life (5 days). MAP treatment significantly delayed weight loss of kiwifruit during cold storage. In all treatments firstly respiration rate increased, but it abruptly decreased after 60 days of cold storage and shelf life. With MAP treatment, L* value of skin color increased, whereas L* values of flesh decreased. Xtend and FreshPlus treatments retarded losses of fruit firmness. MAP treated-fruit has got higher the values of titratable acidity and vitamin C than control fruit. Results of study revealed that MAP treatments maintained fruit quality during cold storage and shelf life. But Aypek and Fresh MAP was more effective than other MAP treatments.

Keywords: *Actinidia deliciosa*, firmness, respiration rate, weight loss

Kivide Depolama ve Raf Ömrü Süresince Modifiye Atmosfer Paketlemenin (Map) Meyve Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi

ÖZET:Bu çalışma, soğuk depo ve raf ömrü boyunca farklı modifiye atmosfer paketlemenin (MAP) kivi (*Actinidia deliciosa* cv. 'Hayward') meyvelerinin kalite özellikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada Xtend, Aypek, Fresh ve FreshPlus olarak 4 farklı MAP seçilmiştir. Kivi meyveleri, 180 gün boyunca $0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'de ve $\% 90 \pm 5$ bağıl nemde ve raf ömrü süresince (5 gün) ise 21°C ve $\% 70$ bağıl nemde muhafaza edilmiştir. MAP uygulaması soğuk depolama sırasında kivi meyvesinin ağırlık kaybını önemli ölçüde geciktirmiştir. Bütün uygulamalarda depolamanın başlarında solunum hızı artmış, ancak 60 günlük soğuk depolama ve raf ömründen sonra aniden azalmıştır. MAP uygulaması ile meyve kabuğu L* değeri artış gösterirken, meyve eti L* değeri azalmıştır. Xtend ve FreshPlus uygulamaları meyve sertlik kaybını geciktirmiştir. MAP uygulanmış meyvelerin titredilebilir asitlik ve C vitamini içeriği kontrol meyvelerinkinden daha yüksek bulunmuştur. Araştırma sonuçları, MAP uygulamalarının soğuk depolama ve raf ömrü boyunca meyve kalitesini koruduğunu ortaya koymuştur. Fakat Aypek ve Fresh MAP diğer MAP uygulamalarından daha etkili bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Actinidia deliciosa*, sertlik, solunum oranı, ağırlık kaybı

¹ Erdal AĞLAR (Orcid ID:0000-0001-2345-6789), Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Altınordu, Ordu

² Burhan ÖZTÜRK (Orcid ID: 0002-0002-0867-3942) Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Şuşehri Timur Karabal Meslek Yüksekokulu, Organik Tarım Bölümü, Şuşehri, Sivas

*Sorumlu Yazar: Erdal AĞLAR, e-mail: erdalaglar@gmail.com

Bu çalışma 12-18 Ağustos 2018 tarihleri arasında İstanbul'da düzenlenen olan XXX. INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS' de poster olarak sunulmuştur.

INTRODUCTION

With its high content of vitamin C and phytochemicals like chlorophyll, flavonoid, carotenoid, phenolics and capacity of strong antioxidants, consumption of kiwifruit has been increasing in recent years (Cassano et al., 2006). Kiwifruit is a climacteric fruit that can be stored in low temperatures for long periods (at 0 °C for 4-6 month) but it can also be significantly softened when it is exposed to even very little amounts of ethylene (Yang and Lim, 2017). That is the most significant reasons, which cause the losses of the product.

Post-harvest longevity can be extended by harvesting high quality fruit at harvest time and preserving them with appropriate cold storage techniques. Fruit firmness is the most significant fruit quality characteristic, which affects storage period and fruit softening (Pekmezci et al., 2004). Many physiological processes such as swelling and deterioration of cell walls, hydrolysis of starch, decrease in water and osmotic potential cause softening in kiwifruit (Redgwell and Fry, 1993). During ripening and cold storage, kiwifruit is exposed to biochemical changes such as transformation of starch to sugar and alterations in cell walls that account for texture, taste and aroma of fruit. To extend the post-harvest longevity of kiwifruit, the shelf life of fruit can be prolonged with pre-harvest treatments, which improve fruit quality (Valverde et al., 2015), and post-harvest treatments, which reduce the fruit quality losses (Petracek et al., 2002; Chiabrando, 2013; Valero et al., 2014).

To prolong the storage period of fruit after harvest, packaging technologies as MAP are used. With the MAP treatment, the modified atmosphere, which has a low oxygen content, high carbon dioxide content and moisture, is formed around the product (Guilbert et al., 1996). This directly influences respiration rates of the fruit and vegetables, reduce ethylene synthesis of the fruit and retards ripening process

(Cantin et al. 2008). In this study, it is aimed to determine the effects of MAP on post-harvest performance and storage of kiwifruit.

MATERIAL AND METHOD

Plant material

In the study, the kiwifruit harvested from 10-year old Hayward (*Actinidia deliciosa* cv. 'Hayward') trees grafted on seedling rootstocks were used. Fruit were hand-harvested in 6.5% soluble solids content (SSC). Fruit with uniform shape and size and no scars were selected. Fruit were immediately transported at 10±1.0 °C and 80±5.0 for 0.5 h by a frigorific vehicle to postharvest physiology laboratory of Horticulture Department of Ordu University.

Method

At harvest, 30 fruit were used for analysis. For cold storage and shelf life analysis, treatments were designed as control (without MAP), Xtend, Aypek, Fresh and FreshPlus. Samples of 5 kg fruit were placed in 18 boxes for each treatment. Three packages were used for each analysis period as a package for each replicate. Half of them (2.5 kg) was used for analyses in the cold storage, and the rest was used for analyses in the shelf life (5 days at 21±1.0 °C and 70±5% RH). The fruit were stored at 0±0.5 °C and 90±5% RH for 180 days (day 30, 60, 90, 120, 150, and 180), and analyzed at 30 day intervals.

Weight loss

Fruit weight was determined by using a digital scale (±0.01 g) (Radvag PS 4500/C/1, Poland). Weight loss was determined by the difference between the initial and final weights of each replicate during cold storage and expressed as percent. Weight loss was replicated three times for each replication.

Respiration rate, O₂ and CO₂ concentration

For respiration rate, 5 fruit per chamber were sealed in a 2 L air-tight chamber fitted with a rubber septum for 1 h at 20±1 °C and 90% RH.

Then the chamber was connected to a gas sensor (Vernier, Oregon, USA). The respiration rate was determined by measuring the amount of carbon dioxide (CO₂) produced by the fruit. Gas concentration (CO₂ and O₂) inside MAP was monitored using a gas analyzer (Abiss, model legend, France).

Color characteristics and firmness

Color characteristics (L^* , chroma and hue angle) were measured at opposite sides of each fruit with a colorimeter (Konica-Minolta, model CR-400, Japan). 10 fruit in each replication were used for color measurement. Chromatic analyses were conducted in accordance with the CIE (Commission Internationale de l'Éclairage) system. Values of L^* , a^* and b^* were used to define a three-dimensional color space. The chroma value was calculated with the formula $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, and the hue angle with $h^\circ = \tan^{-1} b^*/a^*$. Flesh firmness was determined on three sides of equatorial line of each fruit with a press-mounted Effegi penetrometer (FT 327, USA) with 11.1 mm tip. 10 fruit in each replication were used for texture measurement.

SSC, titratable acidity and vitamin C

For SSC, titratable acidity and vitamin C measurements, 15 fruit were selected from each replicate and fruit were divided into 3 groups with 5 fruit. The fruit juice was extracted with an electrical fruit juice extractor (HR1855/70, Philips, Turkey). A digital refractometer (PAL-1, McCormick Fruit Tech., Yakima, Wash., USA) was used to determine SSC (% Brix). For titratable acidity, 10 ml extract was diluted with 10 ml distilled water, and then titrating to pH 8.2 using 0.1 mol L⁻¹ sodium hydroxide was expressed in malic acid equivalent (g 100 g⁻¹).

For vitamin C content, sufficient amount of extract was taken and resultant volume was completed to 5 ml with the addition of 0.5% oxalic acid. Ascorbic acid test strip (Catalog no: 116981, Merck, Germany) was taken from reclose tube, dipped into the solution for 2

seconds and reflectometer set (Merck RQflex plus 10) was started. The test strip was then shaken off to remove excess liquid over it, waited for 8 seconds and reading was performed until the end of 15th second. The resultant value was expressed as mg 100 g⁻¹.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with SAS Version 9.1 (SAS, USA). Data normality was determined by the Kolmogorov-Smirnov test and the homogeneity of variances by the Levene's test. Data were analyzed by analysis of variance. Means were compared by Tukey's test at a significance level of 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Weight Loss

In the study conducted to determine the effects of MAP treatments on post-harvest longevity of kiwifruit, it is observed that MAP treatment has significant impact on weight loss during storage. After 180-day storage the lowest weight loss occurred in Aypek MAP treatment which was around 0.46 %, while in control group this value was around 6.32%. In terms of weight losses, statistically important differences were observed between different MAP treatments. Aypek and Fresh MAP treatment was observed to be the most effective ones in preserving weight while the least effective one was determined to be FreshPlus treatment (Table 1). In parallel with the results of our study, Fonseca et al. (2002) stated that MAP treatment reduced weight losses in fruit during cold storage. Ağlar et al. (2017) reported that MAP treatment was a significant role in reducing weight loss in sweet cherry. Reduction of weight loss thanks to MAP treatment can be explained by reducing the effect of MAP on difference in water vapor between plant material and the air surrounding it.

Table 1. Effects of different modified atmosphere packaging on weight loss of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	Weight loss (%)					
	30	60	90	120	150	180
Control	1.75 a	2.74 a	3.53 a	4.41 a	5.29 a	6.32 a
Xtend	0.31 c	0.60 c	1.04 c	1.35 c	1.63 c	1.93 c
Aypek	0.15 d	0.27 d	0.35 d	0.37 b	0.41 d	0.46 d
Fresh	0.18 d	0.33 d	0.40 d	0.44 b	0.49 d	0.52 d
FreshPlus	0.92 b	1.80 b	2.48 b	3.35 b	4.24 b	5.11 b

Means in columns with the different letters are significantly different according to Tukey's test at $p < 0.05$

Respiration Rate, O₂ and CO₂ Concentration

With the MAP treatment, the modified atmosphere, which has a low oxygen content, high carbon dioxide content and moisture, is formed around the product (Guilbert et al., 1996). This atmosphere reduces respiration rate, ethylene sensitivity and production, fruit decay and physiological changes, oxidation (Saltveit, 1997). MAP treatments have significant positive effects in storage of fruit (Petracek et al., 2002). In our study, changes in respiration rate were detected depending on storage period. Until the 60th day of storage, in all treatments, increase in respiration rate was observed and after this period decrease began. Differences in respiration rate between treatments are found to be significant. At the end of cold storage, the lowest respiration rate was observed with the control, Fresh and FreshPlus treatments. Until the 90th day of storage, while no significant difference between Aypek and control group occurred in terms of respiration rates, the other MAP treatments had higher respiration rate than control. On the 120th day of storage, the highest respiration rate was obtained by FreshPlus treatment. At the end of storage, while fruit treated with Xtend showed the highest respiration rate, fruit treated with Freshplus had the lowest rate of respiration. There were not significant differences between control, Fresh and Fresh Plus treatment in terms of respiration rate at the end of storage. It was determined that

MAP treatments had a significant effect on controlling respiration rate during storage and shelf life. During shelf life, no significant differences in respiration rates between MAP treatments were detected (Table 2).

Effects of MAP treatments on atmospheric concentrations of oxygen and carbon dioxide, which effect respiration rate was also evaluated and it is observed that MAP treatments were effective in controlling the oxygen concentration throughout storage. With MAP treatments, there were no significant differences between oxygen concentrations at the beginning and at the end of storage. In periodical measurements during the storage, the lowest oxygen concentration was recorded with Fresh treatment while differences between other three groups were not significant. On the 30th day of storage, the highest carbon dioxide concentration was recorded and depending on storage period decrease in CO₂ was observed. The lowest CO₂ was recorded at the end of storage period. From one treatment to another, there have been significant differences of carbon dioxide concentration. In all measurements, while the highest carbon dioxide concentration was obtained in Aypek treatment, the lowest value was measured in Xtend treatment (Table 3). Mendoza et al. (2016) stated that O₂ and CO₂ concentrations can be kept under control with the help of postharvest technology like MAP

Table 2. Effects of different modified atmosphere packaging on respiration rate of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	Respiration rate (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)						
	Cold storage (0 °C)						
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	4.84	6.92 b	15.04 b	8.20 b	7.50 c	5.20 b	1.11 c
Xtend	4.84	14.21 a	28.84 a	16.57 a	9.29 b	8.41 a	2.78 a
Aypek	4.84	7.63 b	12.43 b	10.02 b	8.97 b	7.55 a	1.92 b
Fresh	4.84	14.36 a	29.34 a	14.65 a	9.36 b	7.10 a	1.20 c
FreshPlus	4.84	16.87 a	33.76 a	15.32 a	12.68 a	8.54 a	1.01 c
Treatments	Shelf life (21 °C)						
	Harvest+5	30+5	60+5	90+5	120+5	150+5	180+5
Control	5.62	13.11 a	21.60 a	12.05 a	10.15 a	8.86 a	5.55 a
Xtend	5.62	9.65 b	12.48 b	9.23 b	6.98 b	6.77 b	2.01 b
Aypek	5.62	8.97 b	12.95 b	8.19 b	6.93 b	5.24 b	2.89 b
Fresh	5.62	8.66 b	13.12 b	9.82 b	6.18 b	5.31 b	2.40 b
FreshPlus	5.62	12.36 a	14.23 b	9.94 b	7.46 b	5.62 b	2.33 b

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at P<0.05

Table 3. Effects of different modified atmosphere packaging on O₂ and CO₂ concentration of kiwifruit during cold storage

Treatments	O ₂ and CO ₂ (%)					
	30	60	90	120	150	180
	O ₂					
Xtend	17.53 b	19.07 a	19.57 a	19.93 a	19.17 a	19.50 a
Aypek	18.50 b	19.13 a	19.67 a	20.00 a	19.30 a	19.33 a
Fresh	14.10 c	17.73 b	17.83 b	18.60 b	18.17 b	18.80 b
FreshPlus	22.27 a	19.67 a	19.97 a	20.23 a	19.60 a	19.43 a
	CO ₂					
Xtend	2.03 c	0.90 c	0.60 c	0.47 c	0.37 c	0.40 c
Aypek	3.17 a	1.87 a	1.23 a	1.03 a	0.87 a	0.87 a
Fresh	2.17 c	1.07 c	0.93 b	0.77 b	0.60 b	0.60 b
FreshPlus	2.57 b	1.40 b	0.93 b	0.80 b	0.67 b	0.60 b

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at P<0.05

Fruit Color

In sweet cherry, fruit color is one of the most important parameters that determine fruit quality and customer preferences. That is why it is very important to preserve fruit color during storage. Ağlar et al. (2017) stated that MAP treatments delayed colorization during storage and shelf life. In this study, when the effects of MAP treatment on color values were

investigated, in proportion to storage period it was determined that L* value decreased. It was observed that MAP treatments did not have a significant effect on L* value during storage, however, on the 120th and 180th days of storage, differences between L* values of different treatments were detected. While on the 120th and 180th days of storage the highest values of L* were measured in Xtend treatment, the lowest

values were recorded in Fresh treatment on 120th day and in control and Aypek groups on 180th day. After 30th, 90th and 180th days of storage, during shelf life there were no significant differences between L* values of different treatments. However, after 5-day shelf life, on

the 60th, 120th and 150th days of storage there were noticeable differences between L* values of different treatments. In these measurements, the fruit treated with Xtend and FreshPlus had the highest L* values, while the lowest L* value was measured in control group (Table 4).

Table 4. Effects of different modified atmosphere packaging on L* values of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	L*						
	Cold storage (0 °C)						
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	62.28	61.18 a	60.52 a	58.39 a	57.45 b	56.80 a	55.38 c
Xtend	62.28	60.88 a	60.55 a	58.96 a	58.58 a	57.42 a	57.10 a
Aypek	62.28	61.55 a	59.53 a	59.08 a	57.68 b	57.49 a	55.30 c
Fresh	62.28	61.26 a	59.46 a	58.43 a	56.86 c	56.82 a	56.46 b
FreshPlus	62.28	61.62 a	59.76 a	57.91 a	57.71 b	57.18 a	57.09 a
Treatments	Shelf life (21 °C)						
	Harvest+5	30+5	60+5	90+5	120+5	150+5	180+5
	Control	61.87	57.50 a	56.40 c	56.25 a	55.36 b	55.14 b
Xtend	61.87	58.75 a	57.54 b	56.84 a	56.43 a	56.69 a	45.87 a
Aypek	61.87	58.55 a	57.90 b	56.96 a	55.58 b	55.54 b	45.36 a
Fresh	61.87	57.88 a	57.46 b	56.67 a	55.58 b	55.67 b	45.05 a
FreshPlus	61.87	58.21 a	58.61 a	55.65 a	56.67 a	56.58 a	45.57 a

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at P<0.05

Table 5. Effects of different modified atmosphere packaging on chroma values of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	Chroma						
	Cold storage (0 °C)						
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	41.80	38.79 b	33.53 b	31.94 b	30.91 b	30.42 b	29.26 a
Xtend	41.80	41.63 a	36.15 a	34.25 a	33.16 a	30.42 b	28.25 a
Aypek	41.80	38.53 b	36.64 a	31.55 b	30.79 b	29.71 b	28.99 a
Fresh	41.80	37.61 b	36.62 a	33.25 b	30.34 b	29.49 b	28.84 a
FreshPlus	41.80	41.15 a	37.95 a	33.94 a	33.03 a	31.80 a	28.66 a
Treatments	Shelf life (21 °C)						
	Harvest+5	30+5	60+5	90+5	120+5	150+5	180+5
	Control	41.61	38.64 a	35.42 b	34.44 a	32.68 a	32.05 a
Xtend	41.61	38.00 a	35.57 b	34.56 a	31.75 a	30.28 a	26.06 a
Aypek	41.61	38.20 a	35.53 b	33.93 a	32.95 a	32.40 a	24.16 a
Fresh	41.61	38.82 a	35.18 b	32.50 a	32.26 a	31.93 a	25.91 a
FreshPlus	41.61	37.78 a	37.64 a	34.25 a	32.43 a	32.46 a	26.14 a

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at P<0.05

In proportion to storage period, chroma value has also decreased. Compared to control group, FreshPlus and Xtend MAP treatments

have caused increase in chroma value, while the other two treatments (Aypek and Fresh) had no significant effect on chroma value. However, at

the end of storage (180th day) there were no statistically significant differences between chroma values of treatments. After storage, throughout shelf life, it was determined that MAP treatment had no an effect on chroma value of fruit (Table 5).

Both during cold storage and during shelf life, MAP treatment have not affected hue angle values (Table 6). The effect of MAP treatment

on preserving color parameters during post-harvest periods can be explained by the effect of MAP on gas permeability (Castellanos et al., 2016; Domínguez et al., 2016) and by decreasing activity of biochemical. MAP treatments have retarded the formation of the fruit color pigments such as carotenoids and anthocyanin (Artes-Hernandez et al., 2006).

Table 6. Effects of different modified atmosphere packaging on hue angle values of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	Hue angle						
	Cold storage (0 °C)						
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	116.1	115.3 a	114.3 a	113.8 a	113.2 a	112.9 b	111.6 b
Xtend	116.1	115.3 a	114.7 a	114.5 a	114.3 a	114.1 a	113.2 a
Aypek	116.1	115.8 a	115.1 a	114.8 a	114.3 a	113.9 a	112.6 a
Fresh	116.1	115.9 a	115.4 a	114.2 a	114.1 a	114.0 a	113.1 a
FreshPlus	116.1	115.5 a	114.6 a	114.4 a	114.0 a	113.7 a	112.6 a
	Shelf life (21 °C)						
	Harvest+5	30+5	60+5	90+5	120+5	150+5	180+5
Control	115.1	114.1 a	113.1 a	111.3 b	111.0 a	110.3 b	109.1 b
Xtend	115.1	114.0 a	113.6 a	112.8 a	111.5 a	110.4 a	109.2 b
Aypek	115.1	113.7 a	113.1 a	112.6 a	111.8 a	111.7 a	110.5 a
Fresh	115.1	113.6 a	113.4 a	112.4 a	111.6 a	111.7 a	110.3 a
FreshPlus	115.1	113.4 a	113.4 a	112.3 a	111.9 a	111.6 a	110.1 a

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at $P < 0.05$

Fruit Firmness

Fruit firmness is the most significant fruit quality characteristic, which affects storage period and fruit softening (Pekmezci et al., 2004). Many physiological processes such as swelling and deterioration of cell walls, hydrolysis of starch, decrease in water and osmotic potential cause softening in kiwifruit (Redgwell and Fry, 1993). MAP treatments combined with cold storage are effectively used to prolong fruit shelf life and are very useful treatments. With the MAP treatment, the

modified atmosphere, which has a low oxygen content, carbon dioxide content and high moisture, is formed around the product (Guilbert et al., 1996). This modified atmosphere reduces the respiration rate and the ethylene production and thus maintains the fruit quality characteristics such as fruit firmness, fruit color, SSC, etc. (Ahvenainen 1996; Gorny, 1997). In the present study, it has been determined that as the storage period is longer fruit firmness decreases, but MAP treatment has influence in maintaining fruit firmness both in storage and

post-storage shelf period. However, there were no significant differences between MAP treatments in this respect (Table 7). Kaynas et al. (2010); Giacalone and Chiabrandò (2013);

Guillen et al.(2013) and Ağlar et al. (2017) reported that MAP treatment had positive effect on preserving fruit firmness during storage.

Table 7. Effects of different modified atmosphere packaging on fruit firmness of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	Fruit firmness (N)						
	Cold storage (0 °C)						
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	80.26	45.45 b	29.88 b	20.43 c	13.57 b	12.13 b	9.15 b
Xtend	80.26	61.90 a	37.83 a	24.94 b	20.14 a	15.40 a	11.67 a
Aypek	80.26	60.56 a	34.69 a	26.73 b	18.79 a	14.27 a	11.35 a
Fresh	80.26	62.42 a	37.87 a	25.01 b	19.16 a	14.91 a	11.18 a
FreshPlus	80.26	62.85 a	40.58 a	35.28 a	21.19 a	14.39 a	11.46 a
	Shelf life (21 °C)						
	Harvest+5	30+5	60+5	90+5	120+5	150+5	180+5
Control	71.63	33.06 c	18.67 b	12.49 b	11.74 b	10.54 b	7.71 b
Xtend	71.63	59.64 a	23.99 a	15.92 a	13.28 a	12.85 a	10.86 a
Aypek	71.63	47.68 b	24.37 a	15.24 a	14.45 a	12.43 a	10.17 a
Fresh	71.63	48.56 b	27.40 a	14.85 a	13.79 a	12.10 a	10.59 a
FreshPlus	71.63	58.47 a	24.24 a	17.17 a	14.65 a	13.15 a	10.73 a

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at $P < 0.05$

SSC, Titratable Acidity and Vitamin C

In the study it has observed that with increase in period of storage SSC amount increases as well, but titratable acidity decreases. Compared to the control group, MAP treatments had significant effects on changes in SSC and titratable acidity parameters both during storage and post-storage shelf life. However, there were no significant differences between MAP treatments in this respect (Table 8 and 9).

As a matter of fact, Zhang et al. (2003) and Diaz-Mula et al. (2012) have determined that MAP treatments slow down the SSC increase by

slowing down fruit ripening in kiwifruit and sweet cherry. However, there are studies, which state MAP treatment does not have a significant effect the SSC value of sweet cherry (Tian et al., 2002, 2004).

It has observed that as storage period increased, vitamin C amount decreased. In storage and shelf life it was determined that MAP treatment was influential in preserving vitamin C concentration and significant differences were observed between different MAP treatments in this respect.

Table 8. Effects of different modified atmosphere packaging on SSC of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	SSC (%)						
	Cold storage (0 °C)						
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	3.90	8.47 a	10.92 a	11.93 a	12.47 a	12.97 a	13.40 a
Xtend	3.90	7.60 b	10.00 b	10.50 b	11.00 b	11.83 b	12.60 b
Aypek	3.90	7.53 b	10.05 b	10.57 b	11.33 b	11.45 b	12.30 b
Fresh	3.90	7.50 b	10.17 b	10.83 b	11.70 b	11.80 b	12.00 b
FreshPlus	3.90	7.27 b	10.12 b	10.73 b	11.23 b	11.90 b	12.15 b
	Shelf life (21 °C)						
	Harvest+5	30+5	60+5	90+5	120+5	150+5	180+5
Control	4.95	10.77 a	12.33 a	13.45 a	13.80 a	14.30 a	14.55 a
Xtend	4.95	8.73 b	11.33 b	12.25 b	12.40 b	12.90 b	13.80 b
Aypek	4.95	8.77 b	11.47 b	12.10 b	12.80 b	13.10 b	13.27 b
Fresh	4.95	9.20 b	11.35 b	12.43 b	12.50 b	13.15 b	13.60 b
FreshPlus	4.95	9.00 b	11.20 b	12.50 b	12.73 b	13.20 b	13.30 b

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at $P < 0.05$

Table 9. Effects of different modified atmosphere packaging on titratable acidity of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	Titratable acidity (g malic acid 100 g ⁻¹)						
	Cold storage (0 °C)						
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	1.85	1.60 b	1.59 b	1.55 b	1.51 b	1.49 b	1.37 b
Xtend	1.85	1.69 a	1.65 a	1.63 a	1.58 a	1.52 a	1.47 a
Aypek	1.85	1.68 a	1.64 a	1.63 a	1.60 a	1.54 a	1.50 a
Fresh	1.85	1.72 a	1.67 a	1.61 a	1.57 a	1.53 a	1.47 a
FreshPlus	1.85	1.70 a	1.65 a	1.60 a	1.59 a	1.54 a	1.45 a
	Shelf life (21 °C)						
	Harvest+5	30+5	60+5	90+5	120+5	150+5	180+5
Control	1.80	1.58 b	1.51 b	1.49 b	1.44 b	1.41 b	1.32 b
Xtend	1.80	1.66 a	1.59 a	1.55 a	1.50 a	1.48 a	1.34 b
Aypek	1.80	1.64 a	1.58 a	1.56 a	1.54 a	1.50 a	1.46 a
Fresh	1.80	1.68 a	1.61 a	1.54 a	1.51 a	1.50 a	1.33 b
FreshPlus	1.80	1.67 a	1.62 a	1.57 a	1.51 a	1.49 a	1.43 a

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at $P < 0.05$

Table 10. Effects of different modified atmosphere packaging on vitamin C of kiwifruit during cold storage and shelf life

Treatments	Vitamin C (mg 100 g ⁻¹)						
	Cold storage (0 °C)						
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	127.0	119.0 c	66.5 c	55.5 c	46.0 c	42.0 b	38.5 c
Xtend	127.0	129.0 b	92.5 a	64.0 b	52.0 b	48.0 a	43.0 b
Aypek	127.0	128.0 b	76.5 b	72.0 a	60.5 a	47.0 a	42.2 b
Fresh	127.0	131.0 b	77.5 b	62.5 b	59.5 a	50.0 a	48.0 a
FreshPlus	127.0	142.0 a	88.0 a	66.5 b	54.0 b	49.5 a	47.5 a
	Shelf life (21 °C)						
	Harvest+5	30+5	60+5	90+5	120+5	150+5	180+5
	Harvest	30	60	90	120	150	180
Control	98.1	69.0 c	56.0 c	50.0 c	42.0 c	34.5 b	28.5 b
Xtend	98.1	89.0 a	70.0 a	59.5 a	49.5 b	43.0 a	30.0 b
Aypek	98.1	77.5 b	69.0 a	61.0 a	57.0 a	44.5 a	37.0 a
Fresh	98.1	80.0 b	62.5 b	60.5 a	50.5 b	44.5 a	36.5 a
FreshPlus	98.1	79.5 b	64.0 b	54.5 b	48.5 b	46.5 a	39.0 a

Means in columns with the same letter do not differ according to Tukey's test at $P < 0.05$.

At the end of storage, while the lowest vitamin C concentration was observed in control group fruit, the highest values were observed with Fresh and FreshPlus treatments (Table 10). Tian et al. (2004) and Ağlar et al. (2017) determined that in sweet cherry, vitamin C content decreased during cold storage, and vitamin C content of MAP-treated fruit were higher than control treatment, Again, Mohammadi and Hanafi (2014) reported that MAP-treated fruit in strawberry had higher values for vitamin C content.

CONCLUSION

As a result, it was determined that MAP treatment was an effective tool to prevent postharvest quality losses in kiwifruit. Also the effects of MAP treatments on the fruit quality characteristics varied depending on the MAP material used.

REFERENCES

- Ağlar E, Öztürk B, Güler SK, Karakaya O, Uzun S, Saracoglu O, 2017. Effect of modified atmosphere packaging and 'Parka' treatments on fruit quality characteristics of sweet cherry fruits (*Prunus avium* L. '0900 Ziraat') during cold storage and shelf life. *Scientia Horticulturae* 222 (2017):162–168
- Ahvenainen R, 1996. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 179–197.
- Artes-Hernandez, F., Tomas-Barberan, F.A., Artes, F., 2006. Modified atmosphere packaging preserves quality of SO₂-free 'Superior seedless' table grapes. *Postharvest Biology Technology*. 39, 146–154.
- Cantín CM, Crisosto CH, Day KR, 2008. Evaluation of the effect of different modified atmosphere packaging box liners on the quality and shelf life of 'Friar' plums. *HortTechnology* 18: 161–165.
- Cassano A, Figoli A, Tagarelli A, Sindona G, Drioli E, 2006. Integrated membrane process for the production of highly nutritional kiwifruit juice. *Desalination*, 189: 21–30.

- Castellanos DA, Polanía W, Herrera AO, 2016. Development of an equilibrium modified atmosphere packaging (EMAP) for feijoa fruits and modeling firmness and color evolution. *Postharvest Biology and Technology*, 120: 193–203.
- Chiabrando V, Giacalone G, 2015. Effects of alginate edible coating on quality and antioxidant properties in sweet cherry during postharvest storage. *Italian Journal of Food Science*, 27: 173–180.
- Diaz-Mula HM, Serano M, Valero D, 2012. Alginate Coatings Preserve Fruit Quality and Bioactive Compounds during Storage of Sweet Cherry Fruit. *Food and Bioprocess Technology* 5(8):1-8.
- Domínguez I, Lafuente MT, Hernández-Muñoz P, Gavara R, 2016. Influence of modified atmosphere and ethylene levels on quality attributes of fresh tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Food Chemistry*. 209: 211–219.
- Fonseca SC, Oliveira FAR, Brecht JK, 2002. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering*. 52: 99–119.
- Giacalone G, Chiabrando V, 2013. Modified atmosphere packaging of sweet cherries with biodegradable films *International Food Research Journal*. 20: 1263–1268.
- Gorny JR, 1997. A summary of CA and MA requirements and recommendations for the storage of fresh-cut (minimally processed) fruits and vegetables. In J. R. Gorny (Vol. Ed.), *Proceedings [Seventh International Controlled Atmosphere Research Vol. 5: 30–66]*.
- Guilbert S, Gontard N, Gorris LGM, 1996. Prolongation of the shelf life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Food Science and Technology*. 29: 10–17.
- Guillen F, Diaz-Mula HM, Zapata PJ, Valero D, Serrano M, Castillo S, Martinez-Romero D, 2013. Aloe arborescens and Aloe vera gels as coatings in delaying postharvest ripening in peach and plum fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 83: 54–57.
- Kaynas K, Sakaldas M, Yur M., 2010. The effects of different postharvest applications and different modified atmosphere packaging types on fruit quality of ‘Angeleno’ plums. *Acta Horticulturae*. 876: 209–216.
- Mendoza R, Castellanos DA, García JC, Vargas JC, Herrera AO, 2016. Ethylene production, respiration and gas exchange modelling in modified atmosphere packaging for banana fruits. *International Journal of Food Science and Technology*. 51 (3): 777–788.
- Mohammadi H, Hanafi Q, 2014. Effect of different atmospheres on quality changes of Kurdistan strawberry. *Journal of Food Chemistry and Nutrition*. 2: 61–69.
- Pekmezci M, Erkan M, GubbukM, Karasahin I, Uzun I, 2004. Modified atmosphere and ethylene absorbent enables prolonged storage of Hayward kiwifruit. In: L.G. Albrigo, V. Galan Sauco (Editors), *XXVI International Horticultural Congress: Citrus and Other Subtropical and Tropical Fruit Crops, Canada 29 February, 2004*. *Acta Horticulturae*. 632: 337-341.
- Petracek PD, Joles DW, Shirazi A, Cameron AC, 2002. Modified atmosphere packaging of sweet cherry (*Prunus avium* L. cv. ‘Sams’) fruit: metabolic responses to oxygen, carbon dioxide, and temperature. *Postharvest Biology and Technology*. 24: 259–270.
- Redgwell RJ, Fry SC, 1993. Xyloglucan Endotransglycosylase Activity Increases during Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) Ripening (Implications for Fruit Softening). *Plant Physiology* (1993) 103: 1399-1406.
- Saltveit ME, 1997. A summary of CA and MA requirements and recommendations for harvested vegetables. In M. E. Saltveit (Ed.), *Proceedings of the 7th international controlled atmosphere research conference: Vol. 4 (pp. 98–117)*, Davis, CA, USA.
- Tian SP, Xu Y, Jiang AL, Gong QQ, 2002. Physiological and quality responses of longan fruits to high-O₂ or high-CO₂ atmospheres in storage. *Postharvest Biology and Technology*. 24: 335–340.
- Tian SP, Jiang AL, Xu Y, Wang YS, 2004. Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmosphere in storage. *Food Chemistry*. 87: 43–49.

- Valero D, Mirdehghan SH, Sayyari M, Serrano M, 2014. Vapor treatments, chilling, storage, and antioxidants in pomegranates. In: Preedy, V.R. (Ed.), Processing and Impact on Active Components in Food. Academic Press, London, pp. 189–196.
- Valverde JM, Gimenez MJ, Guillen F, Valero D, Martinez-Romero D, Serrano M, 2015. Methyl salicylate treatments of sweet cherry trees increase antioxidant systems in fruit at harvest and during storage. *Postharvest Biology and Technology*. 109: 106–113.
- Yang YJ, Lim BS, 2017. Temperature and length of cold storage affect the Quality Maintenance of fresh kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch). *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol. 18, No. 1 pp. 256-261, 2017.
- Zhang Y, Chen K, Zhang S, Ferguson I, 2003. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, 28 :67–74.

Çilek Bitkilerinde Besin Elementi Miktarına *Verticillium dahliae*'nin Etkisi

Tuba GENÇ KESİMCİ^{1*}, Erkol DEMİRCİ², Uğur ŞİMŞEK³, Faruk TOHUMCU³, Erhan ERDEL³

ÖZET: Bitkilerin sağlıklı bir şekilde gelişimlerini devam ettirebilmeleri için mutlak gerekli besin elementleri bulunmakta, bu besin elementlerinin eksikliği veya fazlalığı durumunda bitkilerde hastalıklara karşı uygun ortam oluşmaktadır. Bu çalışma; çilekte *Verticillium dahliae* tarafından oluşturulan Verticillium solgunluk hastalığının bitkilerin P, Ca, K, Mg, Na, B, Mn, Fe, Zn ve Cu içeriğinde nasıl bir değişim meydana getirdiğini tespit etmek amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla çilek bitkilerinden elde edilen farklı vejetatif uyum gruplarına (VCG 2A, VCG 2B, VCG 4B ve VCGx) ait 19 *V. dahliae* izolatu incelenmiştir. Kontrol bitkileri dahil *V. dahliae* izolatları ile enfekte edilen toplam 200 bitkide besin elementi analizleri yapılmıştır. Kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığı zaman *V. dahliae* enfeksiyonu çilek bitkilerinin P, Ca, K, Mg, B, Mn ve Cu içeriklerinde değişime sebep olmuştur. Bununla birlikte, enfekte olmuş bitkilerin Na, Fe ve Zn içerikleri kontrol bitkilerinden farklı bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Çilek, makro element, mikro element, mineral beslenme, *Verticillium dahliae*

The Effect of *Verticillium dahliae* on the Amount of Nutrients in Strawberry Plants

ABSTARCT: There are absolute essential nutrients for plants to maintain their healthy grown, in case of deficiency or excess of these nutrients, a suitable habitat is formed against diseases in plants. In this research, Verticillium wilt disease caused by *Verticillium dahliae* in strawberry plants was carried out to determine how the plants caused a change in the content of P, Ca, K, Mg, Na, B, Mn, Fe, Zn and Cu. For this purpose, 19 *V. dahliae* isolates belonging to different vegetative compatibility groups (VCG 2A, VCG 2B, VCG 4B and VCGx) from strawberry plants were investigated. Nutrient analyzes were performed with 200 plants which were infected with *V. dahliae* isolates including control plants. When compared with control plants, *V. dahliae* infection caused changes in P, Ca, K, Mg, B, Mn and Cu contents of strawberry plants. However, the Na, Fe and Zn contents of the infected plants were not different from the control plants.

Keywords: Strawberry, macro element, micro element, mineral nutrition, *Verticillium dahliae*

¹Tuba GENÇ KESİMCİ (Orcid ID: 0000-0003-2022-0193), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Iğdır, Türkiye

²Erkol DEMİRCİ (Orcid ID: 0000-0002-7176-1654), Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Trabzon, Türkiye

³Uğur ŞİMŞEK (Orcid ID: 0000-0003-4710-597X), Faruk TOHUMCU (Orcid ID: 0000-0003-4092-4868), Erhan ERDEL (Orcid ID: 0000-0002-8011-9452), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Iğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Tuba GENÇ KESİMCİ, e-mail: tuba.genc@igdir.edu.tr

Bu çalışmanın özeti International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences Kongresi'nde (21-23 Nisan 2016, Antalya) yayımlanmıştır.

GİRİŞ

Çilek, üzüksü meyveler içerisinde üretim ve tüketim değerleri açısından ilk sırada yer almaktadır (Geçer ve ark., 2018). Çeşitli iklim ve toprak karakterleri bakımından Türkiye çilek üretiminde önemli bir potansiyele sahiptir (Aybak, 2005). Tüm bitkisel ürünlerde olduğu gibi çilek de biyotik ve abiyotik faktörlerin olumsuz etkisine maruz kalmakta ve bu faktörler ekonomik anlamda verim kayıplarına neden olmaktadır. *Verticillium dahliae* Kleb. biyotik faktörlerden biri olup konukçusu olan bitkilerde solgunluk hastalığına sebep olmaktadır.

Bitki besin elementlerinin eksikliği, çilekte verim kayıplarına neden olan abiyotik faktörler arasında yer alıp, bu elementler bitkilerin sağlıklı büyümesi için gerekli olan elementlerdir. En az 20 elementin mevcudiyeti ile bitkiler optimum büyüme ve gelişme göstermektedir (Tisdale ve ark., 1985; Kacar ve Katkat, 2010). Bitkinin vejetatif ve generatif büyümesi üzerinde etkili olan bu elementlerden karbon (C), hidrojen (H), oksijen (O), azot (N), fosfor (P), potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve kükürt (S) bitkide bol miktarda bulunup makro elementler olarak adlandırılırken; demir (Fe), çinko (Zn), mangan (Mn), molibden (Mo), bakır (Cu), klor (Cl), bor (B), sodyum (Na), kobalt (Co), vanadyum (V) ve silisyum (Si) ise bitkide çok az miktarda bulunup mikro besin elementleri olarak adlandırılmaktadır (Kacar ve Katkat, 2010). Bu besin elementlerinin eksik veya fazla olması ise bitkilerde strese neden olmaktadır (Kocaçalışkan, 2008).

Genel olarak hastalıklarla besin elementi alımı arasında kısır bir döngü olup, besin elementi eksikliği bitkiyi hastalıklara karşı hassas hale getirirken, hastalıklar ise besin elementlerinin alınımını ve kullanımını çeşitli yollarla etkileyerek strese sebep olmaktadır (Uçgun ve Gezgün, 2008). Bazı patojenler bitkilerin kök bölgesinde veya enfekte olmuş dokularında besin elementlerinin etkili bir şekilde kullanılmasını veya taşınmasını

etkilerken, diğer bazı patojenler ise besin elementinin yüksek oranda birikmesine ve toksisitesine neden olmaktadır (Uçgun ve Gezgün, 2008). Ayrıca patojenler, besin elementlerini kullanabilir ve böylece bitkinin besin elementi eksikliği sonucu başka bir enfeksiyona karşı hassasiyetini artırabilir. Özellikle immobil besin maddesi seviyesi optimumun altına düştüğü zaman toprak kaynaklı patojenlerin etkisi oldukça ciddi düzeydedir (Spann ve Schuman, 2009).

Bitki veriminde önemi vurgulanan bitki besin elementleri, genellikle hastalıklara karşı savunmanın da ilk şartı olarak işlev görmektedir (Elmer, 2015). Dordas (2008), toprak fumigasyonu ve nitrifikasyon engelleyicilerin toprakta NH^{+4} 'ü muhafaza edip Mn, Cu ve Zn'yu artırarak domateste *Verticillium* solgunluk hastalığının oranını azalttığını tespit etmiştir. Bazı besin yönetimlerinin konukçu bitkinin *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Thielaviopsis*, *Verticillium* ve külleme hastalıklarına karşı dayanıklılıklarını artırdığı belirtilmiştir (Elmer, 2015). Benzer şekilde, K ve Ca uygulamaları fesleğende *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı hassasiyeti azaltmıştır (David ve ark., 2019). Genellikle iyi beslenen sağlıklı bitkiler, besin eksikliği bulunan bitkilere oranla patojenlere karşı daha dayanıklıdır (Spann ve Schuman, 2009).

Çilek bitkileri gelişimlerini sorunsuz bir şekilde devam ettirebilmek için belirli düzeyde makro ve mikro besin elementlerine ihtiyaç duymaktadır. Solgunluk hastalığına neden olan *V. dahliae*'nin enfekteli çilek bitkilerinin P, Ca, K, Mg, Na, B, Mn, Fe, Zn ve Cu içeriğinde ne gibi değişiklikler meydana getirdiğini belirlemek bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmanın materyalini çilek bitkilerinde vejetatif uyum grup (VCG)'larına göre *V. dahliae* izolatlarının virulanslığını

belirlemek için kurulan patojenite denemesi sonucunda elde edilen ve kuru ağırlıkları hesaplanan bitki örneklerinin bir kısmı oluşturmuştur (Genç, 2012). Bu örnekler seçilirken farklı vejetatif uyum gruplarına (VCG

2A, VCG 2B, VCG 4B ve VCGx) ve hastalık şiddetine (%27.5-%85.0) sahip 19 izolat ile kuru ağırlığı 1.57-4.05 g arasında değişen bitkiler dikkate alınmış olup, kontrol ile birlikte toplam 200 bitki analize tabi tutulmuştur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan *Verticillium dahliae* izolatlarının vejetatif uyum grupları, kuru ağırlıkları ve hastalık şiddeti değerleri (Genç, 2012)

İzolat No	Vejetatif Uyum Grubu (VCG)	Kuru Ağırlık (g)	Hastalık şiddeti (%)
SGB-3	VCG 2A	2.49	67.5
SÜ(2)-1		1.92	77.5
SGB-5		1.98	75.0
SOL(2)-12	VCG 2B	3.62	27.5
SH(4)-21		1.57	75.0
SM3		3.19	45.0
SA3		2.73	35.0
STR-21		4.05	60.0
SH(1)-3		1.82	72.5
SH(2)-16		2.42	57.5
SOR-5		2.63	45.0
SOR-8		2.27	85.0
SM28	VCG 4B	3.62	20.0
SS4		2.62	50.0
SH(1)-23		1.76	65.0
SH(4)-27		2.06	72.5
SH(4)-28		2.36	85.0
SK5	VCGx	1.95	72.5
SKH(A)-19		1.51	67.5
Kontrol		3.62	0.00

Yöntem

Bitkilerde çeşitli besin elementlerinin tayini için kurutulan ve öğütülen bitki örneklerinden 0.5 g alınarak 3 tekerrürlü olarak analiz yapılmıştır. Bitki örneklerinin P, Ca, K, Mg, Na, B, Mn, Fe, Zn ve Cu içerikleri nitrik asit-hidrojen peroksit (2:3) ile 3 farklı adımda (1. Adım; 145°C'de %75 mikrodalga gücünde 5 dakika, 2. Adım; 180°C'de %90 mikrodalga gücünde 10 dakika ve 3. Adım 100°C'de %40 mikrodalga gücünde 10 dakika) 40 bar basınca dayanıklı mikrodalga yaş yakma ünitesine (CEM Mars Xpress, USA) tabi tutulduktan (Mertens,

2005a) sonra ICP OES spektrofotometresinde (Inductively Couple Plasma spectrophotometer) (Thermo Scientific, ICAP 6300 Duo, ICP/OES, USA) okunmak suretiyle belirlenmiştir (Mertens, 2005b).

İstatistik analiz

Çalışma sonucu elde edilen veriler SAS paket programı kullanılarak istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Sonuçlara varyans analizi yapılmış olup, daha sonra ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir (P<0.05).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Verticillium dahliae'ya bağlı olarak bitkilerin toprak üstü, kök ve toplam bitki makro besin element içerikleri ile çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Buna göre bitkilerin toprak üstü kısmında; VCG 2A (%0.62) hariç, VCG 2B (%0.76), VCG 4B (%0.86) ve VCGx (%0.74) izolatlarının uygulandığı bitkilerin P içeriği ile kontrol bitkilerinin (%0.38) P içeriği arasında istatistiksel olarak farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bitki kök örneklerinin P içeriğinde ise, VCG 4B (%0.45) hariç diğer gruplar kontrol (%0.25) ile aynı grupta yer almıştır. Tüm bitki ortalaması olarak değerlendirdiğimizde %0.47 (VCG 2A) ile %0.66 (VCG 4B) arasında değişim gösteren P içeriğinin kontrolde %0.32 olduğu tespit edilmiştir. Hochmuth ve Albregts (1994) ve Casteel (2004) çilekte yaprak örneklerinde yaptıkları analiz sonucunda yeterlilik sınırlarının %0.20 ile %0.40 arasında, Kacar ve İnal (2008) ise %0.25 ile %1 arasında olduğunu bildirmişlerdir. May ve Pritts (1990) çilekte yaprak örneklerinin P içeriğinin %0.25 ile %0.40 arasında, Çakıcı ve Aydın (2005), Ege Bölgesi'nden aldıkları çilek yaprak örneklerinde %0.15 ile %0.36 arasında değişim gösterdiğini rapor etmişlerdir. Ferree ve Stang (1988), çileğin taç kısmının P içeriğinin %0.25 ile %0.40 arasında değiştiğini belirtmiştir. Bu çalışmada bitkilerin P alımı patojene bağlı olarak değişmiştir ancak gerek kontrol bitkilerinde gerekse bu grupların izolatlarıyla hastalandırılmış bitkilerde P beslenmesi yönünden bir sıkıntının olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan istatistik analiz neticesinde VCG'larına bağlı olarak P içeriğinde bir azalma olmadığı bilakis en düşük P içeriğinin hastalıkla bulaşık olmayan kontrol grubunda ortaya çıktığı belirlenmiştir. Benzer sonuçlar *Verticillium longisporum* ile enfekteli *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde de görülmüş ve bu bitkilerin P konsantrasyonunda artış olduğu rapor edilmiştir (Floerl ve ark., 2010). Bitkilerin hastalıklara

karşı dayanıklılık gösterebilmesi için P'un gerekli bir besin elementi olduğu konusunda araştırmacılar hemfikirdir (Kacar ve Katkat, 2010; Kurt, 2013). Ancak P noksanlığında olduğu gibi fazlalığında da bitkiler olumsuz şekilde etkilenmektedir. P'un fazla olması durumunda bitkiler üzerinde genelde toksik etki görülmemekle birlikte Ca, B, Cu ve Mn noksanlığını teşvik ettiği bildirilmiştir (Kacar ve Katkat, 2010).

Bu çalışmanın sonuçları incelendiğinde; bitki örneklerinin en yüksek Ca içeriğinin, kontrol bitkilerinin (%1.32) toprak üstü aksamından elde edildiği görülmektedir. VCG 2A (%0.93), VCG 2B (%0.97), VCG 4B (%1.00) ve VCGx (%0.95)'de Ca içerikleri hastalık etmenine bağlı olarak önemli ($P < 0.05$) derecede azalmış ve kontrolden farklı grupta yer almıştır. Kökten yapılan analizler sonucu tüm VCG'larının Ca içeriğinin kontrol ile aynı grupta yer aldığı görülmektedir. Bitkinin tamamında ise Ca içeriği %0.94 (VCG 4B) ile %0.81 (VCG 2A) arasında değişmekte olup bu azalış %1.06 kontrol değeriyle istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlardan farklı olarak *V. dahliae* inoküle edilen domates ve patlıcan bitkilerinin Ca içeriğinde kontrole oranla %10'luk bir artış gözlemlenmiştir (Floerl ve ark., 2010). Bununla birlikte Ca içeriğinin, bitki hastalıklarının çıkışına ve şiddetine etki ettiği, ksilem sıvısının Ca içeriği ile *Fusarium oxysporum* hastalığının gelişim ve aktivitesi arasında yakın bir ilişki olduğu belirtilmektedir (Köseoğlu, 1995). Benzer şekilde Ca uygulanmasının, fesleğende *S. sclerotiorum* duyarlılığını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (David ve ark., 2019). Çilekte Ca için yeterlilik sınırlarını Jones ve ark., (1991) %1.00-%2.50, Campbell ve Miner (2000) %0.50-%1.50 olarak bildirmişlerdir. Jamali ve ark (2015), çalışmalarında Ca içeriğinin çilek toprak üstü aksamında %0.85 ve kök kısmında %0.26 olduğunu bildirmişlerdir. Geçer ve Yılmaz (2012) arazi şartlarında çileğin Ca

içeriğini %0.76 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada bitkinin Ca içeriğinde azalma olmuştur, fakat bu azalış bitkinin yeterlilik sınırının altında olmamıştır.

Çizelge 2. *Verticillium dahliae*'ya bağlı olarak çilekte makro besin element içeriklerinin karşılaştırması

		Toprak üstü	Kök	Genel
P, %	Kontrol	0.38 b	0.25 b	0.32 b
	2A	0.62 ab	0.32 ab	0.47 ab
	2B	0.76 a	0.36 ab	0.56 a
	4B	0.86 a	0.45 a	0.66 a
	x	0.74 a	0.26 b	0.51ab
	F değeri ve Ö.D.	2.43*	4.19**	2.96*
Ca, %	Kontrol	1.32 a	0.80 ab	1.06 a
	2A	0.93 b	0.69 b	0.81 b
	2B	0.97 b	0.82 ab	0.89 b
	4B	1.00 b	0.88 a	0.94 ab
	x	0.95 b	0.69 b	0.82 b
	F değeri ve Ö.D.	2.59*	2.61*	2.58*
K, %	Kontrol	2.02 a	1.01 a	1.51
	2A	1.74 b	0.68 bc	1.22
	2B	1.81 ab	0.74 b	1.28
	4B	1.90 ab	0.73 b	1.32
	x	1.95 ab	0.51 c	1.24
	F değeri ve Ö.D.	2.44*	3.53**	0.498 ^{ns}
Mg, %	Kontrol	0.32 a	0.44 a	0.39 a
	2A	0.24 bc	0.26 bc	0.26 b
	2B	0.23 c	0.28 b	0.26 b
	4B	0.23 c	0.24 c	0.24 b
	x	0.26 b	0.22 c	0.24 b
	F değeri ve Ö.D.	7.86**	9.55**	12.02**
Na, %	Kontrol	0.01	0.05	0.03
	2A	0.03	0.03	0.03
	2B	0.02	0.04	0.03
	4B	0.02	0.04	0.03
	x	0.02	0.03	0.03
	F değeri ve Ö.D.	1.52 ^{ns}	1.91 ^{ns}	0.43 ^{ns}

**; $p < 0.01$, *; $p < 0.05$, ^{ns}; $p > 0.05$ a,b,c,; her element için aynı sütundaki farklı harfler farklı grupları ifade etmektedir

VCG'larına bağlı olarak en düşük K içeriği bitkilerin toprak üstünde VCG 2A, kökte ise VCGx olarak belirlenmiş olup, bu gruplar kontrole oranla önemli ($P < 0.05$) azalmaya sebep olmuşlardır. Bitkilerin K içeriği toprak üstü aksamında %1.95 (VCGx) ile %1.74 (VCG 2A) arasında değişim göstermiş olup kontrolde bu

oran %2.02 olmuştur. Kök kısmında ise %0.51 (VCGx) ile %0.74 (VCG2B) arasında bir değer alıp %1.01 olan kontrol bitkilerinden istatistiki olarak farklı gruplarda yer almışlardır. Weir (1992), pamukta yüksek oranlarda *Verticillium solgunluk* hastalığı ile K eksikliğinin daha şiddetli görülmesini ilişkilendirmiş, V.

dahliae'nin enfekte ettiği pamuk bitkilerinin kök ve gövdelerinde K hareketi sınırlandırıldığı için bitkide ani ve şiddetli bir K eksikliği ortaya çıktığını belirtmiştir. Bu anlamda K'un sadece büyüme, gelişme ve metabolik işlevler üzerine değil bitkilerin hastalık ve zararlılara karşı direnç kazanmalarında da önemli bir etkiye sahip olduğu söylenebilir (Kacar ve Katkat, 2010).

Kacar ve İnal (2008), çilek yapraklarında K yeterlilik sınırlarının %1.30 ile %3.0 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Çeşitli araştırmacılar çilekte K için kritik değer olarak %1 değerini vermektedirler (Ağaoğlu, 1986; Reuter ve Robinson, 1986; Morard,1987). Çakıcı ve Aydın (2005) yaprak örneklerinin K içeriğinin %0.85 ile %2.15 arasında değişim gösterdiğini rapor etmişlerdir. Demirsoy ve ark. (2010) çilekte taç kısmının K içeriğinin %0.64 ile %1.35 arasında değiştiğini ve yine Demirsoy ve ark. (2012) kök kısmının K içeriğinin %1.59 ile %3.04 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada Geçer ve Yılmaz (2012) arazi şartlarında çileğin K içeriğini %0.98 olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlardan yola çıkarak hastalığa bağlı olarak çilekte K içeriğindeki azalmanın bitkiyi olumsuz etkileyecek düzeyde olmadığını söylenebilir.

Bitkilerin Mg içerikleri incelendiğinde; en yüksek değere bitkilerin toprak üstü (%0.32), kök (%0.44) ve tüm bitki ortalamasında (%0.39) kontrol bitkilerinin sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük değer toprak üstü aksamında VCG 2B ve VCG 4B (%0.23), kökte VCGx (%0.22) ve genelde VCG 4B ve VCGx (%0.24) gruplarında ölçülmüştür. Bu değerler ile tüm VCG'larının kontrolden farklı grupta yer aldığı ve Mg içeriğini önemli derecede düşürdüğü tespit edilmiştir. Çilekte Mg için yeterlilik sınırlarını

Ulrich ve ark (1980) %0.30-0.70, Jones ve ark (1991) %0.25-1.00, Casteel (2004) %0.25-0.45 olarak vermişlerdir. Bitkilerin Mg içeriği yeterlilik kriterleri ile karşılaştırıldığında kontrol bitkileri dışında hemen tüm VCG'larının Mg beslenmesini olumsuz etkilediği ve birçoğunda yeterlilik sınırının altında olduğu ortaya çıkmaktadır.

Yapılan analizler sonucunda bitkilerin Na içerikleri VCG'larına göre değişiklik göstermesine rağmen bu değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir.

VCG 2A, VCG 2B, VCG 4B ve VCGx'e ait izolatların çileğin mikro besin elementleri üzerinde yaptığı değişimler Çizelge 3'de verilmiştir. Bitkilerin B içerikleri toprak üstü aksamında ve kökte patojenden önemli ($P<0.05$) derecede etkilenmiş fakat bu etki sadece bir azalış şeklinde olmamıştır. Bitkilerin toprak üstü aksamlarında en yüksek B içeriği VCG 4B (28.52 ppm) grubu izolatlarından elde edilirken, en düşük B içeriği VCG 2B (23.99 ppm) grubu izolatlarında belirlenmiştir. Kök kısımlarında en yüksek B içeriği VCG 2B (19.45 ppm)'de belirlenmiş olup bu oran kontrolden (16.99 ppm) daha yüksek bir değere sahip olmuştur. En düşük B içeriği ise VCGx (11.92 ppm)'de belirlenmiştir. Tüm bitki ortalaması olarak VCG'larına göre bitki B içeriğindeki değişim istatistiksel olarak farksız bulunmuştur. B için yeterlilik sınırlarını Kacar ve İnal (2008) 23-50 ppm, Campbell ve Miner (2000) 25-50 ppm olarak vermiştir. Yeterlilik kriterleri ile karşılaştırıldığında bitkinin B beslenmesinde problem olabileceği düşünülmekte, ancak kontrol parsellerinde de aynı sorunun olması bu problemin patojenden kaynaklanmadığını göstermektedir.

Çizelge 3. *Verticillium dahliae*'ya bağlı olarak çilekte mikro besin element içeriklerinin karşılaştırması

		Toprak üstü	Kök	Genel
B, ppm	Kontrol	26.68ab	16.99 ab	21.84
	2A	27.27ab	12.90 b	20.09
	2B	23.99b	19.45 a	21.72
	4B	28.52a	17.39 a	22.96
	x	24.85ab	11.92 b	18.39
	F değeri ve Ö.D.	2,71*	6,61**	1,71 ^{ns}
Fe, ppm	Kontrol	162.8	768.6	465.8
	2A	147.6	471.4	309.5
	2B	162.7	575.4	369.1
	4B	722.4	591.6	657.1
	x	179.2	655.3	417.2
	F değeri ve Ö.D.	0,60 ^{ns}	1,35 ^{ns}	0,66 ^{ns}
Mn, ppm	Kontrol	359.30 a	85.41	222.36 a
	2A	231.33bc	84.28	157.81 b
	2B	202.69 c	67.27	134.99 b
	4B	230.91 bc	97.32	164.12 ab
	x	277.92 ab	83.79	180.86 ab
	F değeri ve Ö.D.	4.89**	2.12 ^{ns}	2.42*
Zn, ppm	Kontrol	78.73	98.18	88.46
	2A	61.16	72.58	66.87
	2B	39.11	94.99	67.05
	4B	48.06	82.34	65.20
	x	43.20	64.07	53.64
	F değeri ve Ö.D.	1.72 ^{ns}	1.78 ^{ns}	1.036 ^{ns}
Cu, ppm	Kontrol	8.80 a	12.75	10.78 a
	2A	7.32 ab	8.12	7.72 b
	2B	3.61 c	8.46	6.04 b
	4B	5.46 b	8.55	7.01 b
	x	5.49 abc	7.06	6.28 b
	F değeri ve Ö.D.	6.17**	1.91 ^{ns}	3.88**

**; $p < 0.01$, *; $p < 0.05$, ^{ns}; $p > 0.05$ a,b,c,; her element için aynı sütundaki farklı harfler farklı grupları ifade etmektedir

Bu çalışmada çilek bitkilerinin Fe içeriğinin, patojenden etkilenmediği belirlenmiştir. Bu konuda yapılan bir çalışmada *V. dahliae* ile inoküle edilen domates ve patlıcan bitkilerinde de benzer sonuçlar rapor edilmiş olup, bu bitkilerin Fe içeriğinde bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Karagiannidis ve ark., 2002)

Bitkilerin Mn içeriği VCG'larına bağlı olarak toprak üstü aksamda ve tüm bitki ortalamasında önemli ($P < 0.05$) derecede değişim

göstermiş, kök kısmında ise istatistiksel olarak bir değişim saptanmamıştır. Toprak üstü aksam (359.30 ppm) ve tüm bitkide (222.36 ppm) en yüksek Mn içeriği kontrol bitkilerinde ölçülürken, en düşük değer ise VCG 2B (202.69 ppm) izolatlarıyla inoküle edilen bitkilerde belirlenmiştir. Bitkilerin Mn içerikleri toprak üstü aksamda 202.69 ile 277.92 ppm, tüm bitki ortalaması olarak ise 134.99 ile 180.86 ppm arasında değişim göstermiştir. Mn için yeterlilik sınırlarını Jones ve ark., (1991) 50-200 ppm,

Campbell ve Miner (2000) 30-300 ppm, Kacar ve İnal (2008) 50-200 ppm olarak vermiştir. Bitkilerin Mn alımı *V. dahliae*'ya bağlı olarak azalmış fakat kritik seviyenin altına gerilememiştir. Çileğin Mn içeriğini Çakıcı ve Aydın (2005) 45-135 ppm, Geçer ve Yılmaz (2012) 210.96 ppm, Jamali ve ark. (2015) 103 ppm, Demirsoy ve ark. (2012) kökte 14.4-94.8 ppm vejetatif kısımda ise 36.5-89.5 ppm olarak bildirmişlerdir. Genel olarak hastalıklı bitkilerin Mn içeriği sağlıklı bitkilerden daha düşük olarak bulunmakta ve bu durum bitki hastalıkları ile Mn arasındaki yakın ilişkiyi göstermektedir. Bazı toprak kaynaklı patojenler, topraktaki Mn'ı okside edip, yüksek bitkiler tarafından kullanılamaz hale getirmektedir. Bu durum Mn alımının azalmasına ve bitkide hastalığa karşı dayanıklılığın düşmesine sebep olmaktadır (Anonymous, 2019).

Bitkilerin Zn içeriği kontrole göre hastalıkla bulaşık bitkilerde azalma göstermiş olmasına karşın istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Benzer şekilde Karagiannidis ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, *V. dahliae*'nin domates ve patlıcanın Zn içeriğinde bir değişim meydana getirmeden kontrol bitkileri ile aynı grupta yer aldığı tespit edilmiştir.

Bitkilerin toprak üstü aksamı ve tüm bitki ortalamasının Cu içeriği değerleri kontrol bitkilerine göre hastalıkla bulaşık bitkilerde azalma göstermiştir. Gerek toprak üstü aksam gerekse tüm bitki ortalaması olarak en düşük Cu değerleri 3.61 ppm ile VCG 2B grubu izolatlarla bulaşık bitkilerde ortaya çıkmıştır. Bitkilerin Cu içerikleri toprak üstü aksamda 3.61 ppm (VCG 2B) ile 7.32 ppm (VCG 2A), tüm bitki ortalaması olarak ise 6.04 ppm (VCG 2B) ile 7.72 ppm (VCG 2A) arasında değişmiş olup, kontrolden farklı grupta yer almıştır. Çilek için Cu yeterlilik sınırını Reuter ve Robinson (1986) 5-10 ppm, Campbell ve Miner (2000) 3-15 ppm, Kacar ve İnal (2008) 6-50 ppm olarak bildirmektedir. Buna göre VCG 2B gurubu izolatların kullanıldığı bitkilerde hastalık bitkinin

Cu beslenmesini yeterli seviyenin altına indirmiştir. VCG 4B ve VCGx grubu izolatlarda ise alt sınır değerine yaklaşılmıştır. Cu, fungusit olarak yaygın kullanılan bir besin elementi olmakla birlikte, Cu eksikliği bitkide hastalığa karşı dayanıklılığı düşürmektedir (Spann ve Schumann, 2010). Bu anlamda *V. dahliae* izolatlarının Cu oranını düşürmesi önem arz etmektedir.

SONUÇ

Genellikle bitki hastalıkları ile mücadelede kullanılan kültürel uygulamalar, çeşitli besin elementlerinin mevcudiyetini artırıp azaltarak hastalığın gelişimini etkilemektedir (Huber ve Graham, 1999). Bitki besleme, sağlıklı bitki gelişimini sürdürmede ve bitki hastalıklarını baskılamada gerekli olan temel stratejilerden biridir. Bu nedenle tam ve dengeli besleme bitkiyi hastalıklara karşı korumada her zaman ilk seçenek olmalıdır (Elmer, 2015).

Verticillium dahliae'nin farklı VCG'larına ait izolatların çilekte mineral beslenme üzerine etkisinin incelendiği bu çalışmada, patojen çileğin Ca, K, Mg, Mn ve Cu içeriğinde istatistiki olarak azalmaya sebep olmuştur, ancak bu azalma Mg ve Cu dışındaki besin elementlerinde bitkinin besin elementi içeriğini yeterli aralığın altına indirmemiştir. Mg ve Cu'da ise bazı VCG'larında kritik seviyenin altında değerler kaydedilmiş, bazılarında ise yeterli aralığın alt sınırında kalmıştır. P'daki değişim kontrole kıyasla istatistiki açıdan önemli bulunmuştur, ancak bu farklılık artış yönünde olmuştur. Benzer şekilde bitkilerin toprak üstü aksamında VCG 4B izolatları B içeriğini artırmıştır. İncelenen besin elementlerinden Na, Fe ve Zn içeriğinin ise *V. dahliae* izolatlarından etkilenmediği tespit edilmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda, *V. dahliae*'nin çilek bitkilerinin besin elementi içeriğinde yaptığı değişiklikleri bilmek hastalıkla mücadele açısından önemli katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu YS, 1986. Üzümsü Meyveler. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 984, s.29-143, Ankara-Türkiye.
- Anonymous, 2019. The relationship between nutrients and other elements to plant diseases. http://www.spectrumanalytic.com/support/library/pdf/relationship_between_nutrients_and_other_elements_to_plant_diseases.pdf (Erişim tarihi:11.04.2019).
- Aybak HÇ, 2005. Çilek yetiştiriciliği. Hasad Yayincılık, s.12, İstanbul-Türkiye.
- Campbell CR, Miner GS, 2000. Strawberry, annual hill culture. In C.R. Campbell (ed.) Reference sufficiency ranges for plant analysis in the southern region of the United States. South. Coop. Ser. Bull. 394. N.C. Dep. Agric. Consumer Serv., Raleigh.
- Casteel S, 2004. Strawberry fertility and nutrient management. In: Strawberry plasticulture notebook-a guide to strawberry plasticulture production. Raleigh (NC): The North Carolina Strawberry Association. (pages not consecutively numbered).
- Çakıcı H, Aydın Ş, 2005. Emiralem-İzmir yöresi çilek plantasyonlarının beslenme durumu. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 42(1): 155-166.
- David DR, Yermiyahu U, Fogel M, Faingold I, Elad Y, 2019. Plant nutrition for management of white mold in sweet basil. *Phytoparasitica*,47(1): 99-115.
- Demirsoy L, Demirsoy H, Balcı G, 2012. Different growing conditions affect nutrient content, fruit yield and growth in strawberry. *Pakistan Journal of Botany*, 44(1): 125-129.
- Demirsoy L, Demirsoy H, Ersoy B, Balcı G, Kızılkaya R, 2010. Seasonal variation of N, P, K and Ca content of leaf, crown and root of 'Sweet Charlie' strawberry under different irradiation. *Zemdirbyste-Agriculture.*, 97(1): 23-32.
- Dordas C, 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agronomy for sustainable development*, 28(1): 33-46.
- Elmer HW, 2015. Using mineral nutrition to suppress plant diseases. The Connecticut Agricultural Experiment Station Fact Sheet.
- Ferree DC, Stang EJ, 1988. Seasonal plant shading, growth and fruiting in "Earliglow" strawberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 113(3): 322-327.
- Floerl S, Druebert C, Aroud HI, Karlovsky P, Polle A, 2010. Disease symptoms and mineral nutrition in *Arabidopsis thaliana* in response to *Verticillium longisporum* VL43 infection. *Journal of Plant Pathology*, 92(3): 693-700.
- Genç T, 2012. Erzurum ve Erzincan illerinde çilek bitkilerinden izole edilen *Verticillium dahliae*'nin vejetatif uyum grupları, patojenitesi ve biyolojik mücadelesi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Geçer MK, Gündoğdu M, Başar G, 2018. Bazı çilek çeşitlerinin merzifon (Amasya) ekolojisindeki verim durumlarının tespiti. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2): 11-15.
- Geçer MK, Yılmaz H, 2012. Örtü altı ve açık arazi koşullarında üretilen bazı çilek çeşitlerine ait fidelerin besin elementi içerikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 22 (1): 1-6.
- Hochmuth G, Albrechts E, 1994. Fertilization of strawberries in Florida. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS.
- Huber DM, Graham RD, 1999. The role of nutrition in crop resistance and tolerance to diseases. Mineral nutrition of crops: fundamental mechanisms and implications, pp.169-206. Newyork-London.

- Jamali B, Esghi S, Tafazoli E, 2015. Mineral composition of 'Selva' strawberry as affected by time of application of nitric oxide under saline conditions. *Horticulture Environment and Biotechnology*. 56(3): 273-279.
- Jones, JR, Wolf B, Mills HA, 1991, Plant analysis handbook, micro-macro Publishing Inc., USA, pp. 1-213.
- Kacar B, Katkat VA, 2010. Bitki Besleme. Nobel Yayın No: 849, İstanbul-Turkey.
- Kacar B, İnal A, 2008. Bitki Analizleri. Nobel Yayın No: 1241, İstanbul -Turkey.
- Karagiannidis N, Bletsos F, Stavropoulos N, 2002. Effect of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings. *Scientia Horticulturae* 94(1-2): 145-156.
- Kocaçalışkan İ, 2008. Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayın No:1338, s.267, Ankara-Türkiye.
- Köseoğlu AT, 1995. Bitkilerde kalsiyum beslenmesinin bitki hastalıkları üzerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8(1): 271-277.
- Kurt Ş, 2013. Bitki hastalıkları ile savaş yöntemleri ve ilaçlar. Akademisyen kitabevi, 1-242, Ankara-Türkiye.
- May GM, Pritts MP, 1990. Strawberry nutrition. *Adv. Strawberry Prod*, 9: 10-24.
- Mertens D, 2005a. AOAC Official Method 922.02. Plants Preparation of Laboratory Sample. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp 1-2, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.
- Mertens D, 2005b. AOAC Official Method 975.03. Metal in Plants and Pet Foods. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp 3-4, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.
- Morard P. 1987. Strawberry. Pages 688-694. In: Martin-Prevel P, Gagnard JJ, Gautier P (Ed.). *Plant Analysis. As a Guide to the Nutrient Requirements of Temperate and Tropical Crops*. Lavasier Publishing Inc. 175 Fifth Avenue, New York, N.Y. 10010, USA.
- Spann TM, Schumann AW, 2009. The role of plant nutrients in disease development with emphasis on citrus and huanglongbing. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 122: 169–171.
- Spann TM, Schumann AW, 2010. Mineral nutrition contributes to plant disease and pest resistance. *UF/IFAS Extension*. <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Reuter DJ, Robinson JB, 1986. *Plant analyses: an interpretation manual*. Inkata press Proprietary Ltd. Melbourne and Sydney. pp. 219.
- Ulrich A, Mostafa MAE, Allen WW, 1980. Strawberry deficiency symptoms. A visual and plant analysis guide to fertilization. *University of California* 633.63 U17s Ej.1 018940, pp.58.
- Uçkun K, Gezgin S, 2008. Makro bitki besin elementlerinin hastalıklarla ilişkisi. 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi, 8-10 Ekim 2008, Konya.
- Tisdale SL, Nelson WL, Beaton JD, Havlin JL, 1985. *Soil and fertilizer potassium. Soil fertility and fertilizers*, 4 Edition, pp. 249-291, Macmillan Publishing Company, New York, USA.
- Weir BL, DeVay JE, Wakeman RJ, 1992. Potassium deficiencies in cotton go down, yields go up. *California Agriculture*, 46(3): 17-18.

Diversity and Abundance of Rotifera in Kadıköy Reservoir of Turkey

Hüseyin GÜHER^{1*}

ABSTRACT: This research has been carried out to determine diversity and abundance of Rotifera in Kadıköy Reservoir. For this purpose, Rotifera and water samples were collected monthly from March 2010 to February 2011 at three different stations in the reservoir. A total of 33 species from Rotifera were determined in the qualitative evaluation of samples taken from the reservoir. The quantitative evaluation of the Rotifera samples revealed presence of an average of 70 472 ind m⁻³ in Kadıköy Reservoir. The maximum number of Rotifera were recorded at 1st station (81 819 ind m⁻³); in May (100 901 ind m⁻³) and in spring season (83 458 ind m⁻³). *Asplanchna priodonta*, *Brachionus angularis*, *Filinia terminalis* and *Keratella cochlearis* sampling in all months were found to be the most common species during the study. When we evaluate the species identified in the reservoir, the distribution of the individuals that make up the Rotifera fauna and physical-chemical parameters as a whole, it has been concluded that Kadıköy Reservoir is in meso-eutrophic character in terms of Rotifera.

Keywords: Rotifera, species diversity, water quality, reservoir.

Kadıköy Barajı'nın (Türkiye) Rotifera Bolluğu ve Tür Çeşitliliği

ÖZET: Bu araştırma, Kadıköy baraj gölünün Rotifera faunasını ve kommunité yapısını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada Kadıköy Barajı'nda belirlenen 3 istasyonda Mart 2010-Şubat 2011 tarihleri arasında Rotifera örnekleri toplanırken bu organizmaları etkileyen bazı çevresel parametrelerde ölçülmüştür. Toplanan örneklerin değerlendirilmesi sonucunda 33 Rotifera türü tespit edilirken Kadıköy Baraj Gölü'nde yıllık ortalama 70 472 birey m⁻³ bulunmuştur. En fazla birey 1. istasyonda (81 819 birey m⁻³); Mayıs ayında (100 901 birey m⁻³) ve ilkbaharda (83 458 birey m⁻³) bulunmuştur. Çalışma süresince tüm aylarda bulunan *Asplanchna priodonta*, *Brachionus angularis*, *Filinia terminalis* ve *Keratella cochlearis* en yaygın türler olarak tespit edilmiştir. Baraj gölü'nde tespit edilen Rotifera türlerine ve ölçülen fizikokimyasal parametrelere göre Kadıköy Baraj Gölü'nün mezo-ötrofik karakterde olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Rotifera, tür çeşitliliği, su kalitesi, baraj gölü.

¹ Hüseyin Güher (Orcid ID: 0000-0001-6206-0912), Trakya University, Faculty of Science, Department of Biology, Edirne, Turkey.

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hüseyin GÜHER e-mail: huseying@trakya.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 19.04.2018
Kabul tarihi / Accepted: 19.11.2018

INTRODUCTION

In fresh water ecosystems, phytoplanktonic organisms constitute an important food source of some aquatic invertebrate, whereas zooplanktonic organisms are an important food source of both aquatic invertebrate and fish larvae. The typical zooplankton assemblage in fresh water ecosystem commonly consists of Rotifera, Copepoda, Cladocera and Protozoa (Rocha et al., 1999). Rotifera is always the dominant group among the others, depending on the physicochemical and biological properties of the aquatic ecosystem. Rotifera can be found in various aquatic habitats such as lakes, pools, streams and puddles and provide food for vertebrate and invertebrate animals. Also bdelloid rotifers and some species of Dicranophoridae live in terrestrial habitats such as moss, lichen, soil and bark.

The abundance and composition of Rotifer species in freshwater ecosystems provide important information in determining the productivity of the aquatic ecosystems. Rotifera are also used as indicator organisms for pollution and eutrophication for the habitat they are present in since they are more susceptible to ecosystem alteration compared to other zooplanktonic groups. The zooplankton composition, distribution, diversity and relative abundance of a reservoir can have significant impact on fisheries in reservoir. The diversity and abundance of zooplankton in reservoir often differ according to the physicochemical and biological structure of the reservoir (Jackson and Schmitz, 1987; Sampaio et al., 2002). For this reason, in order to understand the productivity of an aquatic environment, the Rotifer species and its abundance must be well examined and determined. Rotifera species, distribution and diversity in inland waters in Turkey have been carried out a number of studies to examine. (Ustaoğlu, 2004; Ustaoğlu et al., 2012; Erdoğan and Güher, 2012; Güher, 2014). Some other

studies particularly paid to Rotifera in various reservoirs in Turkey. (Bekleyen, 2003; Kaya and Altındağ, 2007; Bozkurt and Sagat, 2008; Dirican and Musul, 2008; Mis and Aygen, 2010; Ayvaz et al., 2011; Yıldız, 2012; Buyurgan, 2010; Bulut and Saler, 2014; Saler and Alış, 2014; Tuna and Ustaoğlu, 2016 and Saler, 2017). This study was conducted to identify the Rotifera fauna of Kadıköy Reservoir located in Keşan District of Edirne province, Turkey and to reveal the species composition and richness.

MATERIALS AND METHODS

Study Area: Kadıköy Reservoir is located 20 km far to the south-east of Keşan district in Edirne province, Turkey (40° 48'51''N, 26° 47'43''E). It was built for flood control and irrigation purposes and also provides drinking and domestic water of Keşan district. It has a maximum depth of 20 m and a surface area of 6.2 km². Although the reservoir is fed mainly by the Doğanca Stream, it is also replenished by other small streams in the region and rainfall (Figure 1).

Sampling: The samples were collected monthly from March 2010 to February 2011 in three different points in reservoir (Figure 1). Because of harsh weather conditions, no sampling could be performed in January 2011. The 1st sampling station was located where the water gathered, the 2nd sampling station was located in the middle of the reservoir and the 3rd sampling station was the shallowest part of the reservoir. Rotifer samples were collected with a Hensen type plankton net (mesh size 55 µ, mouth diameter 15 cm, length 75 cm). The samples were carried to the laboratory in 250 mL plastic bottles containing 4% of formaldehyde solution. In the laboratory, the samples were identified according to Ruttner-Kolisko (1974), Koste (1978), Herzig (1987), De Manuel Barrabin (2000), Segers (2008) and Ustaoğlu et al. (2012) and their counting was done according to Edmondson (1959) using an Olympus

inverted microscope. Some physicochemical parameters, such as water temperature, light permeability, conductivity, pH, dissolved oxygen were measured on site simultaneously with the sampling time. For other physical-chemical features of the water, water samplings were taken by a Ruttner water sampler in the reservoir. The values of PO_4^{-3} (Phosphate), NO_3^- -N (Nitrate-nitrogen), NO_2 -N (Nitrite-nitrogen),

SO_4^{2-} (Sulphate), Ca (Calcium), Mg (Magnesium), Cl (Chloride) were measured in laboratories of Trakya University Technology Research Development Application and Research Center (TUTAGEM).

Bray-Curtis Similarity index was used to examine the similarities of sampling months and seasons with respect according to diversity and abundance of Rotifera species (Krebs 1999).

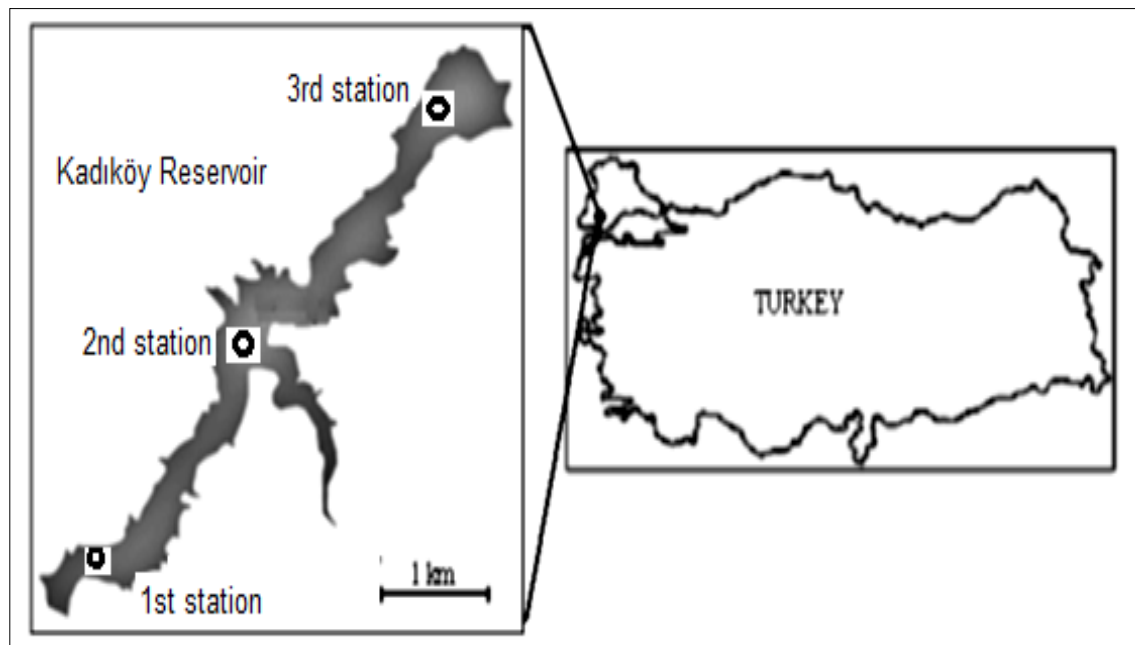


Figure 1: The location of Kadıköy Reservoir and the sampling points

RESULTS AND DISCUSSION

Physical and Chemical Variables: The minimum and maximum values of environmental parameters measured in the Kadıköy Reservoir were as follows; water temperature: 2.00-29.00 ($^{\circ}\text{C}$); DO: 3.40-15.73 (mg L^{-1}); pH: 7.53-8.63; EC: 388.00-613.67 ($\mu\text{S cm}^{-1}$); NO_2 -N: 0.00-0.09 (mg L^{-1}); NO_3 -N: 0.00-9.89 (mg L^{-1}); PO_4 -P: 0.00-0.068 (mg L^{-1}); SO_4 :

0.43-1.60 (mg L^{-1}); Salinity: 0.070-0.100 (‰); Chloride: 18.99-33.32 (mg L^{-1}); total hardness: 11.00-30.00 ($^{\circ}\text{FS}$); Ca: 24.53-61.70 (mg L^{-1}); Mg: 9.93-44.83 (mg L^{-1}). The measured of environmental parameters and their minimum, maximum and average values are given in the Table 1. Variations in these of environmental parameters according to the sampling stations and months are given in Figure 2.

Table 1: The measured of environmental parameters and their minimum, maximum and average values

	Abbreviation	Min.	Max.	Average
Water temperature (C)	WT	2.00	29.00	16.48 ± 10.027
Dissolved Oxygen (mg L ⁻¹)	DO	3.40	15.73	7.65 ± 3.813
Light permeability (cm)	LP	36.3	105.0	71.6 ± 22.958
pH	pH	7.53	8.63	8.29 ± 0.283
Conductivity (µS cm ⁻¹)	EC	388.00	613.67	523.03 ± 88.695
Nitrate Nitrogen (mg L ⁻¹)	NO ₃ -N	0.00	9.89	3.49 ± 2.934
Nitrite nitrogen (mg L ⁻¹)	NO ₂ -N	0.00	0.09	0.05 ± 0.029
Ortho-Phosphate (mg L ⁻¹)	o-PO ₄	0.000	0.068	0.010 ± 0.020
Sulphate (mg L ⁻¹)	SO ₄	0.43	1.60	1.10 ± 0.368
Salinity (‰)	Sal	0.070	0.100	0.082 ± 0.010
Chloride (mg L ⁻¹)	Cl	18.99	33.32	27.02 ± 4.228
Total Hardness (°FS)	TH	11.00	30.00	23.79 ± 4.705
Calcium (mg L ⁻¹)	Ca	24.53	61.70	39.69 ± 9.326
Magnesium (mg L ⁻¹)	Mg	9.93	44.83	34.84 ± 9.840

The average dissolved oxygen value was found as 7.65 ± 3.813 . In freshwater ecosystems, the least dissolved oxygen amount for aquatic life may not be less than 5.0 mg L^{-1} (Kaya and Altındağ, 2007). The amount of zooplankton in fresh water is affected by temperature changes. Because temperature is the most important factor affecting the amount of nutrients in fresh water (Geller and Müller, 1981). In the present study, the lowest total Rotifera abundance was found in winter ($53 \text{ 934 ind m}^{-3}$) when the water temperature reached its lowest values.

Most of the biochemical reactions in living and in the water depends on pH, which is one of the most important parameters affecting distributions of zooplankton, and in terms of pH alkaline limit was reported 8.5 (Berzins and Pejler, 1987). According to the mean pH values (average 8.29 ± 0.283), Kadıköy Reservoir was rated as an alkaline water bearing reservoir. According to the level system of OECD for trophic status of lakes, a lake is considered as eutrophic if the measured Secchi depth is between 0.8 and 1.5 m; mesotrophic if it is between 1.4 and 2.4 m and oligotrophic if it is between 3.6 and 5.9 m (Ryding and Rast, 1989).

According to this classification based on Secchi depths, Kadıköy Reservoir could be categorized as eutrophic since the measured Secchi depth is $71.6 \pm 22.958 \text{ cm}$.

The comparison of the physic-chemical analyses results with National Standard for Turkish inland water revealed that comparison temperature, pH, nitrate nitrogen, sulphate and phosphate were found at first and second quality level. In terms of dissolved oxygen the water was found at first quality level, nitrite nitrogen was found between second and third quality levels (Anonymous, 2016).

Zooplankton community structure: The identifications of the sampled material in Kadıköy Reservoir revealed presence of 33 species belonging to Rotifera (Table 2). When the sampling months were evaluated in terms of species diversity, highest number of species were found in May (23 species) followed by April (20 species), June (19 species), October (18 species) and March (16 species) while lowest species number was found in February (11 species). *Asplanchna priodonta*, *Brachionus angularis*, *Filinia terminalis* and *Keratella cochlearis* sampling in all months were the most

common species during the study. *Philodina megalotrocha*, *Collotheca ornata*, *Filinia longiseta*, *Hexarthra mira*, *Lecane lunaris*, *L. closterocerca*, *Polyarthra remata*, *Pompholyx*

sulcata, *Synchaeta pectinat* and *Trichocerca similis*, were sampling only in one month during the study.

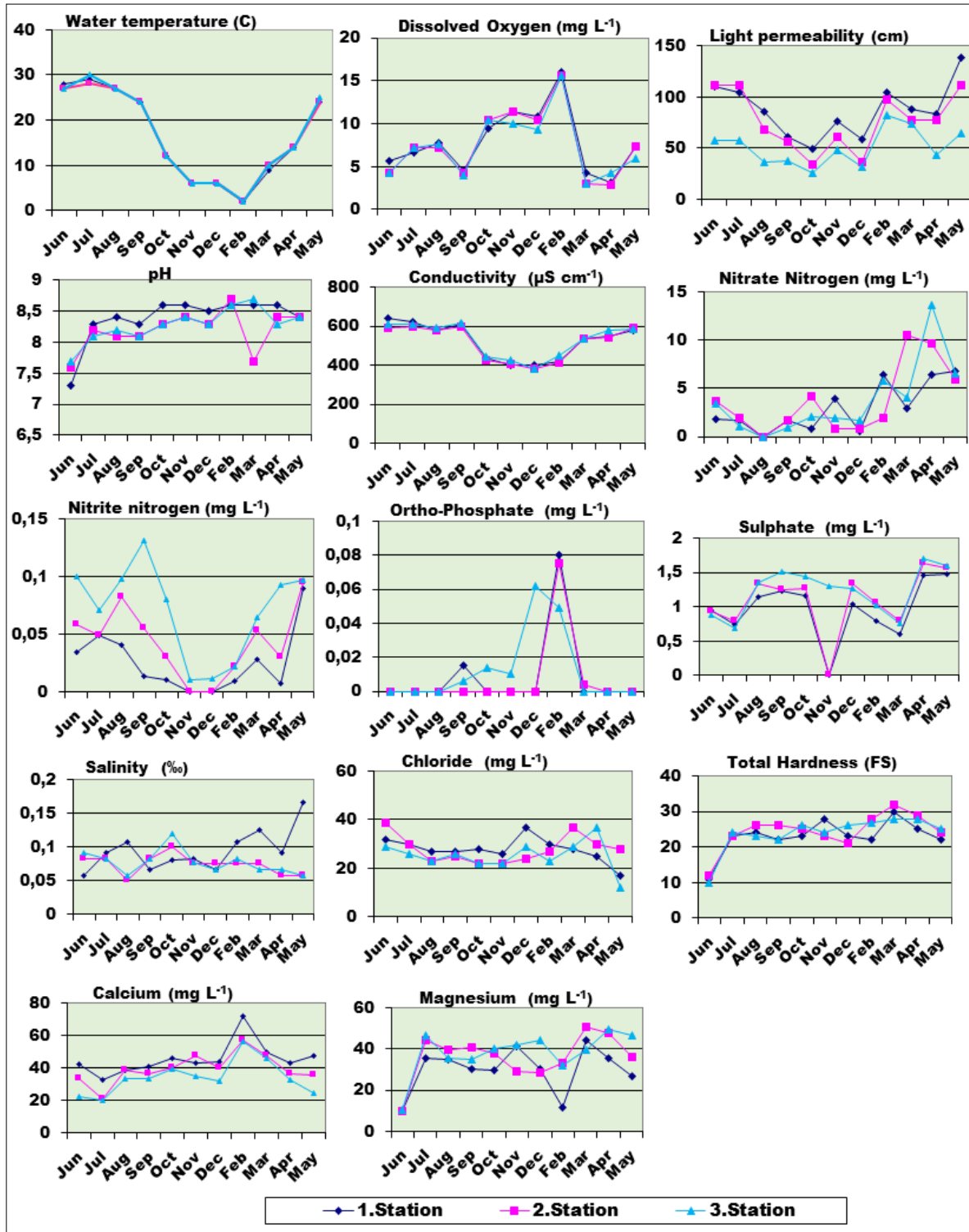


Figure 2: Variations in environmental parameters according to sampling stations and months

Table 2: Rotifera species and minimum, maximum and average values of their annual in per m³

ROTIFERA	Min.	Max.	Average
<i>Philodina megalotrocha</i> Ehrenberg, 1832	0	1 200	148 ± 371.56
<i>Ascomorpha</i> sp	0	7 813	2 712 ± 3 249.61
<i>Asplanchna priodonta</i> Gosse, 1850	5 663	10 878	8 019 ± 1 893.12
<i>Asplanchna sieboldi</i> (Leydig, 1854)	0	1 200	327 ± 560.52
<i>Brachionus diversicornis</i> (Daday, 1883)	0	3 563	606 ± 1 113.35
<i>Brachionus quadridentatus</i> Hermann, 1783	0	3 563	1 405 ± 1 746.83
<i>Brachionus urceolaris</i> Müller, 1773	0	12 828	7 466 ± 4 235.88
<i>Brachionus angularis</i> Gosse, 1851:	5 663	9 156	7 310 ± 1 366.38
<i>Collotheca ornata</i> (Ehrenberg, 1832)	0	1 200	218 ± 485.42
<i>Conochilus dossuarius</i> Hudson, 1875	0	456	41 ± 137.49
<i>Euchlanis dilatata</i> Ehrenberg, 1832	0	1 200	192 ± 380.84
<i>Filinia longiseta</i> (Ehrenberg, 1834):	0	1 446	173 ± 443.84
<i>Filinia terminalis</i> (Plate, 1886)	3 534	7 625	5 406 ± 1 602.56
<i>Hexarthra mira</i> Hudson, 1871	0	6 125	878 ± 2 037.73
<i>Kellicottia longispina</i> (Kellicott, 1879)	0	7 788	4 701 ± 2 843.84
<i>Keratella tecta</i> (Gosse, 1851)	0	6 125	2 234 ± 2 054.36
<i>Keratella quadrata</i> (O.F.Müller, 1786)	0	9 156	5 256 ± 2 923.88
<i>Keratella cochlearis</i> (Gosse, 1851)	1 200	7 663	5 731 ± 1 907.06
<i>Lecane lunaris</i> (Ehrenberg, 1832)	0	5 883	644 ± 1 774.51
<i>Lecane bulla</i> (Gosse, 1886)	0	2 100	713 ± 779.78
<i>Lecane luna</i> (O.F.Müller, 1776)	0	5 838	1 859 ± 1 897.64
<i>Lecane closterocerca</i> (Schmarda, 1859)	0	3 554	365 ± 1 066.63
<i>Notholca squamula</i> (O.F.Müller, 1786)	0	5 838	2 780 ± 2 174.30
<i>Polyarthra remata</i> Skorikov, 1896	0	3 554	455 ± 1 115.76
<i>Polyarthra vulgaris</i> (Carlin, 1943)	0	7 625	3 404 ± 2 730.21
<i>Pompholyx sulcata</i> (Hudson, 1885)	0	3 556	432 ± 1 096.76
<i>Synchaeta oblonga</i> Ehrenberg, 1832	0	5 838	1 224 ± 1 889.80
<i>Synchaeta pectinata</i> (Ehrenberg, 1832)	0	1 446	241 ± 538.00
<i>Trichocerca similis</i> (Wierzejski, 1893)	0	1 200	218 ± 485.42
<i>Trichocerca capucina</i> Wierzejski&Zacharias, 1893	0	1 446	740 ± 695.98
<i>Trichocerca cylindrica</i> (Imhof, 1891)	0	3 534	1 417 ± 1 547.66
<i>Trichocerca pusilla</i> (Jennings, 1903)	0	2 100	495 ± 781.12
<i>Trichocerca</i> sp.	0	5 838	2 908 ± 2 027.23

The quantitative evaluation of the Rotifera samples revealed presence of an average of 70 472 ind m⁻³ in Kadıköy Reservoir (Table 2). When the sampling months were evaluated based on average individual values per m³, the maximum number of organism was found in May (100 901 ind m⁻³) followed by April (89 149 ind m⁻³) and the minimum was found in

February (46 203 ind m⁻³) followed by March (50 239 ind m⁻³) (Figure 3). *Asplanchna priodonta* was the leading species in terms of density (8 019 ind m⁻³), followed by *Brachionus urceolaris* (7 446 ind m⁻³), *B. angularis* (7 310 ind m⁻³), *Keratella cochlearis* (5 731 ind m⁻³), *K. quadrata* (5 256 ind m⁻³) and *Kellicottia longispina* (4 701 ind m⁻³). The lowest density

values were measured for *Conochilus dossuarius* (41 ind m⁻³), *Philodina megalotrocha* (148 ind m⁻³), *Filinia longiseta* (173 ind m⁻³) and *Euchlanis dilatata* (192 ind m⁻³) (Table 2). The

highest similarity was found between December-August and November-July months, while the lowest similarity was found between August-March months (Figure 4).

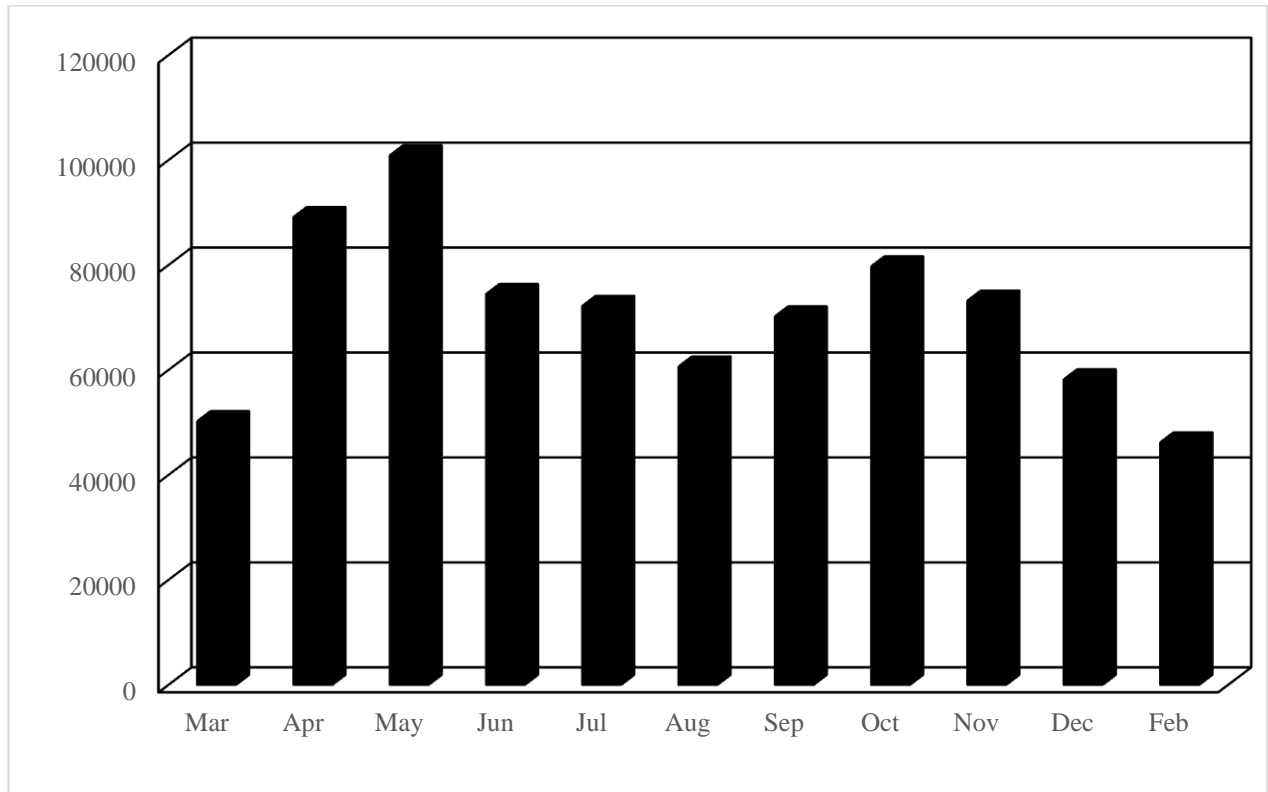


Figure 3: Total abundance of Rotifera according to the sampling months

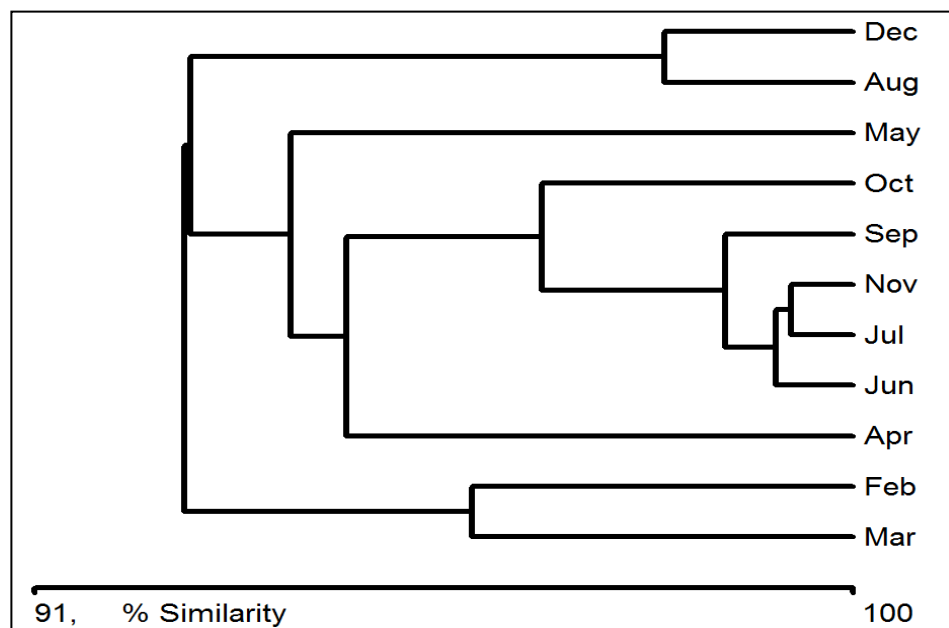


Figure 4: Bary-Curtis index similarity of zooplankton according to the sampling months

The maximum number of Rotifera were recorded at 1st station (81 819 ind m⁻³). This is followed by the 2nd and 3rd stations with 69 214 ind m⁻³ and 60 383 ind m⁻³ respectively (Figure 5). *Philodina megalotrocha* (1st and 3rd stations), *Asplanchna sieboldi*, *Collotheca ornate*, *Hexarthra mira*, *Trichocerca similis* and *T. pusilla* (1st and 2nd stations), *Lecane closterocerca*, *Polyarthra remata* and *Synchaeta*

pectinata (2nd -3rd stations) were found only in two stations, *Conochilus dossuarius* (3rd), *Filinia longiseta* (1st), *Lecane lunaris* (2nd), *Pompholyx sulcata* (1st) were found only in one station and other species were found at all stations. 2nd station was the most species rich station with 29 species while followed by the 1st station with 28 species and 3rd station with 25 species

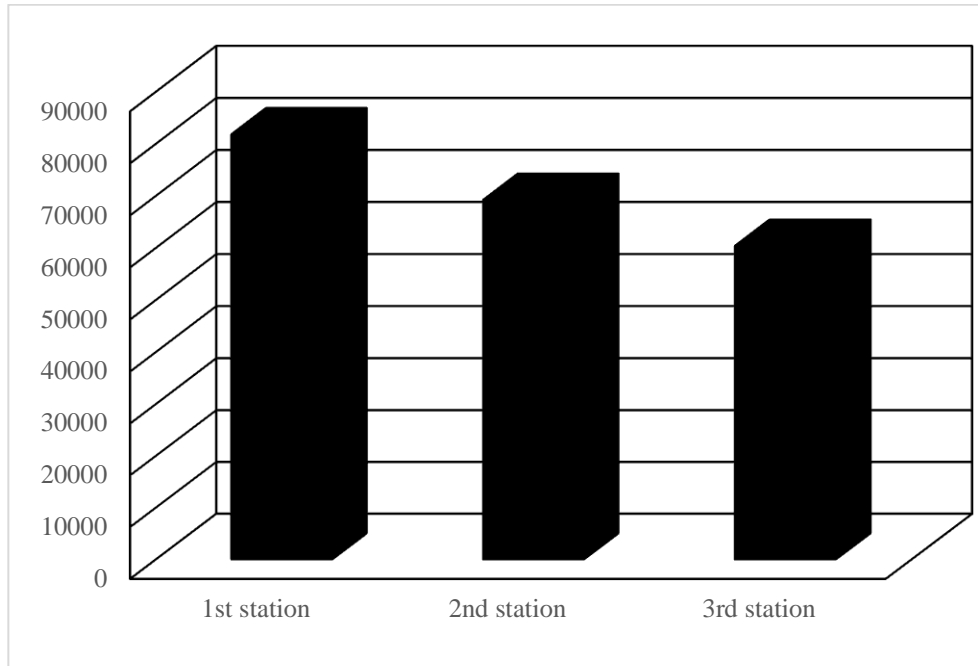


Figure 5: Abundance values of Rotifera according to sampling stations

When the sampling results were evaluated in terms of sampling month groups in their respective seasons, the maximum organism number was found in spring (83 458 ind m⁻³), followed by autumn (73 383 ind m⁻³) and summer (71 114 ind m⁻³) and the minimum was found in winter (53 934 ind m⁻³) (Figure 6). As species diversity, most species are found in spring and summer (28 species) while 22 species in autumn and at the winter 19 species were recorded. A decrease in species numbers in all the stations occurred in winter and an increase was observed in autumn and spring. The most species numbers were recorded in spring but fewer species numbers were observed in winter.

According to the Bary-Curtis index, seasonally are similar to each other over 85% (Figure 7).

All the species of Rotifera found in this study are shows widely distribution around the world and in Turkey (Segers, 2007; Ustaoglu et al., 2012). The most common species in the Kadıköy Reservoir were *Asplanchna priodonta*, *Brachionus angularis*, *Filinia terminalis* and *Keratella cochlearis* found in all sampling months. In addition, *Ascomorpha* sp, *Asplanchna priodonta*, *Brachionus quadridentatus*, *B. urceolaris*, *B. angularis*, *Filinia terminalis*, *Kellicottia longispina*, *Keratella tecta*, *K. quadrata*, *K. cochlearis*, *Lecane bulla*, *L. luna*, *Notholca squamula*, *Polyarthra vulgaris*,

Trichocerca capucina, *T. cylindrica*, *Trichocerca sp.* were the species found in all seasons during the study. These species most of

which are cosmopolitan are widely distributed in Turkey (Ustaoglu et al., 2012).

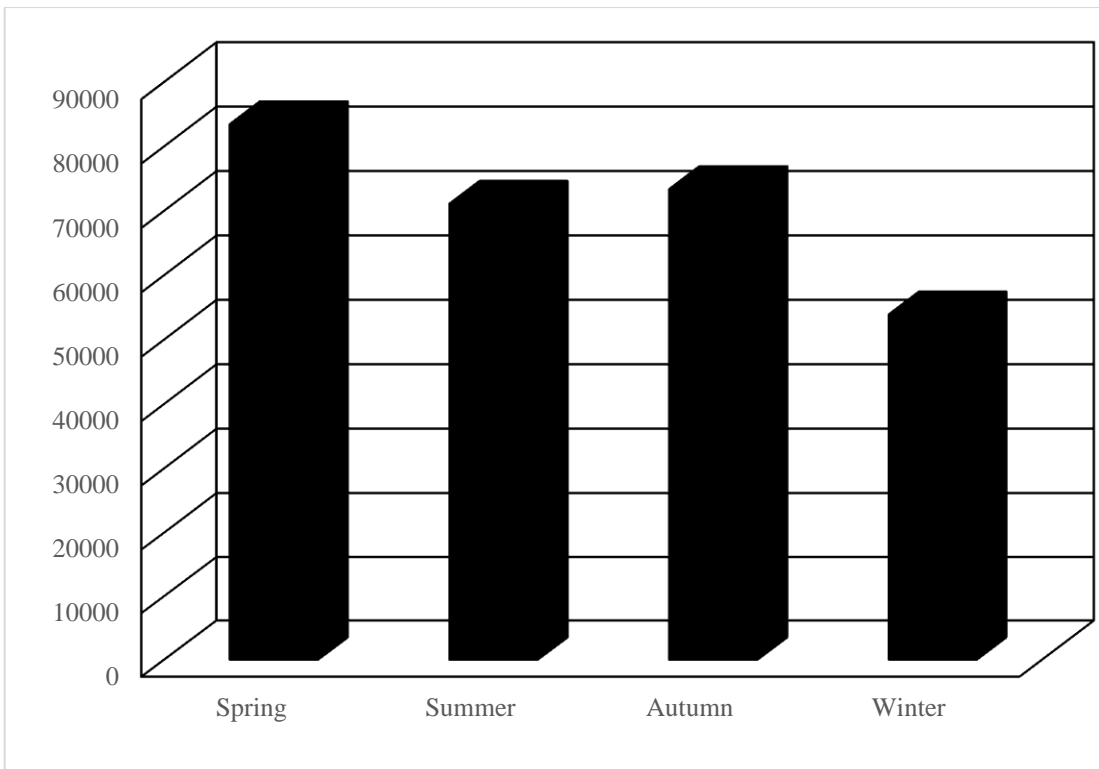


Figure 6: Abundance of Rotifera according to sampling to seasonally in Kadıköy Reservoir

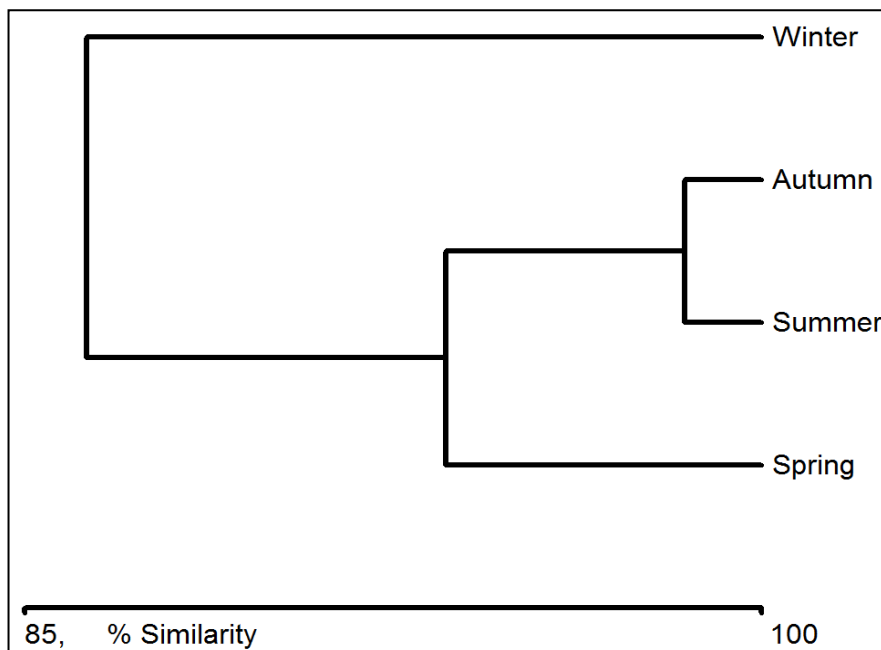


Figure 7: Bary-Curtis index similarity of zooplankton according to sampling stations

Branchionus species were indicate eutrophic habitat. They also suggested the Brachionidae family and *Branchionus* species as indicators of highly trophic habitat (Radwan, 1984; Sladeczek, 1983). In Kadıköy Reservoir 10 species (*Branchionus diversicornis*, *B. angularis*, *B. quadridentatus*, *B. urceolaris*, *Kellicottia longispina*, *Keratella cochlearis*, *K. quadrata*, *K. tecta* and *Notholca squamula*) from Brachionidae were identified. *Keratella cochlearis* an indicator of eutrophic conditions was recorded in all the months during the study. According to these species, the Kadıköy reservoir showed mesotrophic property. But, to determine the trophic index of the lake, *Branchionus:Trichocerca* (QB/T) equality was used (Sladeczek, 1983). According to this, while a quotient between one and two corresponds to mesotrophic conditions and a ratio of >2 is encountered in eutrophic lakes, a quotient of 1 indicates oligotrophic conditions. In this study, Kadıköy Reservoir was determined (4 species of *Branchionus* and 4 species of *Trichocerca*) QB/T = 1. On the other hand, the reservoir showed oligotrophic property according to Rotifera index. However, the index was calculated as 5.7 according to the average abundances of these species determined in the reservoir (*Branchionus* 47 961 ind m⁻³ and *Trichocerca* 8 378 ind m⁻³), thus leading reservoir to show an eutrophic property.

CONCLUSION

Rotifera species in the Kadıköy Reservoir were evaluated both qualitatively and quantitatively. A total of 33 Rotifera species were determined in the qualitative evaluation of plankton samples. The quantitative evaluation of the samples revealed an average value of 70 472 ind m⁻³ in the reservoir. While the maximum organism was found in spring (83 458 ind m⁻³) at 1st station (81 819 ind m⁻³) and in May (100 901 ind m⁻³), the lowest value found in winter (53 934 ind m⁻³), 3rd station (60 383 ind m⁻³) in

February (46 203 ind m⁻³). When we evaluate the species identified in the reservoir, the distribution of the individuals that make up the Rotifera fauna and physical-chemical parameters as a whole, it has been concluded that Kadıköy Reservoir is in meso-eutrophic character in terms of zooplankton.

REFERENCE

- Anonymous, 2016. Yerüstü Su Kalitesi Yönetmeliği. Resmi Gazete, 16 Ağustos 2016 Çarşamba, Sayı: 29779.
- Ayvaz M, Tenekecioğlu T, Koru E, 2011. Avşar Baraj Gölü'nün (Manisa-Türkiye) Trofik Statüsünün Belirlenmesi. Ekoloji, 20 (81): 37-47
- Bekleyen A, 2003. A taxonomical study on the zooplankton of Göksu Dam Lake (Diyarbakır). Turkish Journal of Zoology, 27: 95-100.
- Berzins B, Pejler B, 1987. Rotifer occurrence in relation to pH. Hydrobiologia, 147: 107-116.
- Bozkurt A, Sagat Y, 2008. Birecik Baraj Gölü Zooplanktonunun Vertikal dağılımı. Journal of Fisheries Sciences.com, 2 (3): 332-342.
- Bulut H, Saler S, 2014. Zooplankton of Beyhan Dam Lake (Elazığ- Turkey). Turkish Journal of Science & Technology, 9 (1): 23-28.
- Buyurgan Ö, Altındağ A, Kaya M, 2010. Zooplankton community structure of Asartepe Dam Lake (Ankara, Turkey). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 10: 135-138.
- De Manuel Barrabın J, 2000. The Rotifers of Spanish Reservoirs: Ecological, Systematical and Zoogeographical Remarks, Limnetica, 19: 91-167.
- Dirican S, Musul H, 2008. Çamlıgöze Baraj Gölü zooplankton faunası üzerine bir çalışma. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 12 (1): 17- 21.
- Edmondson W. T, 1959. Methods and Equipment in Freshwater biology 2nd ed. John Willey and Sons. Inc., NewYork, 420-1202.
- Erdoğan S, Güher H, 2012. The Rotifera Fauna of Turkish Thrace (Edirne, Tekirdağ, Kırklareli). Journal of Fisheries Sciences.com. 6 (2): 132-149.
- Geller W, Müller H, 1981. The filtration apparatus of Cladocera: filter mesh-sizes and their implications on food selectivity. Oecologia, 49: 316-321.
- Güher H, 2014. A Checklist for Zooplankton (Rotifera, Copepoda, Cladocera) of European Turkey Inland Waters. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 31(4): 221-225.
- Herzig A, 1987. The Analysis of Planktonic Rotifer Populations: a Plea for Long-Term Investigations. Hydrobiologia, 147: 163-180.

- Jackson DC, Schmitz E.H, 1987. Zooplankton abundance in vegetated and non-vegetated areas: Implications for Fisheries Management. *Process of South Association of Fish Wildlife Agent*. 41: 214-220.
- Kaya M, Altındağ, A, 2007. Zooplankton fauna and seasonal changes of Gelingüllü Dam Lake (Yozgat, Turkey). *Turkish Journal of Zoology*, 31: 347-351.
- Koste W, 1978. *Die Radertiere Mitteleuropas I.Tafelband*. Berlin, Studgart, 670 p.
- Krebs CJ, 1999. *Ecological Methodology*. Addison Wesley Longman, Inc., Menlo Park, California. 620 p.
- Mis DÖ, Aygen C, 2010. Buldan Baraj Gölü (Denizli) Planktonu ve Mevsimsel Değişimi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 27 (3): 113-120.
- Radwan S, 1984. The influence of some abiotic factors on the occurrence of rotifers of Leczna and Wladowa Lake District. *Hydrobiologia*. 112: 117-124.
- Rocha O, Matsumura-Tundisi T, Espindola, ELG, Roche KF, Rietzler AC, 1999. Ecological theory applied to reservoir zooplankton. p. 29-51. In: *Theoretical Reservoir Ecology and its Applications* (Eds. J.G. Tundisi, and M. Straskraba), International Institute of Ecology, Brazilian Academy of Sciences. Backhuys Publishers, Leiden, Holland.
- Ruttner-Kolisko A, 1974. *Plankton Rotifers Biology and Taxonomy*. Stuttgart: Biological Station Lunz of the Austrian Academy of Science.
- Ryding SO, Rast W, 1989. *The Control of Eutrophication of Lakes and Reservoirs*. Man Biosphere Series, Parthenon Publication Group, Vol 1, USA.
- Saler S, 2017. Diversity and abundance of zooplankton in Medik Reservoir of Turkey. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 11(02): 126-132.
- Saler S, Alish İN, 2014. Zooplankton of Hancağız Dam Lake (Gaziantep - Turkey). *Journal of Survey in Fisheries Science*, 1(1): 36-45.
- Sampaio EV, Rocha O, Matsumura-Tundisi T, Tundisi JG, 2002. Composition and abundance of zooplankton in the limnetic zone of seven reservoirs of the Paranapanema River. *Brazilian Journal of Biology*, 62: 525-545.
- Segers H, 2008. Global diversity of Rotifers (Rotifera) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 49-59.
- Sladeczek V, 1983. Rotifers as indicators of water quality. *Hydrobiologia*, 100: 169-201.
- Tuna A, Ustaoglu MR, 2016. Kemer Baraj Gölü (Aydın-Türkiye) zooplankton faunası. *Limnofish-Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2 (2): 95.
- Ustaoglu MR, Altındağ A, Kaya M, Akbulut N, Bozkurt A, Özdemir Mis D, Atasagun S, Erdoğan S, Bekleyen A, Saler S, Okgerman H C, 2012. A check list of Turkish Rotifers. *Turkish Journal of Zoology*, 36 (1): 607-622.
- Ustaoglu RM, 2004. Türkiye içsuları zooplankton kontrol listesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 21 (3-4): 191-199.
- Yıldız Ş, 2012. Zerneke-Baraj Gölü (Van/Türkiye) zooplankton faunası. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*. 5 (1): 57-59.

Production of Alkaline Enzymes by Marine Actinobacteria Isolated from Black Sea Sediments

Cengiz ÇORBACI^{1*}

Kadriye ÖZCAN¹

ABSTRACT: Alkaline enzymes obtained from microbial sources find numerous applications in different industrial processes and have commercial value. The aims of the study were to investigate the potential of two actinobacteria (*Streptomyces* sp. K16 and K19) isolated from Black Sea sediments to produce industrial alkaline enzymes and to characterize their activities under different chemical and physical conditions. The optimal incubation time for the production was determined as 96 h, and by using two actinobacteria respectively 7.91 and 7.94 U mL⁻¹ of activities for amylases, 0.55 and 0.82 U mL⁻¹ for lipases and 3.07 and 2.34 U mL⁻¹ for proteases were obtained. The optimal pH and temperature values for the enzymes were found to be pH 8.0 and 37°C. All the enzymes exhibited stability in different quantities after the incubation at pH values ranging from 3.0 and 10.0 for 2 h. On the other hand, the lipases remained stable up to 50°C although the amylases and proteases showed stability in varying ratios after 2 h incubation under the tested temperatures. In the light of the findings, the actinobacteria and their enzymes are thought to have potential for further studies.

Keywords: *Streptomyces* sp., amylase, lipase, protease, production, stability

Karadeniz Deniz Sedimentlerinden İzole Edilen Denizel Aktinobakteriler Tarafından Alkali Enzimlerin Üretimi

ÖZET: Mikrobiyal kaynaklardan elde edilen alkali enzimler, farklı endüstriyel süreçlerde pek çok uygulama bulmaktadırlar ve ticari değere sahiptirler. Bu çalışmada, Karadeniz sedimentlerinden izole edilen iki aktinobakterinin (*Streptomyces* sp. K16 ve K19) endüstriyel alkali enzimleri üretme potansiyellerinin incelenmesi ile farklı kimyasal ve fiziksel koşullar altında aktivitelerinin karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Üretim için optimum inkübasyon süresinin 96 saat olduğu bulunmuş ve bu iki aktinobakteri kullanılarak sırası ile amilazlar için 7.91 ve 7.94 U mL⁻¹, lipazlar için 0.55 ve 0.82 U mL⁻¹ ve proteazlar için 3.07 ve 2.34 U mL⁻¹ aktiviteler elde edilmiştir. Enzimler için optimum pH ve sıcaklık değerlerinin pH 8.0 ve 37°C olduğu bulunmuştur. Bütün enzimler, 3.0 ile 10.0 arasında değişen pH değerlerinde 2 saat inkübasyondan sonra değişen miktarlarda stabilite göstermişlerdir. Diğer taraftan, amilazlar ve proteazlar, denenen sıcaklık koşulları altında 2 saatlik inkübasyondan sonra değişen miktarlarda stabilite gösterirken lipazlar 50°C'ye kadar stabil kalabilmişlerdir. Bulgular ışığında, bu aktinobakteriler ve onların enzimlerinin, ileriki çalışmalar için potansiyele sahip oldukları düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Streptomyces* sp., amilaz, lipaz, proteaz, üretim, stabilite

¹ Kadriye ÖZCAN (Orcid ID: 0000-0002-4913-6035), Cengiz ÇORBACI (Orcid ID: 0000-0001-8697-0945), Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Giresun University, Giresun, Turkey

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Cengiz ÇORBACI, e-mail: cengiz.corbaci@giresun.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 03.10.2018
Kabul tarihi / Accepted: 23.11.2018

INTRODUCTION

Enzymes are proteins used in various industries, e.g., medicine, chemistry, biofuel, food, beverage and agriculture. These biological catalysts have gained importance due to their some features such as substrate specificity, minimum by-product formation and low cost. They are also biodegradable and non-toxic, and usually require moderate conditions to catalyze reactions and are alternatives to harmful chemical counterparts (Singh et al., 2016). Therefore, the demand for enzymes is increasing day by day worldwide. The market for industrial enzymes was priced at \$4.75 billion in 2016 and is predicted to rise at \$6.30 billion at the end of 2022 (Industrial Enzymes Market, 2018).

Microorganisms are sources of biotechnologically important metabolites owing to their technological advantages such as fast growth rate and easy availability (Gurung et al., 2013; Singh et al., 2016) and searching novel metabolites produced by these organisms is an existing subject for researchers. Among these metabolites, hydrolytic enzymes, especially alkaline ones capable of operating at alkaline conditions, are outstanding proteins and are used in a variety of applications such as the production of detergents, fuel alcohols, papers, fermented products, beverages, textile products, medicinal drugs and leather products (Gupta et al., 2002; de Souza and Magalhaes, 2010; Cherif et al., 2011).

Enzymes obtained from microbial sources are preferred to those obtained from plants or animals because their production is cheap, controllable and reliable (Arikan et al., 2003). However, in general, microorganisms cannot produce extracellular enzymes in sufficient quantities for industrial applications. Therefore, isolating novel microbial strains having the desired enzyme systems is an important task, and by optimizing their enzyme production

conditions it is possible to obtain commercial quantities of the final products.

Due to their above-mentioned importance, the production of industrial alkaline enzymes at high rates by a single microorganism is very important. Thus, in the present paper, we focused to investigate the production of extracellular alkaline enzymes (amylase, lipase and protease) by two actinobacterial strains previously obtained from sediments from Black Sea.

MATERIALS AND METHODS

Actinobacteria

Actinobacteria used in the present study were *Streptomyces* sp. strains K16 and K19 previously isolated in a study from Black Sea sediments (Özcan, 2013). The bacterial strains were genetically identified by using 16S ribosomal RNA (rRNA) sequencing and their NCBI accession numbers are KX674561.1 and KX674563.1, respectively. The strains were stored at +4°C on stock solutions of 20% glycerol throughout the study.

Growth Kinetics and Crude Enzyme Preparations

To investigate the effect of incubation time on the growth and enzyme production, 2.5 mL of actinobacteria obtained after growing 5 µL of spore stocks separately in production media at 28°C for 4 days on a rotary shaker were inoculated in 250 mL Erlenmeyer flasks containing 50 mL of liquid media buffered with phosphate buffer (pH 8.0). The extracellular production was performed respectively in starch medium [g L⁻¹: starch, 10.0; yeast extract, 3.0; peptone, 5.0; NaCl, 3.0 and MgSO₄, 0.5] (Deljou and Arezi 2016), tributyrin medium [g L⁻¹: tributyrin, 10.0; yeast extract, 5.0; peptone, 5.0, NaCl, 0.5; CaCl₂, 0.05 and Tween 80, 5.0] (Kumar et al., 2005) and protease medium [g L⁻¹: glucose, 10.0; yeast extract, 5.0; peptone, 5.0, KH₂PO₄, 1.0 and MgSO₄, 0.2] (Mehrotra et al., 1999) on a rotary shaker at 120 rpm and 28°C

for nine days. During the incubation, 5 mL of samples were withdrawn daily and centrifuged at 6000 rpm for 15 min. The pellets after the centrifugation were kept at 55°C until dried to constant weight, and dry weight was specified as biomass per liter of culture medium (g L^{-1}). The supernatants were used as crude enzyme sources.

Enzyme Assays

The amylase assay was performed by using the slightly modified method of Rick and Stegbauer (1974). 500 μL of the samples were incubated in Eppendorf tubes containing 500 μL of 1% soluble starch at 37°C for 15 min. Then, one mL of dinitrosalicylic acid reagent (DNS) was added to the tubes and the tubes were incubated in boiling water for 5 min. After cooling at room temperature, the mixtures were diluted up to ten mL with distilled water. The absorbances were determined at 546 nm using a spectrophotometer (Yalçın and Çorbacı, 2013). One unit of amylase was defined as the amount of enzyme that catalyzes the conversion of soluble starch to one μmol of maltose per mL per min under assay conditions.

The lipase activity was determined by using the slightly modified method of Rapp and Backhaus (1992). 750 μL of p-nitrophenyl palmitate (pNPP) solution and 500 μL of the samples were mixed in Eppendorf tubes and incubated at 37°C for 15 min. After the incubation, 100 μL of 1 M sodium carbonate (Na_2CO_3) solution was added, and the tubes were re-incubated at 37°C for 15 min. Then, the absorbances were determined at 415 nm using a spectrophotometer (Özcan and Çorbacı, 2017). One unit of lipase was defined as the amount of enzyme required to the conversion of one μmol of p-nitrophenol from pNPP per mL per min under assay conditions.

The protease activity was assayed according to the Sigma's universal protease assay method with minor modifications. 320 μL of the samples were added to Eppendorf tubes

containing 800 μL of 0.65% casein solution and the tubes were incubated at 37°C for 15 min. After the incubation, 800 μL of 0.11 M trichloroacetic acid (TCA) solution was added to the tubes, and the tubes re-incubated at 37°C for 30 min. The tubes were centrifuged at 8000 rpm for 10 min. 500 μL of filtrate, 1.25 mL of 0.5 M Na_2CO_3 solution and 250 μL of Folin-Ciocalteu reagent (1:4 dilution) were mixed in new tubes and further incubated at 37°C for 30 min. Then, the absorbances were determined at 655 nm using a spectrophotometer (Özcan and Çorbacı, 2017). One unit of protease was defined as the amount of enzyme that catalyzes the hydrolysis of casein to one μmol of tyrosine per mL per min under assay conditions.

In the determination of enzyme activities, blank solutions were incubation media in which actinobacteria were not inoculated.

Effect of pH on Enzyme Activity and Stability

To determine the optimal pH conditions, the substrates were dissolved in buffers at different pH values. For this purpose, 50 mM citrate-phosphate buffer (pH 5.0 and 6.0), 50 mM phosphate buffer (pH 7.0 and 8.0) and 50 mM glycine-NaOH buffer (pH 9.0 and 10.0) were used and the enzyme activities were determined as described above. To investigate the effect of pH on stability, pH values of the crude enzyme solutions were adjusted to values ranging from 3.0 to 10.0 with 0.2 M HCl or 1 M NaOH and the solutions were incubated at 37°C for 2 h.

Effect of Temperature on Enzyme Activity and Stability

To determine the optimal temperature conditions, the enzyme activities were evaluated at different temperatures (30, 37, 45, 50, 55 and 60°C) in substrate solutions dissolved in 50 mM phosphate buffer (pH 8.0) as described above. For the effect of temperature on stability, the crude enzymes were incubated at different temperatures (from 20 to 70°C) for 2 h.

Total Protein

The total protein contents of the samples were determined by Bradford method using bovine serum albumin (BSA) as a standard (Bradford, 1976).

Statistical Analysis

All experiments in the study were performed in triplicate and the results were given as the mean±standard deviation.

RESULTS AND DISCUSSION

Production of Alkaline Enzymes

One of the most successful approaches in the finding of novel enzymes is the screening of extracellular enzymes produced by microorganisms isolated from natural habitats. As mentioned earlier, we aimed to investigate the production of alkaline enzymes by two actinobacteria strains (*Streptomyces* sp. K16 and K19) isolated from Black Sea sediments. First, we surveyed separately the growth kinetics of the strains on the media used (data not shown) and observed that both strains showed similar kinetics in terms of the biomass yielded and the enzyme production on the media. Briefly, they passed to the stationary phase at the end of the 4th day and the enzyme activities reached the highest level. Then, the enzyme yields decreased gradually with increasing incubation time. In many studies, various researchers have reported similar results consistent with our findings (Aly et al., 2012; Akhtar et al., 2013); however, we also encountered different growth and

production kinetics for actinobacteria, which was due to the differences in species or strains studied.

The enzyme activities and the protein contents of the production media incubated with *Streptomyces* sp. K16 and K19 at 28°C for four days were summarized in Table 1. Both actinobacteria showed similar productions close to each other under the assay conditions. Comparing the findings with results from several studies, we observed that our strains are well producers, considering their production abilities of the enzymes studied. For instance, in a research conducted by Kumar et al. (2012), the authors aimed to screen actinomycetes for antimicrobial activity and industrial enzymes, and obtained forty-eight strains from earthworm castings. They screened them for the production of five enzymes including amylase, caseinase and lipase, and reported that only ten isolates produced all the enzymes studied. Thus, isolating organisms capable of producing several extracellular enzymes used for industrial purposes are of great importance.

pH and Temperature Characteristics of Enzymes

The hydrolysis of the substrates by the enzymes was determined at different pH conditions. As seen in figures, the enzymes showed their highest activity at pH 8.0 and apart from the value, the activities gradually decreased (Figure 1-3).

Table 1. Activities and total protein contents of crude enzyme solutions

Enzymes	<i>Streptomyces</i> sp. K16			<i>Streptomyces</i> sp. K19		
	Activity (U mL ⁻¹)	Total protein (mg mL ⁻¹)	Specific activity (U mg ⁻¹)	Activity (U mL ⁻¹)	Total protein (mg mL ⁻¹)	Specific activity (U mg ⁻¹)
Amylase	7.91±0.08	0.12±0.01	65.92±4.57	7.94±0.08	0.13±0.01	61.08±3.91
Lipase	0.55±0.03	0.08±0.00	6.88±0.41	0.82±0.04	0.06±0.00	13.67±0.61
Protease	3.07±0.04	0.11±0.01	27.91±2.12	2.34±0.02	0.11±0.01	21.27±1.61

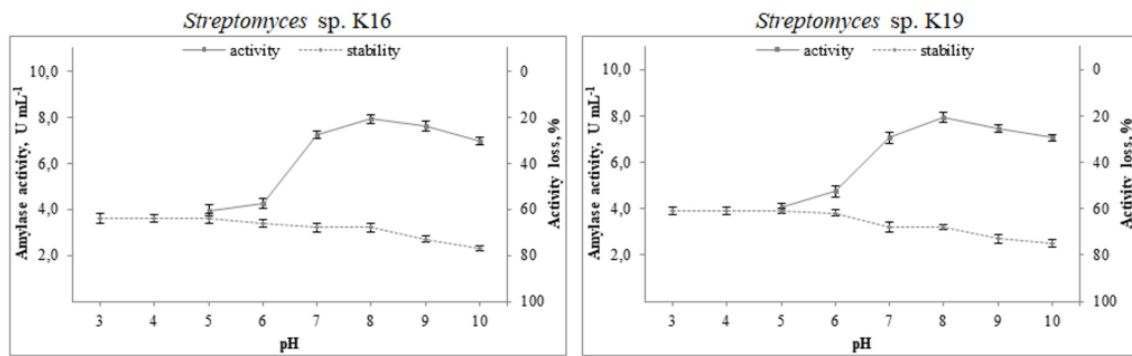


Figure 1. Effect of pH on amylase activity and stability (Bars represent standard errors of means, n=3)

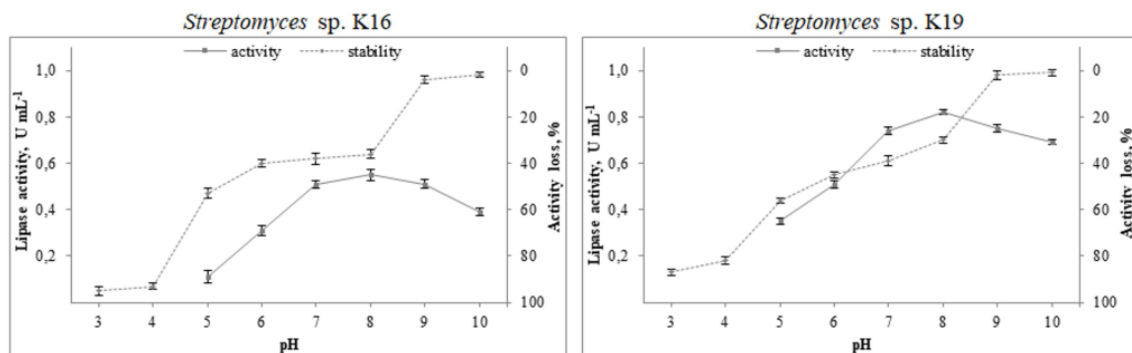


Figure 2. Effect of pH on lipase activity and stability (Bars represent standard errors of means, n=3)

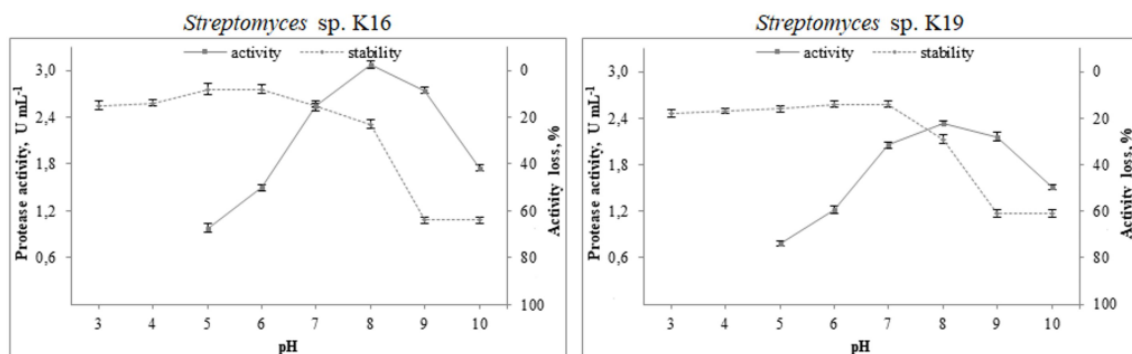


Figure 3. Effect of pH on protease activity and stability (Bars represent standard errors of means, n=3)

For pH stability, we adjusted the pHs of the crude enzyme solutions to values ranging from 3.0 to 10.0 with 0.2 M HCl and 1 M NaOH, and incubated the solutions at 37°C for 2 h. As seen in the figures, we found that the enzymes had different stability over a wide pH range of 3.0-10.0. The amylases showed their maximal stability under acidic and neutral pH values after the incubation for 2 h (Figure 1), and remained stable at approximately 20-30% under alkaline conditions (pH 8.0-10.0). On the other hand, the lipases retained almost all of their

activity (nearly 100% for pH 9.0 and 10.0) under alkaline pH values although they lost 90-95% under acidic conditions (Figure 2). In the proteases, they were stable (nearly 85-90%) at acidic and neutral pH values (Figure 3).

For determining temperature stability, we incubated the crude enzymes at different temperatures for 2 h (Figure 4-6) and found that the enzymes showed different thermostabilities. For the amylases, they gave nearly 100% of their activity at 20 and 30°C. The enzymes retained 20% at above 30°C, and completely inactivated

at 80°C. Thus, the amylase enzymes studied were found to be moderately temperature stable (Figure 4). For the lipases, *Streptomyces* sp. K16 lipase showed better results than that of *Streptomyces* sp. K19. While both lipases remained stable 60 and 100% of their activity at 20 and 30°C, the lipase from *Streptomyces* sp. K19 retained 43% after the incubation at 40°C for 2 h. Otherwise, the lipase from *Streptomyces*

sp. K16 gave 98% of its activity at 40°C. Interestingly, after the incubation at 50°C for 2 h, *Streptomyces* sp. K19 lipase showed a little activity at the rate of 7% (Figure 5). In the proteases, they were found to be moderately temperature stable. The enzymes respectively retained 23 and 29% of their activity after the incubation at 70°C for 2 h (Figure 6).

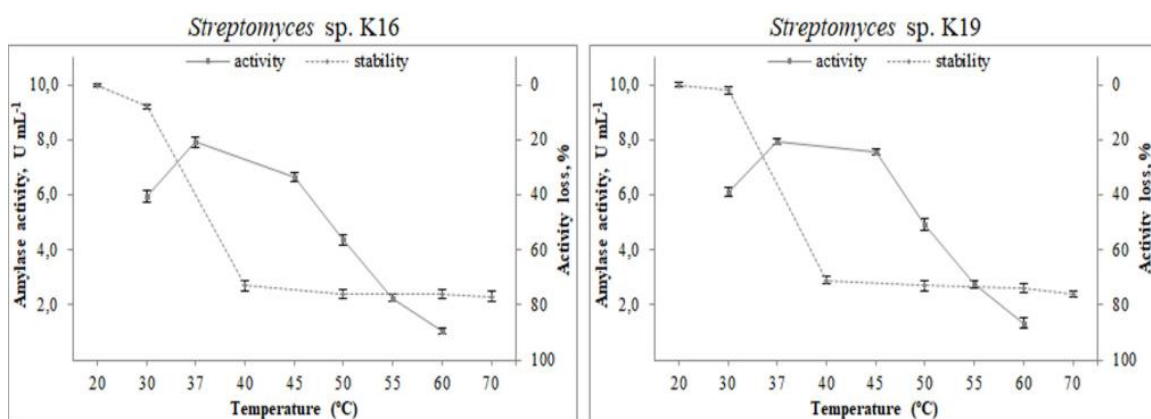


Figure 4. Effect of temperature on amylase activity and stability (Bars represent standard errors of means, n=3)

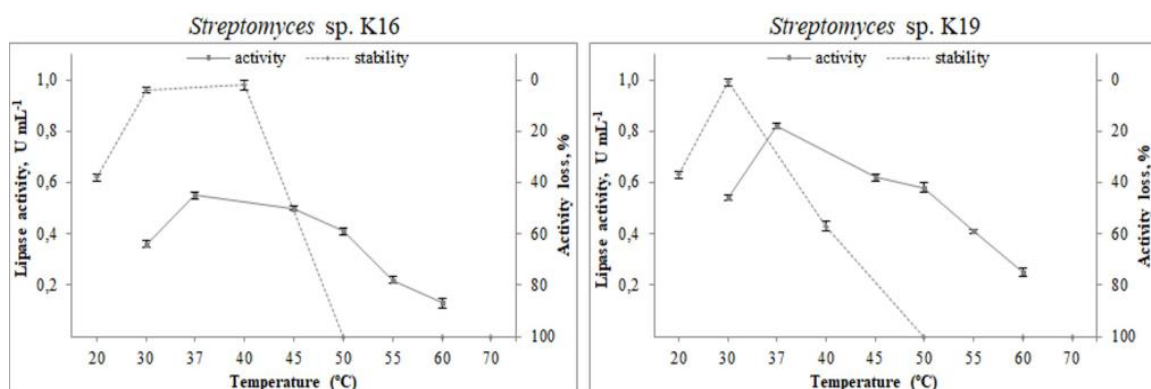


Figure 5. Effect of temperature on lipase activity and stability (Bars represent standard errors of means, n=3)

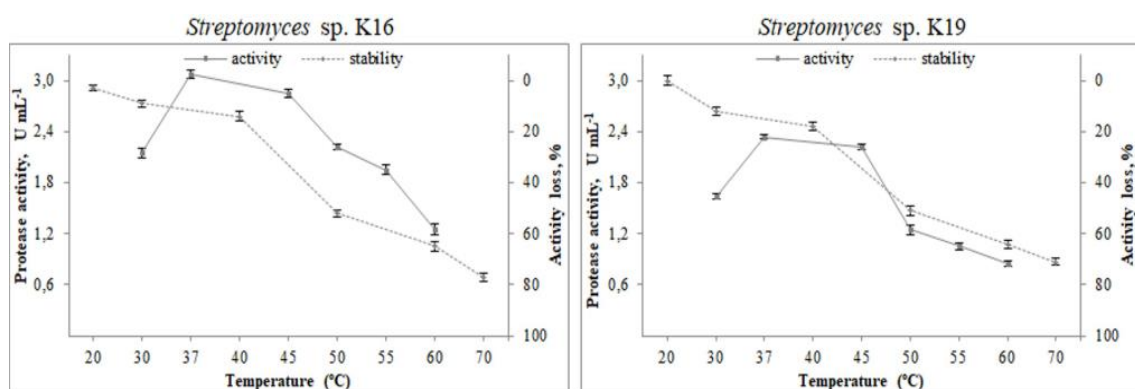


Figure 6. Effect of temperature on protease activity and stability (Bars represent standard errors of means, n=3)

By comparing the stability results with data in literature, we found that the enzymes studied in the study exhibited significant thermostability. For instance, Hoque et al. (2006) investigated the characterization of alpha-amylase activity of *Streptomyces clavifer*, and reported that the enzyme was stable at pH 6.0 to 8.0 and temperature up to 55°C. Apart from these values, the stability of the enzyme decreased sharply, especially for pH. In another study, Sharma et al. (2012) cloned and characterized a gene encoding extracellular lipase from metagenomic DNA extracted from hot spring soil. The authors revealed that the enzyme showed the highest activity at 50°C and pH 9.0. The enzyme remained stable from 20 to 50°C for 30 min, and retained 44% of its activity after the incubation at 55°C for 60 min. The activity also decreased to nearly 50% after 60 min incubation at pH 10.0 and room temperature. Besides, in a study conducted by Ghorbel et al. (2014), the authors studied the isolation and characterization of extracellular protease from *Streptomyces flavogriseus* HS1, and investigated its pH and thermal stability. Researchers indicated that the enzyme was stable more than 70% of its original activity between pH 5.0 and 9.0 at 25°C for 1 h. It was also found that the enzyme retained nearly 70% of its initial activity at 50°C and completely inactivated after the incubation for 1 h at 60°C.

CONCLUSION

In our study, two actinobacteria strains were investigated for the production of three enzymes (amylase, lipase and protease) used intensively in several industries. The enzymes have shown optimal activity at alkaline conditions and stable over a wide range of pH and temperature conditions. In this respect, it is thought that these organisms and their enzyme systems may have potential uses in industrial processes.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by the Scientific Research Unit of Giresun University (Project No: FEN-BAP-A-140316-79).

REFERENCES

- Akhtar N, Mahmud ASM, Khan MS, Taznin T, Haque ME, Sultana S, Sultana S, 2013. Effects of cultural conditions on the production of extracellular protease by *Streptomyces albolongus* and *Streptomyces aburaviensis*. *Enzyme Engineering*, 2(2): 1-5.
- Aly MM, Tork S, Al-Garni SM, Nawar L, 2012. Production of lipase from genetically improved *Streptomyces exfoliates* LP10 isolated from oil-contaminated soil. *African Journal of Microbiology Research*, 6(6): 1125-1137.
- Arikan B, Unaldi N, Coral G, Colak Ö, Aygan A, Gülnaz O, 2003. Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic, alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic *Bacillus* sp. isolate ANT-6. *Process Biochemistry*, 38(10): 1397-1403.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Cherif S, Mnif S, Hadrich F, Abdelkafi S, Sayadi S, 2011. A newly high alkaline lipase: an ideal choice for application in detergent formulations. *Lipids in Health and Disease*, 10: 221.
- Deljou A, Arezi I, 2016. Production of thermostable extracellular a-amylase by a moderate thermophilic *Bacillus licheniformis*-AZ2 isolated from Qinarje Hot spring (Ardebil prov. of Iran). *Periodicum Biologorum*, 118(4): 405-416.

- de Souza PM, Magalhaes PO, 2010. Application of microbial α -amylase in industry – a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4): 850-861.
- Ghorbel S, Kammoun M, Soltana H, Nasri M, Hmidet N, 2014. *Streptomyces flavogriseus* HS1: isolation and characterization of extracellular proteases and their compatibility with laundry detergents. *BioMed Research International*, 2014: 1-8.
- Gupta R, Beg QK, Lorenz P, 2002. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(1): 15-32.
- Gurung N, Ray S, Bose S, Rai V, 2013. A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. *BioMed Research International*, 2013: 1-18.
- Hoque M, Khanam M, Shiekh A, Nahar N, Khan MR, Khan ZUM, 2006. Characterization and optimization of α -amylase activity of *Streptomyces clavifer*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(7): 1328-1332.
- Industrial Enzymes Market, 2018. By type (amylases, cellulases, proteases, lipases, and phytases), application (food & beverages, cleaning agents, and animal feed), source (microorganism, plant, and animal), and region - global forecast to 2022, <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/industrial-enzymes-market-237327836.html> (Accessed Feb 8, 2018).
- Kumar S, Kikon K, Upadhyay A, Kanwar SS, Gupta R, 2005. Production, purification, and characterization of lipase from thermophilic and alkaliphilic *Bacillus coagulans* BTS-3. *Protein Expression and Purification*, 41: 38-44.
- Kumar V, Bharti A, Negi YK, Gusain O, Pandey P, Bisht GS, 2012. Screening of actinomycetes from earthworm castings for their antimicrobial activity and industrial enzymes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(1): 205-214.
- Mehrotra S, Pandey PK, Gaur R, Darmwal NS, 1999. The production of alkaline protease by a *Bacillus* species isolate. *Bioresource Technology*, 67: 201-203.
- Özcan K, 2013. Karadeniz deniz sedimentlerinden aktinomiset izolasyonu ve identifikasyonu. Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi.
- Özcan K, Çorbacı C, 2017. *Streptomyces* sp. K22 ve K30 suşlarından lipaz ve proteaz enzim üretimi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2): 128-135.
- Rapp P, Backhaus S, 1992. Formation of extracellular lipases by filamentous fungi, yeasts, and bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*, 14(11): 938-943.
- Rick W, Stegbauer HP, 1974. α -amylase measurement of reducing groups. In: Bergmeyer HU, ed., *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York, pp. 885-890.
- Sharma PK, Singh K, Singh R, Capalash N, Ali A, Mohammad O, Kaur J, 2012. Characterization of a thermostable lipase showing loss of secondary structure at ambient temperature. *Molecular Biology Reports*, 39(3): 2795-2804.
- Singh R, Kumar M, Mittal A, Mehta PK, 2016. Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6: 174.
- Yalçın HT, Çorbacı C, 2013. Isolation and characterization of amylase producing yeasts and improvement of amylase production. *Turkish Journal of Biochemistry*, 38(1): 101-108.

Bir Ekmeklik Buğday Çeşidinde (*Triticum aestivum* L. cv. Ceyhan 99) Krom Stresine Karşı Fulvik Asitin Etkileri

Adnan AKÇİN^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada ekmeklik buğdayda krom stresine karşı fulvik asitin (FA) fotosentetik pigment ve malondialdehid (MDA) içeriği üzerine etkileri araştırıldı. Bitki materyali olarak Amasya iline bağlı Suluova ilçesinde yetişen ekmeklik buğday çeşidi Ceyhan 99 kullanıldı. Buğday bitkileri çimlendikten sonra saksılara aktarılarak, laboratuvarında 18/6 saat ışık/karanlık rejimi altında yetiştirildi. Buğday fideleri iki gruba ayrılarak birinci gruba 0.10, 0.20, 0.30, 0.50 mM krom çözeltisi, ikinci gruba ise aynı konsantrasyonlarda krom çözeltisi ve 1.5 mg L⁻¹ FA çözeltisi uygulandı. Yapılan çalışmada krom stresi uygulamasına bağlı olarak klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid içeriğinde yalnızca krom uygulanan grupta, FA+krom uygulanan gruba göre azalma tespit edilmiştir. Buna karşın yalnızca krom uygulanan grupta, FA+krom uygulanan gruba göre Klorofil a b⁻¹ oranı ve MDA içeriğinde artış belirlenmiştir. Bu çalışma FA'nin buğday bitkilerinde krom stresine karşı önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen verilere göre, buğday bitkilerine FA uygulamasının kromun zararlı etkilerini azaltabileceği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Ağır metal, fotosentetik pigment, karotenoid, klorofil, malondialdehid

The Effects of Fulvic Acid Against on Chromium Stress in a Bread Wheat Variety (*Triticum aestivum* L. cv. Ceyhan 99)

ABSTRACT: In this study, effects of fulvic acid (FA) on photosynthetic pigment and malondialdehyde (MDA) content against chromium stress were investigated in Ceyhan 99, a bread wheat variety. As a plant material, a kind of bread wheat (Ceyhan 99) which is grown in Suluova, Amasya was used. After the wheat plants were germinated, they were transferred to a pot and grown under the light/dark regime for 18/6 hours at the laboratory. The wheat seedlings was divided into two groups and the first group was treated with 0.10, 0.20, 0.30, 0.50 mM chromium solution, the second group in the same concentrations with chromium solution and 1.5 mg L⁻¹ FA solution. In this study chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid content were found to be decreased in the chromium-treated group compared to FA + chromium treated group depending on the chromium stress application. However, only Chlorophyll a b⁻¹ ratio and MDA content were increased in chromium treated group compared to FA + chromium treated group. This study shows that FA has an important role against chromium stress in wheat plants. According to the obtained data, it was observed that the application of FA to wheat plants could reduce the harmful effects of chromium.

Keywords: Heavy metal, photosynthetic pigment, carotenoid, chlorophyll, malondialdehyde

¹ Adnan AKÇİN (Orcid ID: 0000-0001-7767-6613), Amasya Üniversitesi, Suluova Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Tohumculuk Programı, Suluova, Amasya, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Adnan AKÇİN, e-mail: adnanakcin@amasya.edu.tr

Bu çalışma Edirne XIII. Uluslararası Katılımlı Ekoloji ve Çevre Kongresinde sözlü sunum olarak sunulmuş ve kongre kitabında özet olarak basılmıştır.

GİRİŞ

Tarım arazilerinin ağır metaller ile kontaminasyonu dünya çapında önemli bir sorundur (Farid ve ark., 2013; Sharma ve Pandey, 2014). Ağır metaller içinde krom (Cr), mahsüllerde ciddi problemlere neden olmaktadır. Bu problem özellikle gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir. Kromun toprakta aşırı birikiminin başlıca nedeni antropojenik olup, bunlar madencilik, endüstriyel atıklar, atıksu arıtma çamuru, gübre ve pestisit kullanımınıdır. Doğal olaylara ise volkanik patlamalar ve hava şartları nedeniyle ana materyallerin parçalanması örnek olarak verilmektedir (Nagajyoti ve ark., 2010). Bitkilerde Cr toksisitesi için en önemli belirtiler, tohum çimlenmesi ve büyümenin azalması, enzimatik aktivitelerin engellenmesi, fotosentezin bozulması ve oksidatif dengesizliği kapsar. Bu olumsuz etkiler besin alımını etkiler, kökler zarar görür ve sonuçta bitkiler ölür (Ali ve ark., 2011a; Gill ve ark., 2015, Ertani ve ark., 2017).

Krom ağır metalinin trivalent olan kromik (Cr^{+3}) formu ve heksavalent olan kromat (Cr^{+6}) formu bitkiler için toksiktir. Hekzavalent krom, kromun en çok toksik olan formudur (Kimbrough ve ark., 1999). Vajpayee ve ark., (2001) krom stresine maruz kalan bitkilerde hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşarak lipitler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllerde oksidatif hasara sebep olabileceğini bildirmektedirler. Artan metal toksisitesine cevap olarak bitkiler ROT' lara karşı antioksidant ürünler üreterek kendi savunma mekanizmalarıyla karşı koyarlar (Ali ve ark., 2013). Bununla birlikte Cr stresi altında bitki büyümesi azalır ve bitki türlerine bağlı olarak bitkilerde fizyokimyasal ve yapısal değişiklikler tetiklenir (Ali ve ark., 2011b; Gill ve ark., 2015).

Değişik çalışmalar ağır metallerin bitkilerde klorofil içeriği üzerine olumsuz etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Krom

toksitesinin fotosentetik pigmentlerde ve antioksidant enzimlerin aktivitelerinde hasarlara neden olduğu bilinmektedir (Choudhury ve Panda, 2005; Ali ve ark., 2011c). Ayrıca ağır metaller, δ -levulinik asit dehidrogenaz ve protoklorofilid redüktaz enzimlerini inhibe ederek klorofil sentezinin enzimatik bir adımını doğrudan engellediği bildirilmektedir (Van Assche ve Clijsters, 1990). Ouzounidou (1995), ağır metallerin klorofil sentezini engellediğini bildirmektedir. Metallerin tilakoit zarlarla etkileşimiyle fonksiyonel ve yapısal hasarlar meydana gelmektedir (Krupa ve Bazynski, 1995).

Lipid peroksidasyonu, hücre membranı üzerinde ROT etkisiyle meydana gelir. Hücre membranı hasarına neden olan lipit peroksidasyonu birkaç reaksiyon basamağından sonra malondialdehide (MDA) dönüşür (Koyro, 2006). Bunun gibi sitotoksik aldehytlar DNA ve proteinlerde ciddi hasarlara yol açmaktadır. Sonuçta MDA varlığı, lipit peroksidasyon için bir indeks olarak kabul edilmekte ve yüksek miktarda MDA içeriği aşırı lipit peroksidasyonu olduğunu göstermektedir (Panda ve Choudhury, 2005). Karotenoidlerin, reaktif oksijen türleriyle reaksiyona girerek lipitlerin peroksidasyonunu engellediği bilinmektedir (Conn, 1991; Panda ve Choudhury, 2005).

Toprağın organik içeriğini, yapısının büyük bir kısmını humik ve fulvik asitin oluşturduğu humus maddesi oluşturur (Schnitzer, 1982). Humik maddeler organik maddenin temel bileşenidir ve çoğunlukla toplam organik maddenin %60 ile %70'ini teşkil etmektedir (Schnitzer ve Khan, 1972). Humik maddeler toprağın kimyasal ve biyolojik özelliklerini kontrol için verimli toprağın özelliklerinin anahtar bileşeni olarak bilinir (Nardi ve ark., 2005; Trevisan, 2009). Fulvik asit, humik asitten daha düşük moleküler ağırlığa sahip olmasına rağmen, daha yüksek oksijen oranına sahiptir (Wang ve ark., 2006).

Ülkemizde buğday üretimi tarımsal faaliyetlerin önemli bir kısmını kapsamaktadır. Çok sayıda farklı buğday çeşitleri Anadolu'da yaygın olarak yetiştirilmektedir. Buğday dünya çapında ana gıda maddesi olarak insanların temel enerji ve protein ihtiyacını karşılamaktadır. Ülkemizde ekili alanların %50'sini tahıllar, bu ekim alanlarının neredeyse %70'ini de buğday oluşturmaktadır (Güleç, 2010). Diğer ürünlerle karşılaştırıldığında buğdayın krom toksisitesine oldukça duyarlı olduğu bilinmektedir (Diwan ve ark., 2012). Dünyada artan nüfus nedeniyle buğday ihtiyacı her geçen gün artmaktadır. Bu talebi karşılamamanın bir yolu da, toksik metalleri kapsayan biyotik ve abiyotik çevresel streslere dayanıklı buğday çeşitlerinin yetiştirilmesidir (Ali ve ark., 2015).

Bu araştırmanın başlıca amacı, krom stresi şartlarında fulvik asit uygulamasının bir ekmeklik buğday çeşidi olan Ceyhan 99'da krom stresine karşı fulvik asitin fotosentetik pigment ve MDA içeriği üzerine etkilerinin belirlenmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali

Çalışmamızda bitki materyali olarak bir ekmeklik buğday olan *Triticum aestivum* L. cv. Ceyhan 99 çeşidi kullanılmıştır. Buğday bitkileri çimlendikten sonra içerisinde tarla toprağı: kum (1:1) karışımı bulunan saksılara aktarılmış ve bir iklimlendirme odasında 22 °C'de, 18/6 saat ışık/karanlık rejimi uygulanmıştır. Kontrol grubu dışında buğday fideleri iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruba 1.5 mg L⁻¹ FA yanında Cr, ikinci gruba yalnızca Cr ilave edilmiştir. Krom miktarları 0.10, 0.20, 0.30 ve 0.50 mM olarak uygulanmıştır. Bütün gruplara Hoagland besin çözeltisi eklenmiştir (Ali ve ark., 2015). Saksı denemelerine 28 gün süreyle devam edilmiştir.

Pigment İçeriği

Klorofil a, b, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı tayini için buğday bitkilerinin üst yapraklarından 200 mg alınarak 2 ml %100 aseton içinde ezilerek ekstre edilmiştir. Yönteme uygun olarak hazırlanan ekstraktların sırasıyla 654, 662, 652 ve 470 nm dalga boylarındaki maksimum absorpsiyon değerleri ışık spektrofotometresi (Termo Helios γ) ile ölçülmüştür. Pigment miktarları, Lichtenthaler ve Wellburn (1983) tarafından aşağıda verilen eşitliklerin kullanılmasıyla hesaplanmıştır.

Klorofil a (Kla)=(11.75XA₆₆₂-2.35XA₆₄₅)X10/200 mg TA
 Klorofil b (Klb)=(18.61XA₆₄₅-3.96XA₆₆₂)X10/200 mg TA
 Toplam klorofil=A652X27.8x10/200 mg TA
 Toplam karotenoid=(1000XA₄₇₀-2.27XKl a-81.4XKl b/227)X10/200 mg TA

Malondialdehid İçeriği

Buğday bitkisinin üst yapraklarından alınan 0,5 g yaprak parçaları Heath ve Packer (1968)'e göre işleme tabi tutulmuş ve sulu fazın absorbansları sırasıyla 450, 532 ve 600 nm de ışık spektrofotometresi (Termo Helios γ) ile ölçülmüştür.

Malondialdehid içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Konsantrasyon ($\mu\text{mol L}^{-1}$) = $6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$

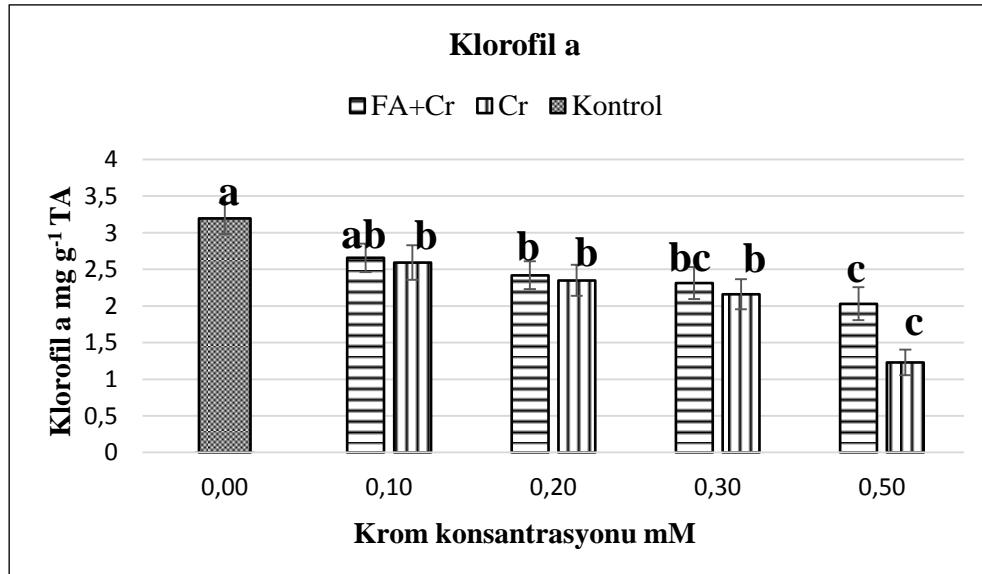
Sonuçların İstatistiksel Değerlendirilmesi

Çalışmada denemeler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Hesaplama kullanılan verilerin ortalaması; üç tekrarın ortalaması \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. Grafiklerde farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki farklılık, P<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir. Çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinde SPSS paket programı (versiyon 10.0) ile Tukey testi uygulanmıştır.

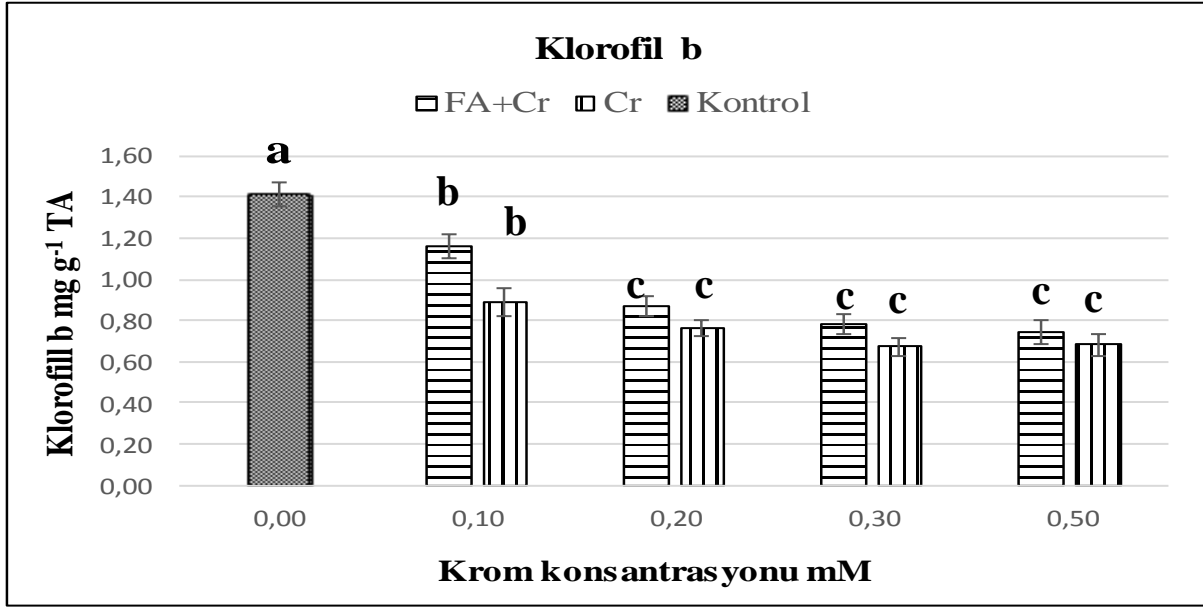
BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Ceyhan 99 ekmeklik buğday çeşidinde krom stresinin azaltılmasında FA' in etkisi araştırıldı. Fotosentetik pigmentlerde ve karotenoid içeriğinde FA uygulanmayan gruplarda önemli azalmalar tespit edildi. Bu durumu Verma ve Dubey, (2003) ağır metal stresinin, kloroplast ultra yapısını bozması, klorofil biyosentezini ve elektron transport sisteminde Calvin döngüsünde enzim aktivitelerinde azalma ile açıklamaktadır. Bununla birlikte fotosentezin zarar görmesi sonucu oluşan foto inhibisyon ve oksidasyon, geri dönüşlü veya geri dönüşümsüz olabilir (Kono ve Terashima, 2014). Fotosentezdeki pigment içerikleri yüksek metal varlığı ile azalır (Cambrollé ve ark., 2011). Düşük fotosentetik potansiyel, klorofil biyosentezini azaltan veya bozunmasını hızlandıran fazla metallerin

olumsuzluğundan kaynaklanabilir (Marques ve Nascimento, 2013). Çalışma sonunda elde edilen verilere göre Ceyhan 99 ekmeklik buğday çeşidinde krom konsantrasyonunun artışına bağlı olarak klorofil a değerleri kontrol grubuyla kıyaslandığında hem FA+Cr uygulanan grupta, hem de krom uygulanan grupta azalma göstermiştir. Bitkideki klorofil a konsantrasyonundaki azalma uygulanan krom konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak azalmış ve bu azalma yalnızca krom uygulanan grupta, FA+Cr uygulanan gruba göre daha fazla olmuştur. Bu azalma 0.5 mM konsantrasyonda daha dikkat çekicidir (Şekil 1). Sharma ve ark. (1995), buğday bitkilerine (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) krom uygulamasında, kontrol grubuna göre klorofil a seviyesinde azalma olduğunu belirtmiştir.



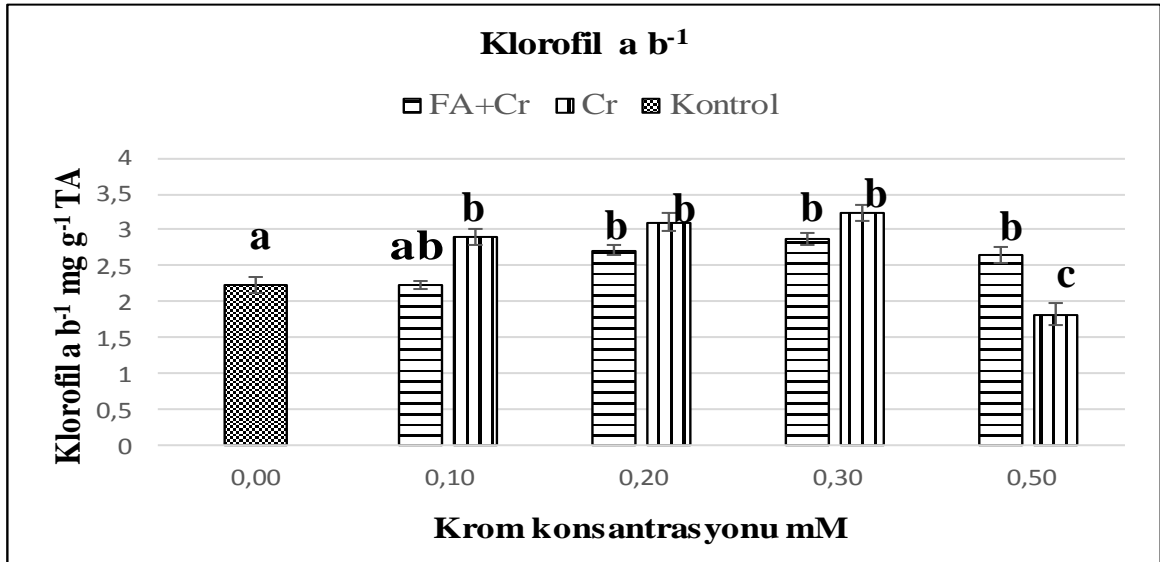
Şekil 1. Artan krom konsantrasyonunda FA+Cr ve Cr gruplarında klorofil a değişimi



Şekil 2. Artan krom konsantrasyonunda FA+Cr ve Cr gruplarında klorofil b değişimi

Lamhamdi ve ark. (2013)'da, buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Ahtar) ve ıspanakta (*Spinacia oleracea* L. var. Ge' ant d'hiver) kurşun ağır metali uygulamalarında, klorofil a

değerlerinde kontrol grubuna göre azalma tespit etmişlerdir. Çalışma sonucumuzda klorofil a değerlerinde krom uygulanan bütün gruplarda azalma olmuştur.



Şekil 3. Artan krom konsantrasyonunda FA+Cr ve Cr gruplarında klorofil a b⁻¹ değişimi

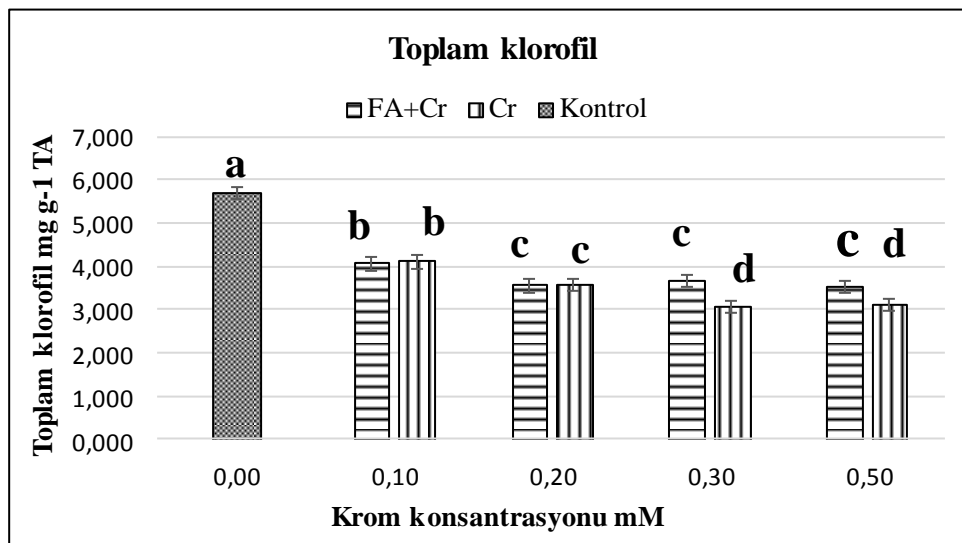
Çalışma sonunda elde edilen verilere göre Ceyhan 99 buğday çeşidinde klorofil b bakımından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında FA+Cr grubu ile Cr uygulanan grupta azalma olmuştur (Şekil 2). Artan krom uygulamasında klorofil b kontrol grubuna kıyasla 0.10 mM'da azalırken 0.20 ile 0.50 mM konsantrasyonlarda değişmemiştir. Sharma ve ark. (1995) krom uygulanan buğday (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) bitkilerinde klorofil b değerlerinde kontrol grubuna göre azalma olduğunu bildirmektedir. Çalışmamızda klorofil b'de meydana gelen azalma krom uygulanan bütün gruplarda meydana gelmiştir.

Krom stresi uygulamasına bağlı olarak, Ceyhan 99 çeşidinde klorofil a b⁻¹ oranının artış eğiliminde olduğu görülmektedir. Konsantrasyonun 0.50 olduğu grupta azalma göstermiştir (Şekil 3).

Krom konsantrasyonunun 0.50 mM olarak uygulandığı grupta, klorofil a b⁻¹ oranı azalmıştır. Bu azalma 0.50 mM krom uygulanan grupta klorofil a değerinin, klorofil b değerine göre daha fazla azalmasına bağlıdır. Klorofil b'nin klorofil a'ya göre daha fazla azaldığı gruplarda Klorofil a b⁻¹ oranı artmaktadır (Şekil

3). Zengin ve Munzuroğlu (2005) ise, ağır metallerin klorofil a b⁻¹ oranında artışa neden olduğunu ifade etmektedir. Kadmiyum uygulamasının ise, Bolal 2973 buğday çeşidinde klorofil a b⁻¹ oranında önemli bir artışa sebep olduğu, ancak artan kadmiyum seviyelerinin her iki buğday çeşidinde de kontrolle kıyaslandığında klorofil a b⁻¹ oranını azalttığı bildirilmiştir. Sagardoy ve ark. (2009), şekerpancarında (*Beta vulgaris* L.) çinko stresi uygulamasında klorofil a b⁻¹ oranında artış olduğunu, ancak en yüksek konsantrasyonda azalma eğilimi olduğunu bildirmektedirler. Sıcaklık faktörüne bağlı olarak, Gerek 79 buğday çeşidinde klorofil a b⁻¹ oranındaki değişimiyle ilgili bir çalışma yapan Öncel ve ark. (2000), yüksek sıcaklık uygulamasında klorofil a b⁻¹ oranında azalma tespit etmişlerdir.

Toplam klorofil içeriği, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında krom seviyesindeki artışa bağlı olarak azalma göstermektedir. FA+Cr ile yalnızca Cr uygulanan grup karşılaştırıldığında, toplam klorofil açısından azalmanın Cr grubunda daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 4).

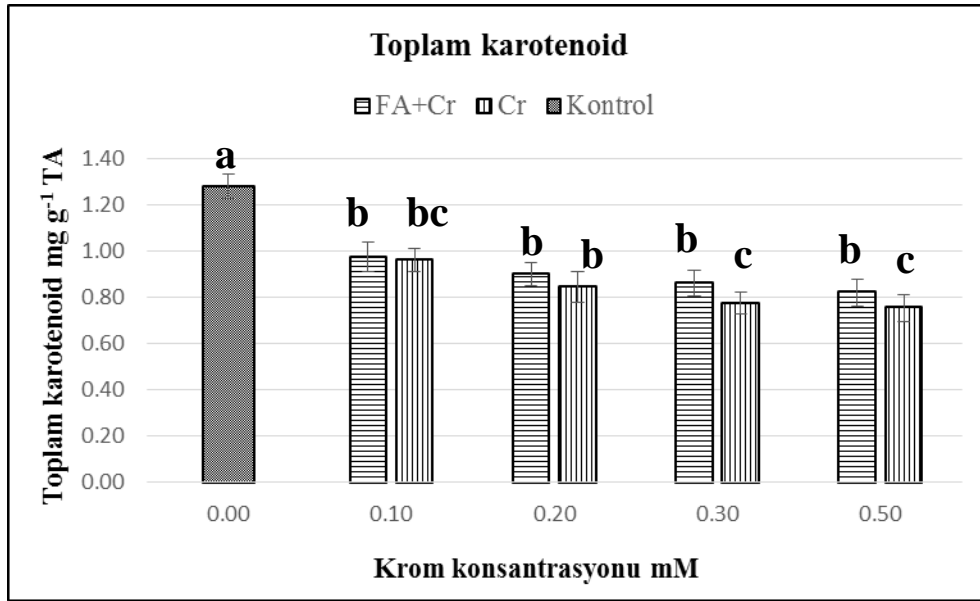


Şekil 4. Artan krom konsantrasyonunda FA+Cr ve Cr gruplarında toplam klorofil değişimi

Çalışmamızda toplam klorofil içeriği krom seviyesinin artışına bağlı olarak azalma göstermektedir. Ali ve ark. (2015), benzer şekilde buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkilerinde artan miktarlarda krom uygulamasına bağlı olarak toplam klorofilin de azaldığını rapor etmişlerdir. Chanatachon ve ark. (2002) yüksek kurşun seviyelerinde güve otunda (*Vetiver* sp.) toplam klorofil içeriğinde azalma olduğunu ifade etmişlerdir. Lamhamdi ve ark. (2013) buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkilerinde artan konsantrasyonlarda kurşun uygulamalarında toplam klorofil oranında

kontrol grubuna oranla azalma olduğunu bildirmektedirler.

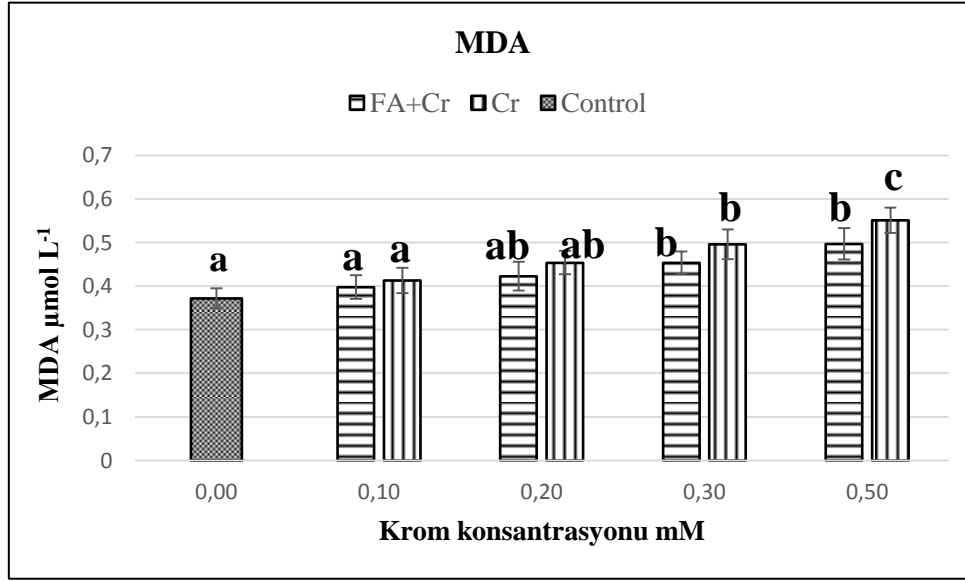
Klorofil-a, klorofil-b, toplam klorofil ve karotenoidlerde krom kaynaklı azalma iyi bilinmektedir (Mishra ve Tripathi, 2009; Sharma ve ark., 2016). Buğday bitkilerinde artan krom seviyelerine bağlı olarak krom uygulanan gruplar kontrolle karşılaştırıldığında toplam karotenoid miktarında azalma olmuştur. Yalnızca krom uygulanan grupta toplam karotenoid miktarı daha fazla azalma göstermiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Artan krom konsantrasyonunda FA+Cr ve Cr gruplarında toplam karotenoid değişimi

Çalışmada uygulanan krom miktarındaki artışla birlikte toplam karotenoid içeriğinde azalma olmuştur. Toplam karotenoid miktarı kontrolle kıyaslandığında FA+Cr grubuna göre yalnızca krom uygulanan grupta daha fazla azalma tespit edilmiştir. Sinha ve ark. (2005) *Spirodella polyrhiza* ve *Vallisneria spiralis* gibi sucul bitki türlerinde ve *Brassica juncea*'da düşük krom uygulamalarında toplam karotenoidlerin yükseldiğini buna karşın yüksek krom uygulamalarında ise azaldığını belirtmektedir. Nichols ve ark. (2000) kromun

Salvinia minima etkileri üzerine yaptıkları çalışmada karotenoidlerin içeriğinin önemli derecede azaldığını belirtmektedirler. FA uygulaması krom stresi altında Ceyhan 99 çeşidine klorofil ve karotenoid içeriğinin artması bakımından olumlu etki yapmıştır. Fotosentetik pigment içeriğinin artışı kromun bitki tarafından alınması ve taşınmasını azaltan FA uygulanmasına bağlı olabilir (Ali ve ark., 2018). Shahid ve ark. (2012), ROT üretiminde ve kloroplast hasarını önlemede, FA uygulamanın önemine dikkat çekmiştir.



Şekil 6. Artan krom konsantrasyonunda FA+Cr ve Cr gruplarında MDA değişimi

Krom, buğday yapraklarındaki membranlara oksidatif stresten kaynaklanan lipid peroksidasyon seviyesini arttırmıştır (Panda ve Chaudhury 2005). Bu çalışmada, Ceyhan 99 çeşidine uygulanan artan seviyelerdeki krom miktarıyla birlikte MDA içeriği kontrol grubuna göre artış göstermektedir. Bu artış FA+Cr grubuna göre, yalnızca krom uygulanan grupta daha yüksek olmuştur (Şekil 6). MDA'nın bu özelliği klorofil a b⁻¹ oranı ile benzerlik göstermektedir. Buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkilerinde kromun miktarına ve uygulama süresine bağlı olarak önemli derecede MDA içeriği artmaktadır (Subrahmanyam, 2008). Çinko Pedrezuela arpasında, krom metali ise Albares buğdayında kontrole oranla MDA içeriğinde artışa neden olmuştur (Gonzales ve ark., 2017). Çalışmamızda kontrole karşılaştırıldığında MDA içeriğinde artış görülmüştür. Bu artış FA+Cr uygulamasına oranla yalnızca krom uygulanan grupta daha fazladır.

SONUÇ

FA'nın kromun toksik etkilerinden klorofil pigmentlerini ve karotenoidleri koruduğunu söyleyebiliriz. Elde edilen verilere göre, bitkilerde FA gibi humik bileşiklerin lipid peroksidasyonu önlemenin yanı sıra, antioksidant enzimlerin aktivitelerini ve savunma kapasitelerini artırarak büyüme ve gelişmeyi teşvik ettiğini düşünmekteyiz.

Cr stresine karşı FA düşük konsantrasyonlarda etkili olmakta buna karşın konsantrasyon arttıkça metal stresini önlemede etkisi azalmaktadır. Toprağın önemli bileşenlerini oluşturan humik asit (HA) ve Fulvik asit (FA) gibi bileşenlerin uzun zaman süreçlerinde oluştuğu bilinciyle metal kirlenmesine ve erozyona karşı ciddi önlemler alınmalıdır. Aksi takdirde verimli ve sağlıklı ürünlerin maliyetleri ciddi boyutlara ulaşabilir.

KAYNAKLAR

- Ali S, Bai P, Zeng F, Cai S, Shamsi IH, Qiu B, Wua F, Zhanga G, 2011a. The ecotoxicological and interactive effects of chromium and aluminum on growth, oxidative damage and antioxidant enzymes on two barley genotypes differing in Al tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 70: 185-191.
- Ali S, Zeng F, Cai S, Qiu B, Zhang GP, 2011b. The interaction of salinity and chromium the influence of barley growth and oxidative stress. *Plant Soil Environment*, 57: 153-159.
- Ali S, Bai P, Zeng F, Cai S, Shamsi IH, Qiu B, Wu F, Zhang G, 2011c. The ecotoxicological and interactive effects of chromium and aluminum on growth, oxidative damage and antioxidant enzymes on two barley genotypes differing in Al tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 70: 185-191.
- Ali S, Farooq MA, Jahangir MM, Abbas F, Bharwana SA, Zhang GP, 2013. Effect of chromium and nitrogen form on photosynthesis and anti-oxidative system in barley. *Biologia Plantarum*, 57: 785-791.
- Ali S, Bharwana SA, Rizwan M, Farid M, Kanwal S, Ali Q, Khan MD, 2015. Fulvic acid mediates chromium (Cr) tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) through lowering of Cr uptake and improved antioxidant defense system. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14): 10601-10609.
- Ali E, Hussain N, Shamsi IH, Jabeen Z, Siddiqui MH, Jiang LX, 2018. Role of jasmonic acid in improving tolerance of rapeseed (*Brassica napus* L.) to Cd toxicity. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 19 (2): 130-146.
- Cambrollé J, Mateos-Naranjo E, Redondo-Gómez S, Luque T, Figueroa ME, 2011. Growth, reproductive and photosynthetic responses to copper in the yellow-horned poppy, *Glaucium flavum* Crantz. *Environmental and Experimental Botany*, 71:57-64.
- Chanatachon S, Kruatrachue M, Pokethitiyook P, Tantanararit S, Upatham S, Soontjornsarathool V, 2002. Phytoextraction of lead from contaminated soil by vetiver grass (*Vetiver* sp.). 17th World Congress of Soil Science, Paper no. 2308, Bangkok, August 14-21, 2002.
- Choudhury S, Panda SK, 2005. Toxic effect, oxidative stress and ultrastructural changes in moss *taxitheelium nepalense* (schwaegr.) broth. under lead and chromium toxicity. *Water Air & Soil Pollution*, 167: 73-90.
- Conn PF, Schalch W, Truscott G, 1991. The singlet oxygen and carotenoid interaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 11: 41-47.
- Diwan H, Ahmad A, Iqbal M, 2012. Characterization of chromium toxicity in food crops and their role in phytoremediation. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 3: 159.
- Ertani A, Mietto A, Borin M, Nardi S, 2017. Chromium in Agricultural Soils and Crops: A Review. *Water Air & Soil Pollution*, 228 (5) 190.
- Farid M, Ali S, Shakoor MB, Bharwana SA, Rizvi H, Ehsan S, Tauqeer HM, Iftikhar U, Hannan F, 2013. EDTA assisted phytoremediation of cadmium, lead and zinc. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4: 2833-2846.
- Gill RA, Zang L, Ali B, Farooq MA, Cui P, Yang S, Zhou W, 2015. Chromium-induced physiochemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. *Chemosphere*, 120:154-164.
- Gonzalez A, Gil-díaz MM, Pinilla P, Lobo MC, 2017. Impact of Cr and Zn on growth, biochemical and physiological parameters, and metal accumulation by wheat and barley plants. *Water Air Soil Pollution*, 228:419.
- Güleç TE, Sönmezoğlu ÖA, Yıldırım, A, 2010. Makarnalık buğdaylarda kalite ve kaliteyi etkileyen faktörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1): 113-120.

- Heath RL, Packer L, 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.
- Kimbrough DE, Cohen Y, Winer AM, Creelman L, Mabuni C, 1999. A Critical Assessment of Chromium in the Environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 29: 1-46.
- Kono M, Terashima I, 2014. Long-term and short-term responses of the photosynthetic electron transport to fluctuating light. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 137:89-99.
- Koyro HW, 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago cronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany*, 56: 136-146.
- Krupa Z, Bazyński T, 1995. Some aspects of heavy metal toxicity towards photosynthetic apparatus-direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 17: 177-190.
- Lamhamdi M, El Galiou O, Bakrim A, Novoa-Munoz JC, Arias-Est evez M, Aarab A, Lafont R, 2013. Effect of lead stress on mineral content and growth of wheat (*Triticum aestivum*) and spinach (*Spinacia oleracea*) seedlings. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20: 29-36.
- Lichtenthaler H, Wellburn AR, 1983. Determination of toplam carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transaction*, 603: 591-593.
- Marques MC, do Nascimento CWA, 2013. Analysis of chlorophyll fluorescence spectra for the monitoring of Cd toxicity in a bioenergy crop (*Jatropha curcas*). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 127:88-93
- Mishra VK, Tripathi B, 2009. Accumulation of chromium and zinc from aqueous solutions using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Hazardous Materials*, 164, 1059-1063.
- Nagajyoti PC, Lee KD, Sreekanth TVM, 2010. Heavy metals occurrence and toxicity for plants: a Review. *International Journal of Environmental Bioremediation, Biodegradation*, 8: 199-216.
- Nardi S, Pizzeghello D, Provenzano MR, Cilenti A, Sturaro A, Rella R, Vianello A, 2005. Chemical characteristics and biological activity of organic substances extracted from soils by root exudates. *Soil Science Society of America Journal*, 69: 2012-2019.
- Nichols PB, Couch JD, Al-Hamdani SH, 2000. Selected physiological responses of *Salvinia minima* to different chromium concentrations. *Aquatic Botany*, 68: 313-9.
- Ouzounidou G, 1995. Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion contents in a Cu-tolerant *Koeleria splendens*. *Biologia Plantarum*, 37: 71-79.
- Öncel I, Keleş Y, Üstün AS, 2000. Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. *Environmental Pollution*, 107: 315-320.
- Panda SK, Choudhury S, 2005. Chromium Stress in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 95-102.
- Sagardoy R, Morale F, Lopez-Millan AF, Abadia A, Abadia J, 2009. Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. *Plant Biology*, 11(3): 339-350.
- Schnitzer M, 1982. Organic Matter Characterization, 581-594. In: *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Micro-biological Properties* (Eds. A.L. Page, R.H. Miller & D.R. Keeney). Madison, 1143 pp.
- Shahid M, Duma C, Silvestre J, Pinelli E, 2012. Effect of fulvic acids on lead-induced oxidative stress to metal sensitive *Vicia faba* L. plant. *Biology and Fertility of Soils*, 48, 689-697.

- Sharma DC, Chatterjee C, Sharma CP, 1995. Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD2204) metabolism. *Plant Science*, 111:145–151.
- Sharma P, Pandey S, 2014. Status of phytoremediation in world scenario. *International Journal of Environmental Bioremediation, Biodegradation*, 2: 178–191.
- Sharma P, Kumar A, Bhardwaj R, 2016. Plant steroidal hormone epibrassinolide regulate-Heavy metal stress tolerance in *Oryza sativa* L. by modulating antioxidant defense expression. *Environmental and Experimental Botany*, 122, 1-9.
- Sinha S, Saxena R, Singh S, 2005. Chromium Induced Lipid Peroxidation in The Plants of *Pistia Stratiotes* L., Role of Antioxidants and Antioxidant Enzymes. *Chemosphere*, 58: 595-604.
- SPSS, 1999. *Statistical Package for the Social Sciences*, SPSS version 10.0. Chicago.
- Subrahmanyam D, 2008. Effects of chromium toxicity on leaf photosynthetic characteristics and oxidative changes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Photosynthetica*, 46 (3): 339-345.
- Trevisan S, Pizzeghello D, Ruperti B, Francioso O, Sassi A, Palme K, Quaggiotti S, Nardi S, 2009. Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxin-responsive IAA19 gene and DR5 synthetic element in *Arabidopsis*. *Plant Biology*, 12: 604-614.
- Vajpayee P, Rai UN, Ali MB, Tripathi RD, Yadav V, Sinha S, Singh SN, 2001. Chromium Induced Physiological Changes in *Vallisneria spiralis* L. and Its Role in Phytoremediation of Tannery Effluent. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67: 246-256.
- Van Assche F, Clijsters H, 1990. Effect of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environment*, 13: 195–206.
- Verma S, Dubey R, 2003, Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, 164:645–655.
- Wang G, Su MY, Chen YH, Lin FF, Luo D, Gao SF, 2006. Transfer characteristics of cadmium and lead from soil to the edible parts of six vegetable species in southeastern China. *Environmental Pollution*, 144(1): 127-35.
- Zengin KF, Munzuroğlu Ö, 2005. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.Strike) Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Bazı Ağır Metallerin (Ni⁺², Co⁺², Cr⁺³, Zn⁺²) Etkileri. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1): 164-172.

His-etiketli pro-Mikrobiyal Transglutaminaz Enziminin *Pichia pastoris*'te Üretim Şartlarının Optimizasyonu

Aysun TÜRKAN OĞLU ÖZÇELİK*

ÖZET: Transglutaminazlar doğada birçok organizmada bulunan ve çeşitli biyolojik işlemlerde rol alan enzimlerdir. Glutamin ve lizin aminoasitleri arasında kovalent bağ oluşumunu katalizleyerek çapraz bağ oluştururlar. Bu özelliklerinden dolayı gıda ürünlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini geliştirmek amacıyla kullanılırlar. Bu çalışmada, gıda endüstrisinde kullanılan mikrobiyal transglutaminaz (MTGaz) enziminin, *Pichia pastoris* (*P. pastoris*) mayasında yapısal GAP promotörü altında üretim şartlarının optimizasyonu yapılmıştır. Bu amaçla, üç farklı sıcaklık (20°C, 25°C, 28°C) ve üç farklı pH'dan (pH 3, 5.75, 7.44) oluşan dokuz farklı koşul altında pro-MTGaz enziminin üretimi çalkalamalı erlenmayerlerde yapılmıştır. 40 saatlik protein üretimi sonrasında elde edilen sonuçlar, pro-MTGaz üretimi için 25°C sıcaklık ve 7.44 pH'nın optimum koşullar olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: mikrobiyal transglutaminaz, rekombinant protein üretimi, *Pichia pastoris*

Optimization of Production Conditions of His-tagged pro-Microbial Transglutaminase Enzyme in *Pichia pastoris*

ABSTRACT: Transglutaminases are enzymes involved in various biological processes and found in many organisms in nature. They form a cross-link by catalyzing the formation of covalent bonds between the amino acids glutamine and lysine. Due to these properties, they are used to improve the physical and chemical properties of food products. In this study, the production conditions of microbial transglutaminase (MTGase) enzyme, used in the food industry, in *Pichia pastoris* (*P. pastoris*) yeast under the structural GAP promoter were optimized. For this purpose, the production of the pro-MTGase enzyme under nine different conditions consisting of three different temperatures (20°C, 25°C, 28°C) and three different pHs (pH 3, 5.75, 7.44) was carried out by shake flask experiments. The results obtained after 40 hours of protein production showed that; the optimum conditions were 25°C temperature and pH 7.44 for pro-MTGase production.

Keywords: microbial transglutaminase, recombinant protein production, *Pichia pastoris*

¹ Aysun TÜRKAN OĞLU ÖZÇELİK (Orcid ID: 0000-0003-2537-4220), Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, Antalya, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Aysun TÜRKAN OĞLU ÖZÇELİK, e-mail: aysunozcelik@akdeniz.edu.tr

GİRİŞ

Transglutaminazlar (EC 2.3.2.13) (TGaz) glutamin ve lizin aminoasitleri arasında izopeptid bağı oluşumunu katalizleyen enzimlerdir. Protein içi ya da proteinler arası çapraz bağ oluşumuyla proteinlerin fiziksel, kimyasal ve besinsel karakterizasyonlarında değişikliğe neden olan kompleks polimerler oluşturabilmektedirler. TGaz'lar hayvan dokuları (Beninati ve ark., 2009), bitkiler (Ickson ve Apelbaum, 1987) ya da mikroorganizmalardan (Yokoyama ve ark., 2004; Washizu ve ark., 1994) elde edilebilmektedir. Mikroorganizmalardan elde edilen enzim mikrobiyal transglutaminaz (MTGaz) olarak adlandırılmaktadır.

MTGaz'lar gıda endüstrisinde özellikle et, süt ve fırıncılık ürünlerinde kullanılmaktadırlar. Et endüstrisinde yeni ürün geliştirmek amacıyla MTGaz'lar birleştirici ajan olarak kullanılmalarının yanı sıra, elde edilen ürünün depolama esnasında stabil kalmasına yardımcı oldukları yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Moreno ve ark. 2010; Romero de Avilla ve ark., 2010). Bu enzimin süt ürünlerinde, özellikle yoğurt ve dondurmada istenilen bir özellik olan proteinlerin jel oluşturma ve su bağlama kapasitelerini arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Gauche ve ark., 2009; Rossa ve ark., 2012). Ayrıca fırıncılıkta, MTGaz'ın buğdaydaki glutenin proteinlerinin kimyasal ve fonksiyonel özelliklerini değiştirdiği böylece hamur gücünü ve ekmek hacmini geliştirdiği gösterilmiştir (Seravalli ve ark., 2011).

Deniz ürünleri işleme endüstrisi yapılan son çalışmalarla, MTGaz'ların yeni bir kullanım alanı olarak literatüre geçmiştir (Yerlikaya ve ark., 2015; Yerlikaya ve ark., 2017). MTGaz ilave edilen balık kıyması ile yapılan çalışmalarda, deniz ürününün kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerinin korunduğu raf ömrünün uzadığı bildirilmiştir.

Gıda endüstrisinde bu kadar çok alanda kullanımı olan; TGaz enzimi hayvan ya da bitki dokularından izole edilebilmektedir, ancak elde edilen enzim miktarı endüstriyel ihtiyacı karşılamak için yeterli olmamaktadır. Dolayısıyla, gelişen genetik mühendisliği teknikleriyle birlikte endüstriyel enzimlerin yüksek miktarlarda üretimi rekombinant DNA teknolojisi ile mümkün hale gelmiştir. Bu amaçla; bakteri ya da maya hücrelerinde rekombinant protein üretimi yapılabilmektedir. Dolayısıyla; bu çalışma kapsamında gıda endüstrisi için büyük bir öneme sahip bu enzimin metilotrofik bir maya olan *Pichia pastoris*'te yapısal GAP promotörü altında üretim koşulları optimize edilmiş ve sanayi ölçeğinde rekombinant MTGaz üretimi için endüstriyel olarak kullanılabilir bir suş ve büyük ölçekte üretim için veriler elde edilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kimyasallar ve enzimler

E. coli XL1-Blue ve *P. pastoris* suşları için besiyeri içerikleri Becton Dickinson (Franklin Lakes, NJ, ABD) firmasından temin edilmiştir. Restriksiyon enzimleri Fermentas (Fermentas, MD, ABD) ve Hot-start KOD DNA polimeraz enzimi Novagen (Darmstadt, Almanya) firmalarından alınmıştır. Çalışmada kullanılan bütün kimyasallar Sigma-Aldrich (MO, ABD'de)'ten satın alınmıştır.

Suşlar ve gelişme ortamları

E. coli XL1-Blue hücreleri plazmitin çoğalması amacıyla, *P. pastoris* X33 suşu ise rekombinant protein üretiminde konukçu organizma olarak kullanılmıştır. Plazmit içeren *E. coli* hücreleri 25 µg/mL zeosin antibiyotiği ihtiva eden LB lennox (%1 tripton, %0.5 maya özütü ve %0.5 sodyum klorit) besiyerinde geliştirilmiştir. *P. pastoris* hücreleri ise %1 maya özütü, %2 pepton ve %2 dekstroz içeren YPD sıvı besiyerinde ve %1.5 agar içeren YPD agar plakalarda geliştirilmiştir. YPD agar

plakalara transformant hücreleri seçebilmek için 100 µg/mL zeosin antibiyotiği eklenmiştir.

Ekspresyon vektörünün oluşturulması

pro-MTGaz enziminin ekspresyonu için *Streptomyces mobaraensis* gen kaynağı olarak seçilmiş ve pGAPZαA plazmiti kullanılmıştır. 1131 bç büyüklüğündeki pro-MTGaz kodlayan geni içeren plazmit ve pGAPZαA plazmiti *XhoI* ve *XbaI* enzimleriyle kesilerek ligasyon işlemi yapılmıştır. Yeni oluşan plazmit pGAPZα-proMTGaz olarak isimlendirilmiştir. Rekombinant plazmitin *E. coli* XL1-Blue hücrelerine transformasyonu yapılmış ve klonlanma DNA dizi analizi ile doğrulanmıştır.

P. pastoris hücrelerine transformasyon

Ekspresyon plazmiti *AvrII* restriksiyon enzimi ile lineer hale getirilmiş ve elektroporator (Eppendorf, Almanya) yardımıyla elektrokompotent *P. pastoris* X33 hücrelerine transformasyonu 1.5 Kv da yapılmıştır. Transformant hücreler 100 µg/mL zeosin içeren YPD agar plakalara ekilerek 30°C'de 3 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. YPD plakalarda oluşan tek kolonilerden 3 mL YPD sıvı besiyerine ekim yapılmış ve 2 mL'sinden genomik DNA izolasyonu, 1 mL'sinden ise stok kültür hazırlanarak -80°C'de saklanmıştır. İzole edilen genomik DNA pro-MTGaz geninin varlığının kontrolü için *PagI*, *EcoRI*, *EcoNI* ve *SmaI* restriksiyon enzimleriyle kesilmiş ve doğrulanan klonlar protein üretiminde kullanılmıştır.

Çalkalamalı erlenmayerde protein üretim çalışmaları

pGAPZα-proMTGaz ekspresyon kasetini genomunda bulduran klonlar öncelikle 3 mL YPD broth besiyeri içeren test tüplerinde 28 °C'de 220 rpm çalkalamalı inkübatörde gece boyu geliştirilmiştir. Ertesi gün OD₆₀₀ değerleri ölçülerek 30 mL BYED besiyerine (%3 maya özütü, %2 glukoz, %1.34 aminoasitsiz maya nitrojen baz, %4x10⁻⁵ biotin ve pH 3, 5.75 ve

7.44 için uygun tampon) 0.1 OD₆₀₀ olacak şekilde inoküle edilmiş ve 40 saat boyunca 220 rpm çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmışlardır. Bu esnada 3, 5.75 ve 7.44 pH'larda hazırlanmış BYED besiyerinde 20°C, 25°C ve 28°C'de hücreler geliştirilerek optimum üretim şartlarının belirlenebilmesi için protein ekspresyonu yapılmıştır. pH 3 için 1 M sitrik asit tamponu, pH 5.75 ve 7.44 için 1 M potasyum fosfat tamponu kullanılmıştır. 40 saat sonunda hücreler hasat edilerek, 6000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve hücrelerden ayrılan süpernatant filtre edilerek SDS-PAGE ve enzim aktivite analizi yapılanaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Histidin etiketli proteinin saflaştırılması

Çalkalamalı erlenmayerde üretilen pro-MTGaz enzimi 40. saat sonunda hasat edilip 6000 g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra 0.45 µm filtreden geçirilerek eşit hacimde 10 mM imidazol içeren equilibration tamponu ile karıştırılarak dengeye getirilmiştir. 1 mL Ni-NTA rezin 5 mL dengeye getirilmiş süpernatant örneğine eklenerek 30 dakika boyunca histidin etiketli proteinin rezine tutunması sağlanmıştır. Rezine birlikte süpernatant boş bir kolona yüklenmiş ve akan kısım bir tüpün içine toplanmıştır. Daha sonra kolon 25 mM imidazol içeren yıkama tamponu ile yıkanmış, ve elde edilen örnek tüp içine toplanmıştır. Sonra 200 mM imidazol içeren elüsyon tamponu ile rezinden geri alınmıştır. Tüm bu işlemler sırasında toplanan yıkama ve elüsyon fraksiyonları SDS - PAGE analizi ile kontrol edilmiştir.

SDS-PAGE analizi

Toplanan süpernatant örnekleri 4X SDS jel yükleme tamponu (200 mM Tris-Cl, pH 6.8, %8 SDS, %0.4 Bromphenol Blue, %40 gliserol, 100 mM DTT) ile karıştırılarak 70°C'de 10 dakika bekletilerek jelle yüklemeye hazır hale getirilmişlerdir. Hazırlanan örnekler %10'luk

gardient poliakrilamit jelinde ayrılmışlardır. Elektroforez işleminden sonra jel coomasie brillant blue R250 (Thermo Fisher Scientific, MA, ABD) kullanılarak 1 saat boyunca orbital çalkalayıcıda boyanmıştır. Boyanan jel daha sonra 1 saat boyunca destaining solüsyonuna alınarak fazla boyanın uzaklaştırılması sağlanmış ve 15 dakikada saf su ile yıkandıktan sonra Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR, Lincoln, NE, ABD) ile görüntülenmiştir.

Toplam protein ölçümü

Süpernatant örneklerinin toplam protein konsantrasyonu Bradford Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) kullanılarak protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Bovine serum albümin standart olarak kullanılmış ve absorbans değerleri 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunarak protein konsantrasyonları hesaplanmıştır.

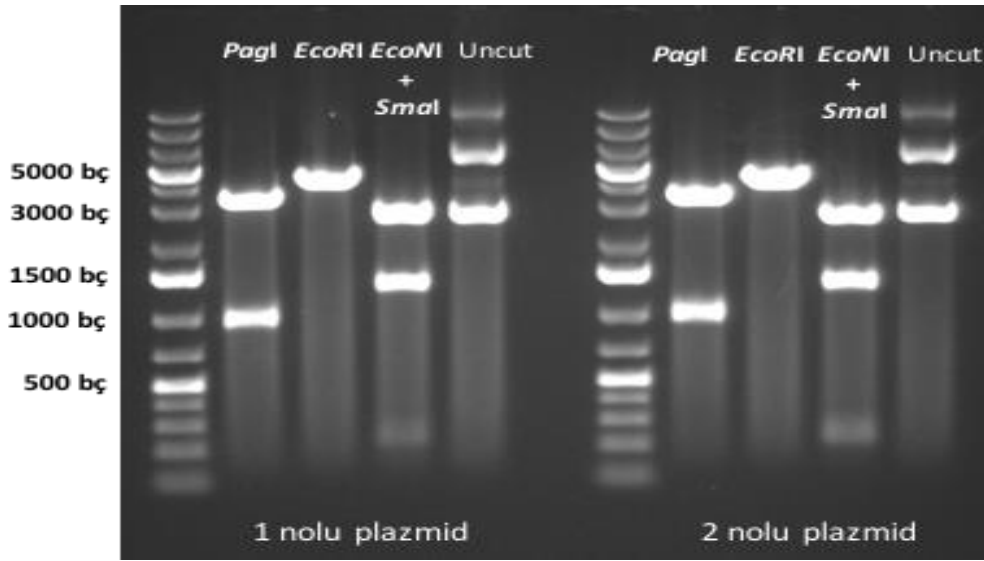
Transglutaminaz enzim aktivitesi ölçümü

Enzim aktivitesi ölçümünden önce, pro-MTGaz şeklinde üretilen enzimi aktif formuna dönüştürmek için DispazI adı verilen proteaz enzimi ile aktivasyon işlemi daha önce Sommer ve ark. (2012) tarafından tanımlanan metoda göre yapılmış ve MTGaz aktivitesi kolorimetrik hidroksimet metoduna göre spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Bu metoda göre Z-glutaminilglisin (Z-Gln-Gly), hidroksilamin ve L-glutamik asit- γ -monohidroksimet sırasıyla, amin alıcı substrat, amin verici substrat ve standart olarak kullanılmış ve 200 μ L reaksiyon karışımı (Z-Gln-Gly, 1 M Tris buffer pH 6 ve 200 mM hidroksilamin 20 mM reduced glutatyon) 37 °C'de bir müddet bekletilmiştir. Daha sonra, 30 μ L süpernatant örneği eklenerek 37 °C'de 10 dakika inkübe edilmiş ve 10 dakika sonunda, 1 mL durdurma solüsyonu eklenerek (1 hacim 3 M HCl, 1 hacim %12 TCA, 1 hacim %5 FeCl₃) MTGaz enziminin katalizlediği reaksiyon durdurulmuştur. Bu işlem yapıldıktan sonra reaksiyon karışımı 4000 g'de 5 dakika santrifüj

edilmiş ve karışım küvete alınarak 525 nm. dalga boyunda spektrofotometrede ölçümü yapılmıştır. Bu işlemler uygulanarak ölçümü yapılan örnekler test olarak adlandırılmıştır. Ayrıca test körü tüplerini hazırlamak için aynı şekilde reaksiyon karışımı ve süpernatant örneği karıştırılmış ancak 37 °C'de 10 dakika inkübe edilmeden reaksiyon durdurma solüsyonu eklenerek santrifüj edildikten sonra hemen spektrofotometrede ölçümü yapılmıştır. Standart tüplerine ise, 1-10 mM aralığında değişen konsantrasyonlarda 100 μ L L-glutamik asit - γ -monohidroksimet solüsyonu eklendikten sonra inkübasyon yapılmadan 1 mL durdurma solüsyonu eklenerek santrifüj edilip ölçümü yapılmıştır. Standart körü hazırlamak için standart solüsyonu yerine 100 μ L saf su konulmuştur. 1 ünite enzim aktivitesi verilen koşullar altında dakikada oluşan 1 μ mol hidroksimet olarak tanımlanmış ve enzim aktivitesi U/mL olarak ifade edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

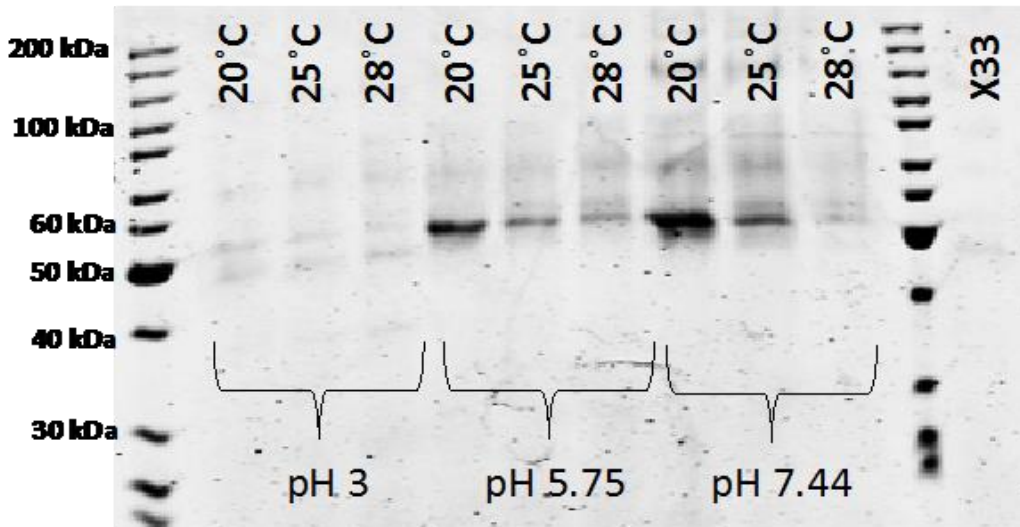
pGAPZ α -proMTGaz ekspresyon kasetini içeren plazmitlerin yetenekli *P. pastoris* X33 hücrelerine transformasyonları elektroporasyon yöntemiyle yapıldıktan sonra hücreler YPD agar plakalarda geliştirilmiş ve oluşan kolonilerden plazmit izolasyonu yapılarak restriksiyon enzimleriyle kesilmiş ve transformant hücreler doğrulanmıştır. Restriksiyon analizi için *PagI*, *EcoRI*, *EcoNI* ve *SmaI* enzimleri kullanılmış ve *PagI* ile DNA'nın kesilmesi sonucunda 943 ve 3305 bp, *EcoRI* ile 4248 bp ve *EcoNI* ve *SmaI* enzimleri ile aynı anda kesilmesi sonucunda ise 229, 1321 ve 2698 bp'den oluşan fragmentlerin jelde görülmesi hedeflenmiştir. Yapılan restriksiyon analizi sonucunda beklenen fragmentler elde edilerek, plazmitlerin pro-MTGaz genini taşıdığı doğrulanmış (Şekil 1) ve 1 nolu klon seçilerek üretim çalışmaları yapılmıştır.



Şekil 1: Restriksiyon enzimleriyle kesimleme sonrası agaroz jel elektroforezi görüntüsü.

Çalkalamalı erlenmayerde yapılan protein ekspresyonu çalışmalarında üç farklı pH ve üç farklı sıcaklıktan oluşan 9 farklı şart denenmiş ve 40 saat süren üretim çalışması sonunda hücre kültürleri hasat edilerek SDS-PAGE (Şekil 2) ve enzim aktivitesi (Çizelge 1) analizleri yapılmıştır. Ancak üretilen enzim inaktif pro-MTGaz formunda olduğu için öncelikle

süpernatant örneklerine dispazI enzimi ile muamele edilerek aktif MTGaz enzimi elde edilmiş daha sonra aktiviteleri ölçülmüştür. Yapılan SDS-PAGE analizi sonuçlarına göre; pH 3'te bütün sıcaklıklarda protein üretiminin oldukça az olduğu görülmektedir. Ayrıca pH 3 koşullarında yapılan üretimlerden elde edilen örneklerde enzim aktivitesi tespit edilememiştir.



Şekil 2: SDS-PAGE analizi jel görüntüsü. pH 3, 5.75 ve 7.44 BYED besiyeri kullanılarak 20, 25 ve 28°C sıcaklıklarda protein üretimi yapılarak 40. saat sonunda elde edilen süpernatant örnekleri SDS-PAGE ile analiz edilmiştir. Yaklaşık 50 kDa büyüklüğünde pro-MTGaz enziminin üretildiği görülmektedir. Negatif kontrol olarak kullanılan X33 hücresinin süpernatant örneğinde ise herhangi bir bant görülmemektedir.

Ancak, hem enzim aktivitesi hem de SDS-PAGE analizi sonuçları pro-MTGaz enziminin üretimi için en uygun koşulların pH 7.44 ve 25°C sıcaklık olduğunu göstermiştir. Bu şartlar

altında çalkalamalı erlenmayerde en yüksek enzim aktivitesi 14.34 U/mL olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 1: Farklı pH ve sıcaklıklarda yapılan protein üretiminden elde edilen enzim aktivitesi sonuçları.

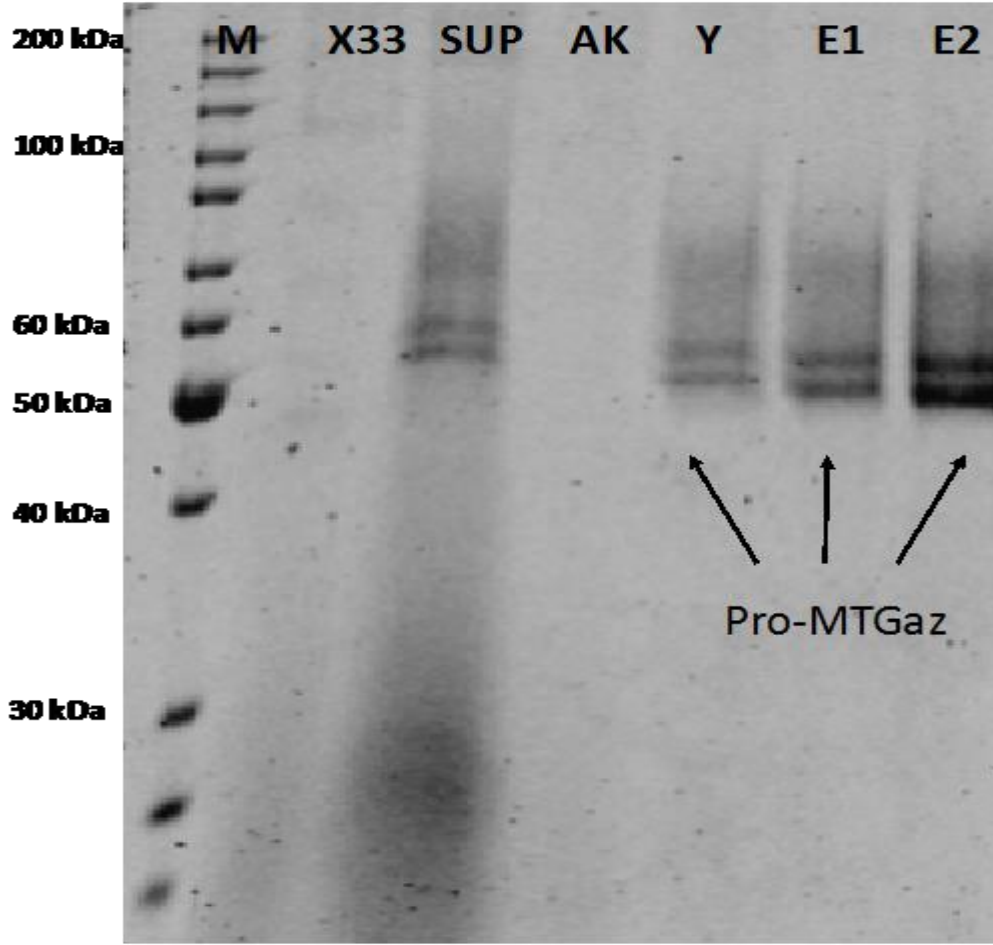
pH	Enzim aktivitesi (U/mL)		
	Sıcaklık		
	20°C	25°C	28°C
3	ND	ND	ND
5.75	7.72±0	7.81±0	6.33±0.11
7.44	10.39±0.17	14.34±2.96	7.60±0.41

ND: Belirlenemedi. Aktiviteler duplike olarak ölçülmüştür.

40. saat sonunda en yüksek protein ve enzim aktivitesi elde edilen supernatan örneği Ni-NTA rezin kullanılarak saflaştırılmış ve SDS-PAGE ile analiz edilmiştir (Şekil 3). Üretilen protein saflaştırmada kolaylık sağlaması açısından C-terminal ucunda 8 adet Histidin taşımaktadır. Bu etiket sayesinde protein Ni-NTA rezine kolaylıkla tutunabilmekte ve böylece saf protein elde edilebilmektedir. Şekil 3'de görüldüğü üzere iki kez yapılan elüsyon sonrasında protein saf bir şekilde elde edilmiştir.

Pichia pastoris'te rekombinant transglutaminaz enzimi üretmek için mısır (*zea mays*) bitkisinin transglutaminaz gen kaynağı olarak kullanıldığı çalışmanın yanı sıra (Li ve ark., 2013) mikrobiyal gen kaynakları kullanılarak yapılan çalışmalar da literatürde mevcuttur (Yurimoto ve ark., 2004; Gündüz, 2012). Yurimoto ve ark., (2004) yaptıkları çalışmada pro-MTGaz enzimini metanol ile

indüklenen *AOX1* promotörü kontrolünde üretmeye çalışmışlar ancak rekombinant *P. pastoris* hücrelerinde çok düşük enzim aktivitesi elde ettiklerini rapor etmişler ve bunun sebebini yüksek oranda glikolizasyona bağlamışlardır. Gündüz (2012) tarafından yapılan çalışmada ise; yine aynı promotör altında 4448 U/L enzim üretimi gerçekleştirilmiştir. Fakat, *GAP* promotörü kullanılarak yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre 14340 U/L enzim aktivitesi çalkalamalı erlenmayer koşullarında elde edilmiştir. Bu sonuç ile literatürdeki diğer çalışmaların üretmiş oldukları enzim miktarının üstüne çıkıldığı görülmektedir. Ayrıca, ileride yapılacak olan biyoreaktörde büyük ölçekli üretim için sıcaklık 25°C ve pH 7.44 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, optimize edilen koşullar altında biyoreaktörde üretim yapılarak daha yüksek miktarlarda enzim üretimi yapılabileceğini göstermektedir.



Şekil 3: pro-MTGaz enziminin his-taq saflaştırması sonrası SDS-PAGE analizi jel görüntüsü. M: Page ruler unstained protein marker, X33: negatif kontrol olarak kullanılan hedef gen içermeyen *Pichia pastoris* suşu, SUP: 40. Saat sonunda hasat edilen kültürün süpernatant kısmı, AK: akan kısım, Y: yıkama, E1: 1. elüsyon, E2: 2. elüsyon.

SONUÇ

Mikrobiyal transglutaminaz enzimi gıda endüstrisinde kullanım alanı olan bir enzimdir. Endüstriyel ihtiyacı karşılamak için, rekombinant protein üretimi yapılarak yüksek miktarlarda enzim elde etmek mümkündür. Metilotrofik bir maya olan *P. pastoris* rekombinant protein üretiminde sıkça kullanılan başarılı bir ekspresyon sistemidir. Metanol ile indüklenebilir *AOX1* promotorunun dışında yapısal *GAP* promotoru da protein ekspresyonu çalışmalarında kullanılabilir. Endüstriyel boyutta rekombinant protein üretiminde *AOX1* promotoru metanol ile indüklenmesinden dolayı yangın tehlikesi söz konusu olduğu için tercih edilmemektedir. Bu gibi durumlarda *GAP*

promotoru iyi bir alternatif olmaktadır. Bu çalışmada, histidin etiketli pro-MTGaz enziminin *P. pastoris*'te yapısal *GAP* promotoru altında rekombinant üretimi için optimum sıcaklık ve pH koşulları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, 25°C sıcaklık ve 7.44 pH koşulları altında *GAP* promotorunun pro-MTGaz üretimi için *AOX1*'dan daha başarılı bir promotor olduğunu göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FBA-2017-2474 proje numarasıyla desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Beninati S, Bergamini CM, Piacentini S, 2009. An overview of the first 50 years of transglutaminase research. *Amino Acids*, 36(4): 591-598.
- Gauche C, Tomazi T, Barreto PLM, Ogliari PJ, 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1): 239-243.
- Gündüz B, 2012. Recombinant transglutaminase production by metabolically engineered *Pichia pastoris*. MSc Thesis, Middle East Technical University, Ankara, Turkey.
- Icekson I, Apelbaum A, 1987. Evidence for transglutaminase activity in plant tissue. *Plant Physiology*, 84: 972-974.
- Li H, Zhang L, Cui Y, Luo X, Xue C, Wang S, 2013. Expression of soluble recombinant transglutaminase from *Zea mays* in *Pichia pastoris*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29:939-947.
- Moreno HM, Carballo J, Borderias AJ, 2010. Use of microbial transglutaminase and sodium alginate in the preparation of restructured fish models using cold gelation: Effect of frozen storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 394-400.
- Romero de A, Ordonez JA, Hoz L, Herrero AM, Cambero MI, 2010. Microbial transglutaminase for cold-set binding of unsalted/salted pork models and restructured dry ham. *Meat Science*, 84: 747-754.
- Rossa NP, Burin VM, Bordignon-Luiz MT, 2012. Effect of microbial transglutaminase on functional and rheological properties of ice cream with different fat contents. *LWT - Food Science and Technology*, 48: 224-230.
- Seravalli EAG, Iguti AM, Santana IA, Filho FF, 2011. Effects of application of transglutaminase in wheat proteins during the production of bread. *Procedia Food Science*, 1: 935-942.
- Sommer C, Hertel TC, Schmelzer CEH, Pietzsch M, 2012. Investigations on the activation of recombinant microbial pro-transglutaminase: in contrast to proteinase K, dispase removes the histidine-taq. *Amino acids*, 42: 997-1006.
- Washizu K, Ando K, Koikeda S, Hirose S, Matsuura A, Takagi H, Motoki M, Takeuchi K, 1994. Molecular cloning of the gene for microbial transglutaminase from *Streptovercillium* and its expression in *Streptomyces lividans*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 58(1): 82-87.
- Yerlikaya P, Gokoglu N, Ucak İ, Yatmaz HA, Benjakul S, 2015. Suppression of the formation of biogenic amines in mackerel mince by microbial transglutaminase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95: 2215-2221.
- Yerlikaya P, Yatmaz HA, Gokoglu N, Ucak İ, 2017. The quality alterations of rainbow trout mince treated with transglutaminase. *LWT-Food Science and Technology*, 84: 815-820.
- Yokoyama K, Nio N, Kikuchi Y, 2004. Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(4): 447-454.
- Yurimoto H, Yamane M, Kikuchi Y, Matsui H, Kato N, Sakai Y, 2004. The Pro-peptide of *Streptomyces mobaraensis* Transglutaminase Functions in cis and in trans to Mediate Efficient Secretion of Active Enzyme from Methylophilic Yeasts. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68(10): 2058-2069.

Morphological and Anatomical Observations on Seeds of Some *Iris* L. Taxa from Turkey

Mehmet Cengiz KARAİSMAİLOĞLU^{1*}

ABSTRACT: This study includes on the taxonomic evaluation of morphological and anatomical features of seeds belonging to *Iris* taxa, which are *I. suaveolens*, *I. sintenisii*, *I. foetidissima* and *I. germanica* scattered in Turkey. Morphological features like dimension, shape, colour, and surface ornamentation types of seeds have studied by light and scanning electron microscopes. The structure and thicknesses of testa and parenchyma layers in seeds have examined anatomically. The obtained results show that the color, shape, testa structure and thickness of the seeds of the examined taxa are different in some respects. Furthermore, the surface ornamentations are somewhat diverse for the studied taxa at the interspecific level. As a result, it has been determined that the examined morphological and anatomical characteristics of the seeds show variations with some exceptions, and this situation has a taxonomic importance.

Keywords: Anatomy, Morphology, SEM, Seed, Turkey

Türkiye'den Bazı *Iris* L. Taksonlarının Tohumları Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Gözlemler

ÖZET: Bu çalışma Türkiye'de dağılım gösteren bazı *Iris* taksonlarına ait (*I. suaveolens*, *I. sintenisii*, *I. foetidissima* ve *I. germanica*) tohumların morfolojik ve anatomik özelliklerinin taksonomik değerlendirmesini içerir. Tohumların boyutu, şekli, rengi ve yüzey ornamentasyonları ışık ve taramalı elektron mikroskopu ile çalışılmıştır. Testa ve parankima tabakalarının yapı ve kalınlığı anatomik olarak incelenmiştir. Elde edilen bulgular, incelenen taksonlara ait tohumların renk, şekil, testa yapısı ve kalınlığına ait özelliklerin bazı açılardan farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, yüzey ornamentasyonları türler arası seviyede incelenilen taksonlar için kısmen farklıdır. Sonuç olarak, incelenen tohum morfolojik ve anatomik karakterlerinin bazı istisnalar ile varyasyonlar gösterdiği ve bu durumun taksonomik öneme sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Anatomi, Morfoloji, SEM, Tohum, Türkiye

¹Mehmet Cengiz KARAİSMAİLOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-6856-2742), , Siirt University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Siirt, Turkey

*Sorumlu yazar/Corresponding Author: Mehmet Cengiz Karaismailoğlu, e-mail: cengiz.karaismailoglu@siirt.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 11.10.2018
Kabul tarihi / Accepted: 26.12.2018

INTRODUCTION

Iris L. (Iridaceae), which has extensively dispersed through the Northern Temperate Area, includes over 300 taxa of flowering plants with attractive flowers mentioning to the extensive diversity of flower colors found in the various species (Jaenicke and Marnier, 1990; Baser et al., 2011). Taxonomical researches on *Iris* genus in Turkey has been performed by Mathew (1989). According to this researcher, genus included circa 44 taxa in four subgenera as *Limniris* Spach, *Iris* L, *Hermadactyloides* Spach and *Scorpiris* Spach, respectively (Dönmez and Pınar, 2001).

Seeds and fruits present characteristic features in terms of shape, colour, dimension, seed surface micro structures, which can offer valuable contributions in classification of taxa. These features are not affected by habitat conditions and display a great variety from species to family categories (Barthlott, 1981). In addition, anatomical structures are generally as beneficial as other characters in plant classification, and they are valuable in separation of the closely related taxa (Karamian et al., 2012; Karaismailoğlu, 2015).

Morphological works of the Iridaceae taxa have been performed by many researchers (Artyushenko, 1990; Rudall, 1991; Pınar and Dönmez, 2000; Kandemir, 2009; Mitic et al., 2013; Guo, 2015; Karaismailoğlu, 2015; Zhygalova et al., 2015). However, the studied data relating to the anatomical and micromorphological structures of the seed of Turkish *Iris* taxa are not available. Accordingly, the aim of this work is to examine morphological and anatomical characters of seeds of *Iris* taxa, which are *I. suaveolens*, *I. sintenisii*, *I. foetidissima* and *I. germanica* with light and scanning electron microscopes in order to realize variances. Detailed descriptions of seed of the studied taxa have presented in this study for the first time.

MATERIAL AND METHODS

Seeds of the studied 4 species, which were collected from natural inhabitants in Turkey and cultivated at the Alfred Heilbronn Botanical Garden, were used in morphological and anatomical studies (*I. suaveolens*: Amasya, Boraboy, stony areas, 950 m, 17.04.2018, Karaismailoğlu 381; *I. sintenisii*: Kütahya, Gediz, Murat mountain, stony areas, 1302 m, 26.05.2014, Karaismailoğlu 37; *I. foetidissima*: Bolu, Abant, inclined slopes, 1700 m, 10.04.2018, Karaismailoğlu 380, *I. germanica*: cultivated material). Researches were done with 10 ripe seeds for each taxon.

Macromorphological characters like the shape, size, and color of seeds were observed with utilizing a stereomicroscope (Olympus ZS51) and Kameram Imaging Software (Karaismailoğlu, 2015). In micromorphological observations, samples were prepared for scanning electron microscopy by gluing with silver paste on stubb, covered with gold-platinum, and analyzed (Karaismailoğlu, 2015).

The cross sections were obtained by a microtome (Thermo Shonda Met Finesse) from the middle of the seeds for anatomical structures such as testa thickness and shape of epidermal cells. Later, they were stained with haematoxylin (Harris-RRSP67-E) and enclosed with entellan to examine anatomical features. Anatomical characters were observed with a light microscope (Olympus CX21FS1) and Kameram Imaging Software (Karaismailoğlu, 2015).

The terminologies of morphological and anatomical characteristics were performed by Stearn (1985).

RESULTS AND DISCUSSION

In macromorphological, seed dimension, colour and shape characteristics of taxa were assessed, and variances among examined species were detected (Table 1). In seed sizes, *I. suaveolens* and *I. germanica* had the most

significant variances among the studied species. Their values varied between 6.58 mm and 8.24 mm for length, and between 4.32 and to 6.13 mm for width, respectively. Colours of seeds were yellow, brown and tones. Colours of seeds were defined to be significant in separation of the studied *Iris* taxa. The seed shapes of the

studied taxa displayed high variations. Also, the ratio values of seed dimensions had variances, which ranged from 1.20 to 1.52. Seeds were ellipticus in *I. suaveolens* (1.52), ellipticus-late in *I. sintenisii* (1.20), *I. foetidissima* (1.26), and ovatus in *I. germanica* (1.34) (Table 1 and Figure 1).

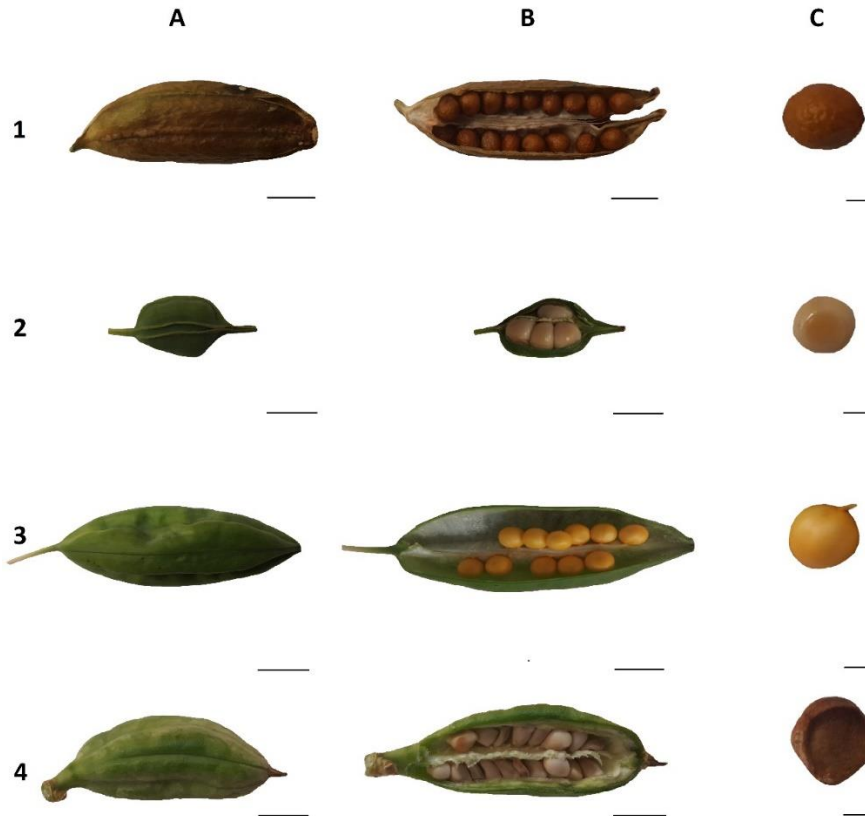


Figure 1. The examined taxa: **1:** *I. suaveolens*, **2:** *I. sintenisii*, **3:** *I. foetidissima*, **4:** *I. germanica* (**A:** Fruit, **B:** Seeds in loculus, **C:** Seeds, Scale Bars in A and B: 2 cm, Scale Bars in C: 1 cm).

The morphological and anatomical characters of seeds are of the main variations among taxa in various taxonomic groups. These variations present an ease in distribution of taxa at various taxonomic levels, in association of taxonomic features. Although seed characters such as micromorphological and anatomical features are available for taxonomic use (Grilli Caiola et al., 2010; Karaismailoğlu, 2015), a study including seed morphology and anatomy of *Iris* taxa from Turkey has not been performed until now.

In this study, macromorphological characteristics like color, shape, and size of seeds of the examined *Iris* taxa from Turkey

were shown variations. These variations in macromorphological characters were suitable with the diagnostic features in Flora of Turkey (Davis, 1984) for the *Iris* species.

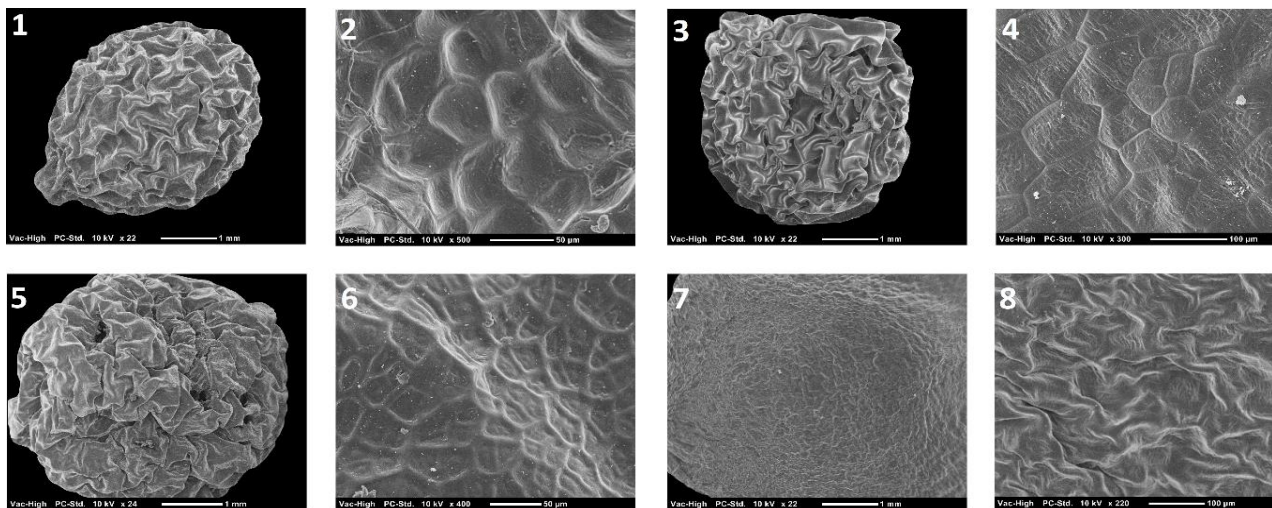
Seed surface ornamentations of the examined taxa showed diversity (Fig. 2 and Tab. 1). They were areolate (*I. suaveolens*), reticulate (*I. foetidissima*), reticulate-areolate (*I. sintenisii*) and ruminant (*I. germanica*) (Tab. 1). Moreover, cell shapes on the seed surfaces were variable, and they were composed of oval cells (*I. suaveolens* and *I. sintenisii*), polygonal cells (*I. sintenisii* and *I. foetidissima*) or undefined cells (*I. germanica*).

Table 1. Morphological and anatomical characters in seeds of the examined *Iris* taxa. Outcomes represent mean values \pm standard deviation; means with different letters are significant at $p = 0.05$ level (Duncan's multiple-range test); L: length, W: width, oe: outer epidermis, ie: inner epidermis.

Taxa	Colour	Shape	Seed Dimensions		Ratio (L/W)	Seed Surface	
			L (mm)	W (mm)		Ornamentation	Epidermal Structure
<i>I. suaveolens</i> Boiss. & Reut.	Brown	Ellipticus	6.58 \pm 0.18 ^d	4.32 \pm 0.21 ^c	1.52	Areolate	Oval cells
<i>I. sintenisii</i> Janka	Clear Brown	Ellipticus-Late	7.15 \pm 0.25 ^c	5.95 \pm 0.35 ^{ab}	1.20	Reticulate-Areolate	Polygonal or Oval cells
<i>I. foetidissima</i> L.	Yellow	Ellipticus-Late	7.63 \pm 0.13 ^b	6.04 \pm 0.21 ^a	1.26	Reticulate	Polygonal cells
<i>I. germanica</i> L.	Dark Brown	Ovatus	8.24 \pm 0.27 ^a	6.13 \pm 0.30 ^a	1.34	Ruminate	Undefined

Table 1 continued

Taxa	Testa	Parenchyma Layer		
	Structure	Thickness (μ m)	Structure	Thickness
<i>I. suaveolens</i>	6-8-layer, Flat or Crushed cells	86.29 \pm 12.25 ^{bc}	2-3-layer, Crushed cells	29.35 \pm 5.86 ^{ab}
<i>I. sintenisii</i>	oe: 7-8-layer Crushed scleranchymatic cells, ie: 5-6-layer Flat cells	94.54 \pm 10.63 ^b	1-2-layer, Flat cells	10.38 \pm 4.72 ^c
<i>I. foetidissima</i>	1-2-layer, Flat cells	25.89 \pm 6.14 ^d	1-2-layer, Flat cells	30.29 \pm 4.81 ^{ab}
<i>I. germanica</i>	oe: 1-layer Cubic cells, ie: 6-9-layer Polygonal cells	201.19 \pm 5.16 ^a	2-3-layer, Polygonal or Flat cells	35.83 \pm 2.96 ^a

**Figure 2.** The micromorphological structures of the examined taxa: **1-2:** *I. suaveolens*, **3-4:** *I. sintenisii*, **5-6:** *I. foetidissima*, **7-8:** *I. germanica*.

Seed surface features have been commonly utilized in the explanation of taxonomic problems, in the clarification of evolutionary relations, and in the association of the adaptive structures of the seed surface (Heywood, 1971; Sulaiman, 1995; Karaismailoğlu, 2015). The

surface ornamentations in the examined taxa have shown variations as areolate, reticulate-areolate, reticulate and ruminant. The surface ornamentations of seeds are useful characters in classification of the examined *Iris* taxa.

The seed surface types assist in the utilized characteristics in systematics of the genus (Davis, 1984). These results are also compatible with studies conducted with various genera such as *Crocus* (Grilli Caiola et al., 2010; Harpke et al., 2014; Carta et al., 2015; Kerndorff et al., 2015 and 2016), *Romulea* (Karaismailoğlu, 2015), *Gladiolus* (Zhygalova et al., 2015) within the family.

The anatomical characters of the seeds of four Turkish *Iris* were presented in Table 1 and Figure 3. Accordingly, the mean values of testa thickness varied between 25.89 µm and 201.19 µm, and this characteristic ranged meaningfully among the studied taxa. A thick testa was recorded in *I. germanica*, while the testa in *I. foetidissima* is thin (Tab. 1). In other aspects,

shapes and layer number of epidermal cells of testa were differed in the examined taxa (Tab. 1), which had flat, crushed, cubic and polygonal cells in unequal or equal forms, and thick or thin walls with 1-14 layer in cross sections (Figure 3). In addition to these outcomes, testa in *I. sintenisii* and *I. germanica* were occurred from two layers as outer and inner. The outer epidermis cells of *I. sintenisii* were scleranchymatic structure unlike other taxa examined. Parenchyma layer of the seeds was shown to range from 10.38 to 35.83 µm, and it was occurred from flat (*I. sintenisii*, *I. germanica* and *I. foetidissima*), crushed (*I. suaveolens*) and polygonal cells (*I. germanica*) in shapes (Figure 3).

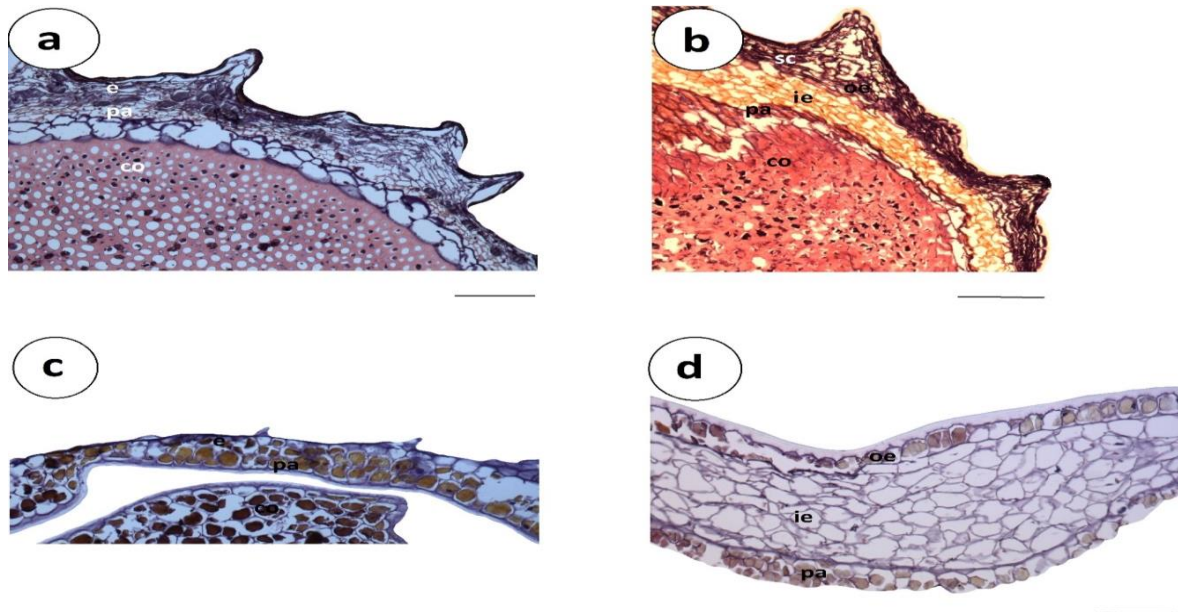


Figure 3. The anatomical structures of seeds of the examined taxa: **a:** *I. suaveolens*, **b:** *I. sintenisii*, **c:** *I. foetidissima*, **d:** *I. germanica* (**e:** epidermis, **sc:** scleranchyma, **oe:** outer epidermis, **ie:** inner epidermis, **pa:** parenchyma, **co:** cotyledon, Scale bars: 100 µm).

The anatomical structures of the testa and epidermal cells of the seeds may offer valuable information for phylogenetic classification of angiosperm taxa (Corner, 1976). In this study, the variations in the examined anatomical characters such as testa structure and thickness, parenchyma layer structure and thickness of the

examined *Iris* taxa have been recognized. The anatomical characters used in this preliminary study may contribute to the systematic of genus. These outcomes are consistent with earlier works in Iridaceae (Grilli Caiola et al., 2010; Karaismailoğlu, 2015).

CONCLUSION

This work supports the use of the morphological and anatomical features of the seeds as the distinctive characters in the classification within the *Iris* taxa in Turkey. This is a preliminary work to define the applicability of the examined characteristics, and further investigations covering all taxa of the genus are required for determining the complete differences and better understanding systematic of genus.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author thanks the professors in Istanbul University, Division of Botany for providing the facilities of some equipments.

REFERENCES

- Artyushenko ZT, 1990. The atlas on the describing morphology of the vascular plants. Nauka Publ. house, Leningrad-Russia.
- Baser KHC, Demirci B, Orhan IE, Kartal M, Sekeroglu N, Sener B, 2011. Composition of Volatiles from Three *Iris* Species of Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 23 (4): 66-71.
- Barthlott W, 1981. Epidermal and seed surface characters of plants: Systematic applicability and some evolutionary aspects. *Nordic Journal of Botany*, 1: 345-355.
- Carta A, Moretti M, Nardi FD, Siljak-Yakovlev S, Peruzzi L, 2015. Seed morphology and genome size in two Tuscan *Crocus* (Iridaceae) endemics: *C. etruscus* and *C. ilvensis*. *Caryologia*, 68 (2): 97-100.
- Corner EJH, 1976. The seeds of Dicotyledons, Vol 1. Cambridge University Press, Cambridge-England.
- Davis PH, 1984. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 8. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Dönmez EO, Pınar NM, 2001. The Clypeate pollen grains of Turkish *Iris* L. (Iridaceae): Subgenus *Scorpiris* Sach. *Turkish Journal of Botany*, 25: 57-62.
- Grilli Caiola M, Leonardi D, Canini A, 2010. Seed structure in *Crocus sativus* L., *C. cartwrightianus* Herb., *C. thomasii* Ten., and *C. hadriaticus* Herb. at SEM. *Plant Systematics and Evolution*, 285: 111-120.
- Guo J, 2015. Comparative Micromorphology and Anatomy of Crested Sepals in *Iris* (Iridaceae). *International Journal of Plant Science*, 176 (7): 627-642.
- Harpke D, Peruzzi L, Kerndorff H, Karamplianis T, Constantinidis T, Ran đelović V, Randelović N, Juković M, Pasche E, Blattner FR, 2014. Phylogeny, geographic distribution and new taxonomic circumscription of the *Crocus reticulatus* species group (Iridaceae). *Turkish Journal of Botany*, 38: 1182-1198.
- Heywood WH, 1971. Scanning electron microscopy. Academic Press, London-England.
- Jaenicke L, Marner FJ, 1990. The irones and their origin. *Pure and Applied Chemistry*, 62: 1365-1368.
- Kandemir N, 2009. A morphology, anatomy and ecology of critically endangered endemic *Crocus pestalozzae* Boiss. (Iridaceae) in North-West Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 38 (2): 127-132.
- Karaismailoğlu MC, 2015. Morphological and anatomical features of seeds of Turkish *Romulea* taxa (Iridaceae) and their taxonomic significance. *Acta Botanica Croatica*, 74: 31-41.

- Karamian R, Behjou AM, Ranjbar M, 2012. Anatomical findings of *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Fabaceae) in Iran and their taxonomic implications. Turkish Journal of Botany, 36: 27-37.
- Kerndorff H, Pasche E, Harpke D, 2015. The Genus *Crocus* (Liliiflorae, Iridaceae): Life-cycle, Morphology, Phenotypic Characteristics, and Taxonomical Relevant Parameters. Stapfia, 103: 27-65.
- Kerndorff H, Pasche E, Harpke D, 2016. The Genus *Crocus* (Liliiflorae, Iridaceae): A Descriptive Seed Morphology. Part one: Macroscopic Traits and Phylogenetic Relevance. Stapfia, 105: 3-41.
- Mathew B, 1989. A taxonomic revision of *Iris* Subgenus *Hermodactyloides* (Iridaceae) in plant taxonomy, Phytogeography, and related subjects. Edinburg Univ. Press, Edinburg.
- Mitic B, Halbritter H, Sostaric R, Nikolic T, 2013. Pollen morphology of the genus *Iris* L. (Iridaceae) from Croatia and surrounding area: taxonomic and phylogenetic implications. Plant Systematics and Evolution, 299: 271-288.
- Pınar NM, Dönmez EO, 2000. Pollen morphology of Turkish *Iris* L. (Iridaceae) with reference to evolutionary trends at the infrageneric level. Israel Journal of Plant Sciences, 48: 129-141.
- Rudall P, 1991. Leaf anatomy and phylogeny of Ixioideae (Iridaceae). Botanical Journal of the Linnaean Society, 106: 329-345.
- Stearn WT, 1985. Botanical Latin: history, grammar syntax, terminology and vocabulary. David & Charles, London-England.
- Sulaiman IM, 1995. Scanning electron microscopic studies seed coat patterns of five endangered Himalayan species of *Meconopsis* (Papaveraceae). Annals of Botany, 76: 323-376.
- Zhygalova S, Futorna OA, Levanets A, 2015. Micromorphological study (ultrastructure of lamina surface, seeds, ultrasculpture of pollen grains) of *Gladiolus* L. species (Iridaceae Juss.) of Ukrainian flora. Environmental and Socio-economic Studies, 2 (4): 21-27.

Comparison of different methods for the isolation of *Arabidopsis thaliana* nuclear membranes

Fatih ERCİ^{1*}

ABSTRACT: In animal and yeast system, subcellular fractionation has been widely used in studies of protein localization and organelle proteomics. Alternatively, it has not been an effective way of study in plant system because of some experimental limitations. The main aim of this study is to optimize subcellular and subnuclear fractionation of wild-type of *Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia (Col-0) leaves by comparing three different methods to isolate nuclear membrane. In the study, we at first optimized nuclear washing steps to remove chloroplast contents from nuclear fractions. By optimizing speed of centrifugation and chemical component of the nuclear washing buffer, purified nuclear fractions was obtained. After measurement of protein amount for each fraction, purity of the fractions was analyzed by western blot assay with some specific cell compartment markers such as anti-Histone3 for nuclear fraction and anti-Rubisco for cytoplasmic fraction. Also, lactate dehydrogenase enzyme assay was used to confirm purity of the fractions. Then, subnuclear fractionation was done to isolate purified nuclear membrane. Three different methods were used to separate the nuclear membrane from whole purified nucleus. Nuclear compartment markers such as anti-Histone3 and anti-Fibrillarin was used in this step. In the study, Inner Nuclear Membrane protein (AtSUN2) was used as a nuclear membrane marker. All things considered, we conclude that the method with DNase digestion and high centrifugation speed (first method) is a more effective way in separation of nuclear membrane fractions because the low centrifugal speed (second method) does not appear to be sufficient for separating the nuclear membrane, and the third method does not seem to be a very effective way as it requires a high centrifugal speed.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, Subcellular fractionation, Nuclear membranes

¹Fatih ERCİ (Orcid ID: 0000-0002-3044-7343), Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya, Turkey

*Sorumlu yazar/Corresponding Author: Fatih Erci, e-mail: ferci@erbakan.edu.tr

A part of this article was presented as a poster at the 6th International Congress on Molecular Biology and Biotechnology Congress held in Afyon on 22-25 December 2017.

INTRODUCTION

The nucleus is known as a distinguished organelle of cell by serving as the control center of cell and home to genetic information in eukaryotic organisms. The role of nucleus in plants has been revealed in the functioning of developmental and adaptive dynamics by supporting increasing new information about the nucleus and its compartments in which has been shown only processing of genetic information so far and is claimed as 'a cell within a cell' by several authors (Rodrigues et al., 2009; Thuleau et al., 2012). The main component of the nucleus comprises nuclear membranes, nucleoplasm, chromatin and nucleolus. Nucleoplasm is encircled by a double-membrane system that has a variety of functions such as organization and the role of the nuclear genome separating nucleus and cytoplasmic environment via around 100 different proteins estimated to localize to these membrane systems (Meier and Brkljadic, 2009) and nucleocytoplasmic transport by regulating exchanges of molecules between these two compartments (Terry et al., 2007; Carmody and Wentle, 2009).

In the nuclear envelope, the periplasmic (perinuclear) space separates the outer nuclear membrane (ONM), which continues with the endoplasmic reticulum (ER); but, do not share similar protein composition with ER (Hetzer et al., 2005) and inner nuclear membrane (INM). Nuclear pore complexes (NPCs) that make a connection with ONM and specific protein composition that plays important role in some crucial functions. For instance, some human genetic diseases have been associated with INM proteins such as Lamin B Receptor (LBR), Lamina-Associated Polypeptide1 (LAP1), the LEM (for LAP2, Emerin, MAN1) domain protein family in animal system (Ellis 2006; Worman and Bonne 2007; Wheeler and Ellis 2008).

On the other hand, a small number of INM proteins of animal share homology with plants

INM proteins (Boruc et al., 2012) and plants do not have some known animal nuclear membrane proteins; for example, some certain animal INM proteins which can be used as a nuclear membrane marker such as the lamin B receptor (LBR) and Lap/Emerin/Man1 (LEM) domain proteins do not have homologs in plants (Mans et al., 2004; Meier, 2007).

Klarsicht, ANC-1, and Syne Homology (KASH) and Sad1/Unc84 (SUN) proteins create protein bridges by interacting in the perinuclear space in animal systems. These bridges have some functions like making a connection between the nucleus and cytoplasmic cytoskeleton, the regulation of apoptosis and some human diseases such as laminopathies (Burke and Roux, 2009). SUN domain proteins identified in *Arabidopsis* as AtSUN1 and AtSUN2, which are conserved and homologs between animal and yeast systems, were determined as markers for NE dynamics (Boruc et al., 2012), are located at the NE in *Arabidopsis* plants (Oda and Fukuda, 2011).

Subcellular fractionation methods have been widely known and used to analyze protein localization and function in addition to organelle proteomics in the animal and yeast system for a long time. It bases principally on separation organelles according to their size, shape and density via differential and gradient centrifugation techniques. Additionally, it has become an effective tool with accumulation of biochemical knowledge in studies of plant proteomics. Subcellular fractionation generally includes three main steps; homogenization to disrupt cell and separate organelles without any damage under certain conditions and with specific homogenization medium, centrifugation and specific marker assays to measure the level of purity of fractions as a final step.

Currently, scientists are focusing on studies in understanding individual genes functions via plant lines with gene knockouts and over expression methods, but they must deal

with the characterization of phenotypic changes where occurred in plant system by the way of documentation of protein localization, abundance and functions to introduce these transgenic lines as commercial products (Haynes and Roberts, 2007).

In addition to subcellular fractionation, there are some methods to determine the subcellular localization of proteins such as bioinformatic tools and epitope tagging and microscopy. The most widely accepted reporter proteins in the subcellular localization analysis are fusion proteins including green fluorescent protein (GFP) despite some limitations; for instance, protein may be forced to take place in non-physiological location due to use of non-physiological promoters to express the tagged protein (Piedras et al., 2000).

The objective of this study is to find an efficient method in getting purified nuclear membrane fractions by comparing three different existent methods.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material and Growth Conditions

Wild-type of *Arabidopsis thaliana* ecotype Colombia (Col-0) was used in all experiments. *Arabidopsis* seeds were surface sterilized using bleach. Briefly, the seeds were incubated with 70% ethanol in a microcentrifuge tube by shaking for 2 minutes. Then, they were centrifuged at 10 000 g for 30 seconds to remove ethanol. Second incubation was done with 100% (v/v) commercial bleach by shaking for 5 minutes and spun at 10 000 g for 15 seconds. After removing bleach and finishing surface sterilization, seeds were washed with sterile double distilled H₂O at least 6 times by spinning. Then, the seeds were germinated on MS medium (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) with 1%

sucrose (pH 5.7 and 0.8% agar) in petri plates (100 mm × 15 mm) and kept in darkness at 4°C for 2 days to break dormancy. After plate were germinated into the growth chamber for one week, they were transferred to soil pot into the same growth chamber with a 16 hours photoperiod at 23/23°C (day/night). We collected leaves from three-week-old plants for subcellular fractionation assays.

Subcellular Fractionation for Nucleus and Cytoplasm

Firstly, we used 3-week-old *Arabidopsis* plants to obtain purified nuclear and cytoplasmic fractions by modifying previously described protocol (Figure 1) (Cheng et al. 2009). Leaf materials (2 g) from soil grown plants were ground in liquid nitrogen and mixed with 4 mL lysis buffer (20 mM Tris-HCl pH 7.4, 25% glycerol, 20 mM KCl, 2 mM EDTA, 2.5 mM MgCl₂, 250 mM sucrose, 10 mM 2-mercaptoethanol, 1 mM PMSF). Homogenate was filtered through 4 and 8-layer cheesecloth and centrifuged at 1 500 g and at 4 °C for 10 minutes to pellet the nuclei. Supernatant was separated from pellet (P1 fraction) as S1 fraction into new eppendorf tubes. The supernatant (S1 fraction) was re-centrifuged at 13 000 g and 4 °C for 15 minutes, and supernatant of this fraction (S2) was collected as the cytoplasmic fraction and pellet (P2 fraction was discarded). P1 fraction (the nuclear pellet) was carefully suspended in nuclear washing buffer (20 mM Tris-HCl, 25% glycerol, 2.5 mM MgCl₂, 0.1% Triton X-100, 10 mM 2-mercaptoethanol, 1 mM PMSF) and centrifuged at 1.500 g for 10 minutes at 4 °C. This step was repeated for 6-7 times until no green color can be seen. Each nuclear fraction was suspended into 0.5 mL nuclear wash buffer and kept at -80 °C for several weeks.

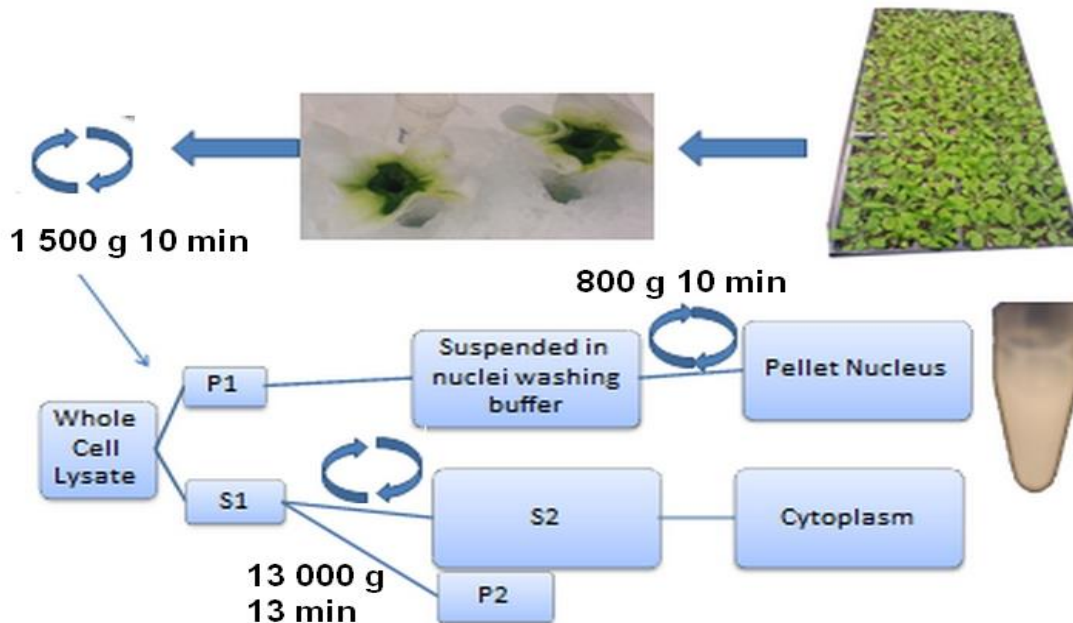


Figure 1. Schematic diagram of subcellular fractionation procedure

Subnuclear Fractionation

As a second step of our research, we did attempt to select appropriate methods for subnuclear fractionation and optimize the best method for *Arabidopsis* plant leaves. Thus, we choose three different existent methods for this assay.

Method 1

The protocol is modified from Kay et al. (1972). Firstly, the nuclei were suspended with nuclei suspension buffer (0.25 M sucrose, 50 mM Tris-HCl pH 7.4, 5 mM MgCl_2) in centrifuge tubes (Beckman Coulter, IN, USA) with 0.1 mM MgCl_2 to a concentration of 3 mg protein per mL by gently vortexing to mix suspension well. After $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ DNase was added to final concentration, the suspension was completed with 4 volume sucrose buffer (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM MgCl_2 , 5 mM 2-mercaptoethanol in sucrose pH 8.5). Following incubation of this mix at room temperature for 20 minutes, digestion of nuclei was terminated with an equal volume of ice-cold distilled water and centrifuged for 15 minutes at 36 000 g. Second digestion was applied to get pellet of the

first centrifugation. The pellet was suspended in sucrose buffer (pH 7.4) with $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ DNase to final concentration and incubated 25 minutes at room temperature until termination with an equal volume of distilled water. Next, the suspension was centrifuged 15 minutes at 36 000 g. Final pellet was collected as nuclear membrane fraction at the end of the centrifugation process, suspended into nuclear washing buffer and kept on -80°C for several weeks.

Method 2

The protocol was adapted from Matunis (2006) with some modifications. Nuclear pellet from purified nucleus was suspended in 1 mL of lysis buffer (0.1 mM MgCl_2 , 1 mM PMSF, $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ DNase, $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ RNase) by adding drop-wise and vortexing at room temperature. Then, suspension was transferred to a Beckman centrifuge tube and completed with 4 volume extraction buffer pH 8.5 (10% sucrose w/v, 20 mM triethanolamine with pH 8.5, 0.1 mM MgCl_2 , 1mM PMSF). Incubation was done at room temperature for 15 minutes. Total suspension was underlaid with an equal volume of ice-cold sucrose cushion solution (30%

sucrose w/v, 20 mM triethanolamine with pH 7.5, 0.1 mM MgCl₂, 1 mM PMSF). Next, nuclear envelope was obtained as pellet by centrifugation at 4 000 g for 15 minutes and suspended with nuclear washing buffer and kept at -80 °C for several weeks.

Method 3

This protocol is described previously by Philipp et al. (1976). The nuclear pellet was suspended in 0.1 mM Tris-HCl (pH 7.5). Then, sonication was performed 10 times with 3 second cooling intervals (QSonica Sonicator, Q55). The suspension was centrifuged at 150 g for 5 minutes. The supernatant was layered directly on top of a 66% (w/v) sucrose solution and centrifuged at 75 000 g for 90 minutes in ultracentrifuge. Later, the pellet was recovered as nuclear membrane fraction and suspended with nuclear washing buffer and kept at -80 °C for several weeks.

Quantification of Protein Concentration

We used protein assay kit (Bio-Rad, USA) to quantify protein concentration. The assay was done according to manufacturer protocol. Protein concentration of samples was determined after preparing standard curve of 595 nm absorbance versus micrograms protein by reading via microplate reader (Bio-Tek , Synergy HT, Winooski, VT, USA).

Lactate Dehydrogenase Assay (LDH)

Firstly, a standard curve was prepared for NADH dilutions by reading absorbance at 340 nm in microplate reader (Bio-Tek, Synergy HT, Winooski, VT, USA). Then, 5 µL of the sample was added to 200 µL of pre-incubated reaction medium at 30 °C for 20 minutes including 100 mM Tris-HCl buffer, 10 mM of pyruvate and 0.3 mM NADH and the absorbance were read at 340 nm per minute. Decreasing in absorbance coming from the oxidation of NADH is determined as the reaction velocity with reference to the general equation of catalytic

function of LDH. One unit is defined as the oxidation of one micromole of NADH per minute at 25 °C and pH 7.3.

Protein Separation with SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

Once the cast was assembled and tested for leaks, polyacrylamide gel concentration was prepared according to protein size because pore size will affect protein migration through the gel. Consequently, we set 8, 10 and 12 % separating gel concentration for our experiment. Firstly, separating solution was directly transferred into the cast via pipette and overlaid with ddH₂O for 15 minutes to stop air interfering with the crosslinking reaction. After removing the ddH₂O by using blotting paper, the stacking gel (4 %) was directly overlaid on the separating gel, followed by insertion of the comb. Then, gel assembly was put into the gel tank and 1X ris-glycine SDS-PAGE running buffer (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) was poured into the tank. 25 µg of the lysates and 10 µL ColorPlus prestained protein marker, Broad Range (7-175 kDa) (P7709S New England Biolabs, UK) were loaded into wells using gel loading tips and ran at 40 mA till bromophenol dye reaches the bottom of the gel.

Transferring Proteins and Developing Western Blot

Transfer of protein from an SDS-polyacrylamide gel onto PVDF membrane (Bio-Rad, USA) was made using the correct size of the gel. Firstly, the membrane prepared for transfer by soaking in methanol. Sponges, blotting paper and the gel removed carefully from the glass plates were soaked in cold transfer buffer for 15 minutes. Then, all of them were sandwiched in a transfer cassette and placed into the gel tank with an ice pack added. Next, 1 X Tris/Glycine transfer buffer (Bio-Rad, USA) buffer was added and the transfer was performed at 300 mA for 1 hour.

Western blotting of the membrane was performed after protein transfer. First, the membrane was blocked with blocking solution (2% skim milk and 0.5% Tween 20) in TBS buffer (10 mM Tris-HCl, pH 7.3, 100 mM NaCl) for 30 minutes on a rocker at room temperature. Following this, the primary antibody shown in the Table 1 at different dilutions according to the specificity of antibody was incubated with the membrane (overnight 4 C° on the shaker). Three washes of 5 minutes were then made with TBST buffer (TBS buffer and 0.1 % Tween 20) before

the addition of the secondary antibody (anti-Rabbit or anti-mouse) at a dilution of 1:2000 for 1 hour. Before developing the blot, it was washed with two changes of TBST and two washes of 5 minutes with TBS buffer. In a separate tube, we mixed black and white ECL solutions in a 1:1 ratio. Then, we aliquoted the solution onto the membrane and waited for 5 minutes. After draining the ECL, we wrapped membrane in plastic and exposed to film. Development of film was made by using with appropriate solutions into the dark room.

Table 1. Primary antibodies used in this study

Antibody	Application/Dilution	Source
Anti-H3	WB/1:2000	BioLegend, San Diego, CA, USA
Anti-RBCL	WB/1:2000	Agriseria, Vännäs, SWEDEN
Anti-SUN2	WB/1:250	Pacific Immunology, Ramona, CA, USA
Anti-FBL	WB/1:2000	Antibodies-online, Atlanta, GA, USA

RESULTS AND DISCUSSION

Nuclear Fractions

In the first experiment, all samples with equal volume were run with Anti-H3 antibody. This antibody has been widely used as nuclear marker in animal and plant systems. We observed that there is no contamination into cytoplasmic fractions. But, quantification of protein amount

of each sample may give us to perform the blotting process with equal amount of proteins. That's why we used Bio-Rad protein assay to measure protein amount for each sample. After running equal amount protein, it has been re-demonstrated that there is no signal in cytoplasmic fractions for Histon3 (Figure 2).

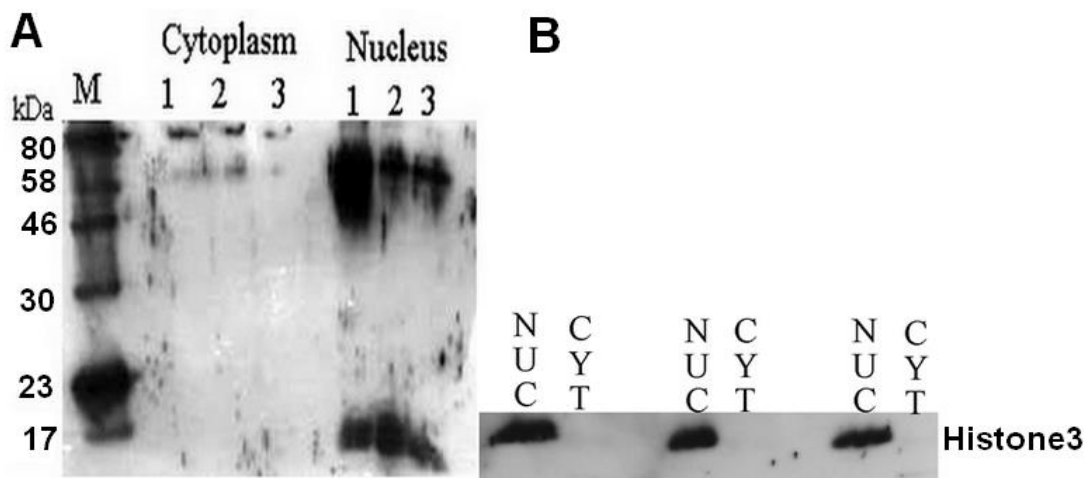


Figure 2. Western blot with anti-Histone 3 nuclear marker with equal amount of protein (25 µg) was loaded for each sample. M (molecular mass markers), NUC (nucleus), CYT (cytoplasm) A. First run B. Second run

Cytoplasmic Fractions

Lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27, LDH) is a soluble enzyme and localized in the cytosol (cytoplasm), which plays a role in the last step in glycolysis as a catalyzer. Consequently, LDH can be used as a quantitative marker enzyme for the intact cell (Renner et al., 2003). Lactate dehydrogenase activity (cytoplasmic marker) protocol was measured by using a standard protocol (Kuznetsov and

Gnaiger, 2010). Firstly, we made the standard curve with NADH to calculate the activity of LDH. The enzyme activity was measured as nmol substrate hydrolysed per μg protein in both cytoplasmic and nuclear fractions. Lactate dehydrogenase activity was lower in nuclear fractions samples. This indicates that there is low-level contamination of cytoplasmic fractions into the nuclear fractions (Figure 3).

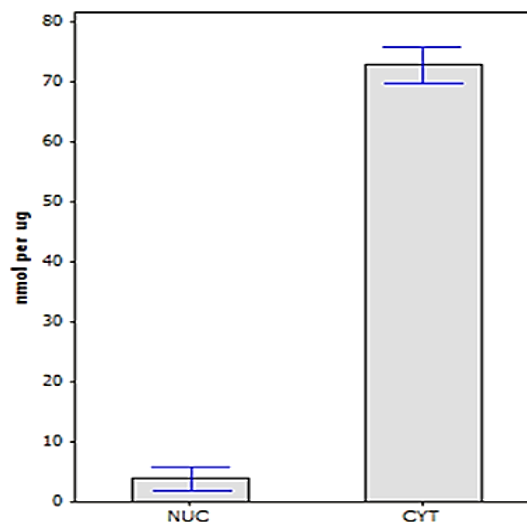


Figure 3. Certain activity of LDH into cytoplasm and nucleus. Two technical and three biological replicate NUC (nucleus), CYT (cytoplasm)

Rubisco (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) is known that it plays a role as catalyzer into the rate-limiting step of CO_2 fixation for photosynthetic organisms. The large subunit is coded by the chloroplast *rbcl* gene, and the small subunit is coded by a family of nuclear *rbcS* genes in plants and green algae. For *Arabidopsis*, the large subunit of Rubisco is expected to have 52.7 kDa molecular weight.

We made a second confirmation to show the level of purity of nuclear fractions. We used Anti-Rbcl to identify if nuclear fractions have any contamination with cytoplasmic fractions. It was not observed any signals for this protein into nuclear fractions (Figure 4). These results are parallel to Lactate Dehydrogenase assay results.

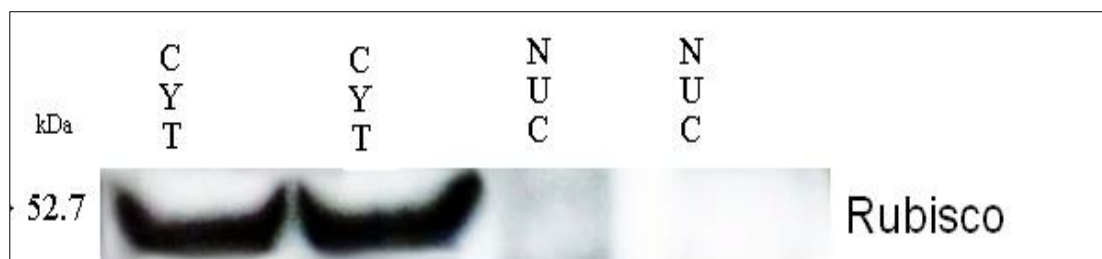


Figure 4. Western Blot with Anti-Rbcl as cytoplasmic marker. NUC (nucleus), CYT (cytoplasm)

Nuclear membrane fractions

We separated nuclear membrane with first method which was mentioned above. After measurement protein amount for each sample, the western blot assay was done with anti-Histone 3. Although the intensity of Histone3 protein was decreased into nuclear membrane fractions, it is expected that there should not be any Histone3 proteins into nuclear membrane fractions.

In the second step, we separated nuclear membrane fractions via three different methods and run three different marker proteins; Histone3, Fibrillarin and AtSUN2. Histone3 was

used to determine chromatin contamination into nuclear membrane fractions (Figure 5). Any Histone3 protein into nuclear membrane fractions was not found for the first method. In the second method, we observed Histone3 protein into NMB. Also, there was no signal of Histone3 detected into NMB for third method.

We used Fibrillarin antibody (FBL) as a nucleolar marker which has 34 kDa molecular weight (Figure 6). It was only appeared into nuclear fractions. It has been noticed into neither cytoplasmic fractions nor nuclear membrane fraction for all three methods.

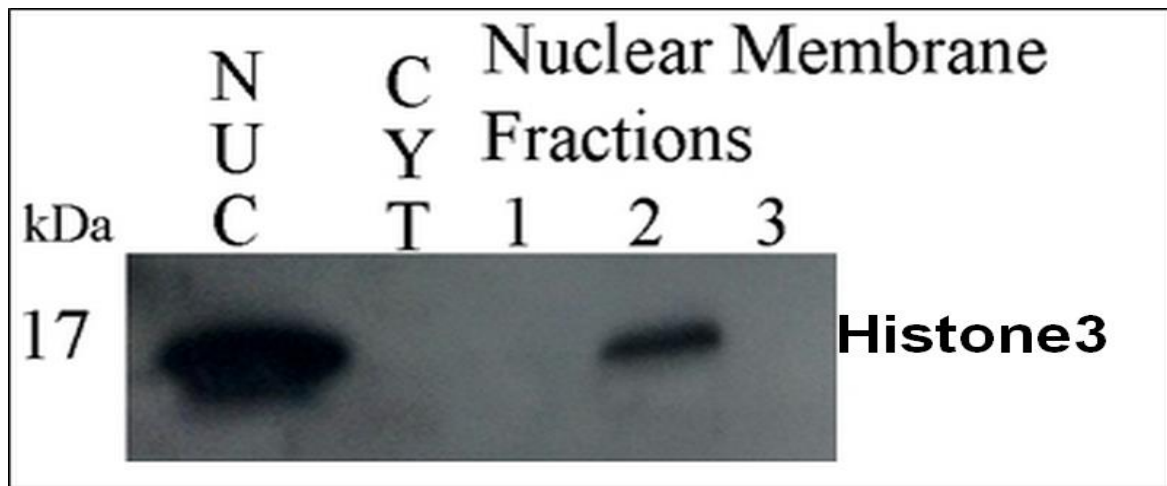


Figure 5. Histone 3 as a marker for nucleoplasm including chromatin. Western Blot with nuclear membrane fractions of three methods. NUC (nucleus), CYT (cytoplasm), Nuclear membrane fractions 1(first method), 2(second method), 3 (third method)

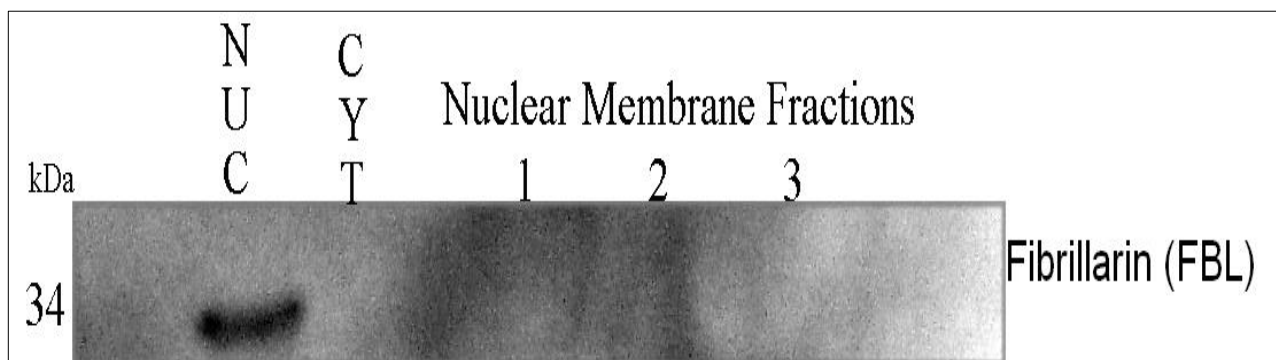


Figure 6. Fibrillarin as a nucleolar marker. Western Blot with nuclear membrane fractions of three methods. NUC (nucleus), CYT (cytoplasm), Nuclear membrane fractions 1(first method), 2(second method), 3 (third method)

AtSUN2 as a Nuclear Membrane Marker

Once we confirmed there is no contamination with both chromatin and nucleolus into nuclear membrane fractions for first and second methods, we determined AtSUN2 protein with 50 kDa molecular weight as a nuclear membrane marker. After the

selection of peptide sequence using bioinformatics tools, purified antibody was produced by the Pacific Immunology Company. We run western blot assay with nuclear membrane fractions against anti-AtSUN2. The results indicate that it has been seen into all three nuclear membrane fractions (Figure 7).

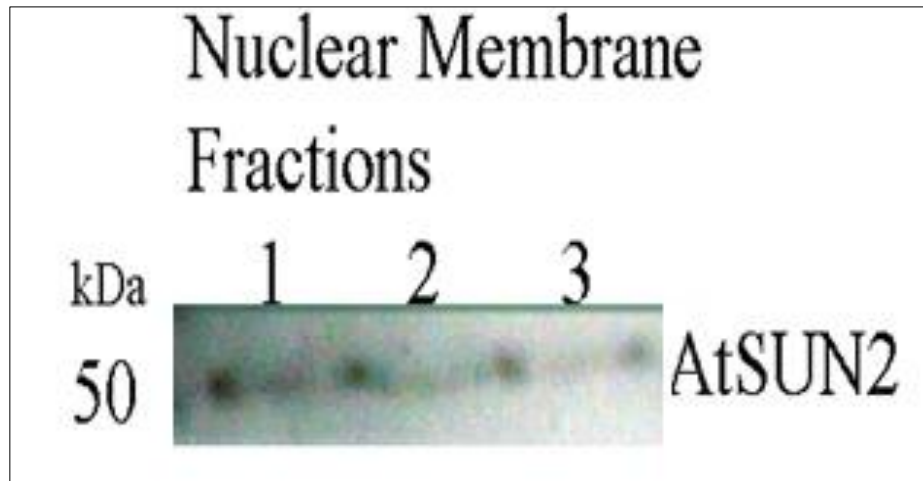


Figure 7. AtSUN2 as a nuclear membrane marker. Western Blot with nuclear membrane fractions of three methods. Nuclear membrane fractions 1(first method), 2(second method), 3 (third method)

As reported in previous studies, we used LDH, which is a glycolytic enzyme in the cytosol, as a cytoplasmic marker in this study (Slabas et al., 2004). When we looked at the LDH activity, we observed a minimal activity in the nucleus fraction, and the presence of Histon3 only in the nuclear fraction showed that we obtained a cytoplasmic and nuclear fraction without too much contamination. A thorough proteomic study of the *Arabidopsis* nuclear matrix was performed previously, and the fibrillarin as indicated herein are shown as nucleolar proteins (Calikowski et al., 2003). In this study, the absence of any fibrillarin in the nuclear membrane and cytoplasmic fractions shows that the nuclear membranes were obtained in pure form. In a previous study, they investigated the two *Arabidopsis* SUN- domain proteins, AtSUN1 and AtSUN2, which share similar structural features with animal and fungal Sad1/UNC- 84 (SUN)- domain proteins are

inner nuclear membrane (INM) proteins (Graumann et al., 2010). In the study, we have shown that SUN protein can be used as a marker for *Arabidopsis* nuclear membrane fractions.

CONCLUSION

We achieved to make subnuclear fractionation to get purified nuclear membrane fractions. We used three different methods with some optimization to separate the nuclear membrane from whole purified nucleus. These three methods were differentiated with some details like first method with digestion of DNase and high centrifugation speed, the second method with digestion of DNase and RNase with low centrifugation speed and third method with disruption via sonication and high centrifugation speed. We used some nuclear compartment markers such as Histone3 and Fibrillarin in this assay. However, it is known that determination of nuclear membrane specific marker in plant

system is not easy because some proteins used as nuclear membrane markers in animal systems such as Lamin proteins do not have homologs into plant nuclear membranes (Brandizzi et al., 2009; Graumann et al., 2010). In the study, we determined and used Inner Nuclear Membrane protein (AtSUN2) as a nuclear membrane marker by collecting related information about recent studies. According these results, it has been demonstrated that the first method with DNase digestion and high centrifugation speed is a more efficient way in separation of nuclear membrane fractions because the third method requires centrifugation at very high speeds and therefore does not seem practical.

REFERENCES

- Brandizzi F, Irons SL, Evans DE, 2004. The plant nuclear envelope: new prospects for a poorly understood structure. *New phytologist*, 163(2): 227-246.
- Boruc J, Zhou, Meier I, 2012. Dynamics of the plant nuclear envelope and nuclear pore. *Plant Physiology*, 158(1):78-86.
- Burke B, Roux KJ, 2009. Nuclei take a position: managing nuclear location. *Developmental Cell*, 17(5):587-597.
- Calikowski TT, Meulia T, Meier I, 2003. A proteomic study of the *Arabidopsis* nuclear matrix. *Journal of cellular biochemistry*, 90(2):361-78.
- Carmody SR, Wentz SR, 2009. mRNA nuclear export at a glance. *Journal of Cell Science*, 122(12):1933-1937.
- Cheng YT, Germain H, Wiermer M, Bi D, Xu F, García A, Wirthmueller L, Després C, Parker JE, Zhang Y, Li X, 2009. Nuclear pore complex component MOS7/Nup88 is required for innate immunity and nuclear accumulation of defense regulators in *Arabidopsis*. *The Plant Cell Online*, 21(8):2503-2516.
- Ellis JA, 2006. Emery-Dreifuss muscular dystrophy at the nuclear envelope: 10 years on. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 63(23):2702-2709.
- Graumann K, Runions J, Evans DE, 2010. Characterization of SUN- domain proteins at the higher plant nuclear envelope. *The Plant Journal*, 61(1):134-44.
- Haynes PA, Roberts TH, 2007. Subcellular shotgun proteomics in plants: looking beyond the usual suspects. *Proteomics*, 7(16):2963-2975.
- Hetzer MW, Walther TC, Mattaj IW, 2005. Pushing the envelope: structure, function, and dynamics of the nuclear periphery. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21:347-380.
- Kay RR, Fraser D, Johnston IR, 1972. A method for the rapid isolation of nuclear membranes from rat liver. Characterisation of the membrane preparation and its associated DNA polymerase. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 30(1):145-154.
- Kuznetsov AV, Gnaiger E, 2010. Laboratory Protocol Lactate Dehydrogenase Cytosolic Marker Enzyme. *Mitochondrial Physiology Network*, 8: 1-8.
- Mans B, Anantharaman V, Aravind L, Koonin EV, 2004. Comparative genomics, evolution and origins of the nuclear envelope and nuclear pore complex. *Cell Cycle*, 3(12):1625-1650.
- Matunis MJ, 2006. Isolation and fractionation of rat liver nuclear envelopes and nuclear pore complexes. *Methods*, 39(4):277-283.
- Meier I, Brkljacic J, 2009. Adding pieces to the puzzling plant nuclear envelope. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(6):752-759.

- Meier I, 2007. Composition of the plant nuclear envelope: theme and variations. *Journal of Experimental Botany*, 58(1):27-34.
- Oda Y, Fukuda H, 2011. Dynamics of Arabidopsis SUN proteins during mitosis and their involvement in nuclear shaping. *The Plant Journal*, 66(4):629-641.
- Philipp EI, Franke WW, Keenan TW, Stadler J, Jarasch ED, 1976. Characterization of nuclear membranes and endoplasmic reticulum isolated from plant tissue. *The Journal of Cell Biology*, 68(1):11-29.
- Piedras P, Rivas S, Droge S, Hillmer S, Jones JD, 2000. Functional, c-myc-tagged Cf-9 resistance gene products are plasma-membrane localized and glycosylated. *The Plant Journal : For Cell and Molecular Biology*, 21(6):529-536.
- Renner K, Amberger A, Konwalinka G, Kofler R and Gnaiger E. 2003. Changes of mitochondrial respiration, mitochondrial content and cell size after induction of apoptosis in leukemia cells. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1642(1):115-123.
- Rodrigues MA, Gomes DA, Nathanson MH, Leite MF. 2009. Nuclear calcium signaling: a cell within a cell. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 42(1):17-20.
- Terry LJ, Shows EB, Wentz SR, 2007. Crossing the nuclear envelope: hierarchical regulation of nucleocytoplasmic transport. *Science Signaling*, 318(5855):1412.
- Thuleau P, Brière C, and Mazars C, 2012. Recent advances in Plant cell Nuclear signaling. *Molecular Plant*, 5(5):968-970.
- Wheeler MA, Ellis JA, 2008. Molecular signatures of Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Biochemical Society Transactions*, 36(6):1354.
- Worman HJ, Bonne G, 2007. Laminopathies: a wide spectrum of human diseases. *Experimental Cell Research*, 313(10):2121-2133.

Heybeli Gölü (Bitlis) Kuş Çeşitliliği Üzerine Bir Araştırma

Hümeyra NERGİZ^{1*}

ÖZET: Bu çalışma, Van Gölü'nün kuzey kıyısında yer alan Heybeli Gölü'nde yapılmıştır. Araştırmada Mart 2017-Nisan 2018 tarihleri arasında gerçekleştirilen gözlem sonuçları değerlendirilmiş, 14 takım ve 32 familyaya ait 78 kuş türü tespit edilmiştir. Bu türlerden 34'ü yerli (% 43.5), 35'i yaz ziyaretçisi (%44.8), 5'i kış ziyaretçisi (% 6.5) ve 4'ü transit göçerdir (%5.2). Heybeli Gölü kuşlarının IUCN (Uluslararası Doğa Koruma Birliği) kategorilerine göre tehlike durumları; Dikkuyruk ördek (*Oxyura leucocephala*)-EN, Van Gölü Martısı (*Larus armenicus*)-NT ve Kız kuşu (*Vanellus vanellus*)-NT, Elmabaş patka (*Aythya ferina*)-VU olarak verilmiştir. Ayrıca Bern Sözleşmesine göre alandaki kuş türlerinin 49 tanesi Ek II listesinde, 22 tanesi ise EK III listesinde yer almaktadır. Alandaki yasadışı avcılık, aşırı otlatma, kontrolsüz saz kesimi ve yakımı gibi aktivitelerin gölde konaklayan ve üreyen su kuşlarını olumsuz etkilediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ornitofauna, biyoçeşitlilik, sulak alanlar, kuşlar, Van Gölü Havzası

A Study on Bird Diversity of Heybeli Lake (Bitlis)

ABSTRACT: This study was carried out at Heybeli Lake located on the north shore of the Van Lake. In this research, conducted between years of March 2017-April 2018 in the Lake Heybeli, 78 bird species belonging to 32 families of 14 ordo were identified. Of these species, 34 (43.5%) were resident, 35 (44.8%) were summer migrant, 5 (6.5%) were winter migrant and 4 (5.2%) were transit migrant. These species were belonged to different IUCN (International Union for Conservation of Nature) Red List Categories including; White headed duck (*Oxyura leucocephala*)-EN, Armenian Gull (*Larus armenicus*)-NT and Northern lapwing (*Vanellus vanellus*)-NT, Common pochard (*Aythya ferina*)-VU. According to Bern Convention Red List Categories, all of observed species were categorized as; 49 in Appendix II and while 22 in Appendix III. It was determined that some human activities such as illegal hunting, overgrazing and uncontrolled reed cutting and burning in the area affected water birds that live and breed in the lake.

Keywords: Ornithofauna, biodiversity, wetlands, birds, Van Lake Basin

¹Hümeyra NERGİZ (Orcid ID: 0000-0001-5588-6134), Bitlis Eren Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bitlis, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hümeyra NERGİZ, e-mail: h.nergiz@beu.edu.tr

GİRİŞ

Kuşlar besin piramidinin üst basamaklarında bulunmaları ve çevresel değişimlerden çabuk etkilenmeleri nedeniyle biyolojik indikatör canlılar olarak değerlendirilirler. Bir alanın ornitofaunistik zenginliği de ekolojik durumunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu nedenle, kuşların yayılışları ve çevresel koşullardaki değişikliklere verdikleri tepkiler, koruma çalışmalarında önemli olarak kabul edilmektedir (Khan ve Pant, 2017).

Biyolojik çeşitliliğin ve doğal kaynakların korunması ve sürdürülebilir yönetimi, önceliği giderek artan bir konu olarak dünya gündeminde yer almaktadır. Sulak alanlar ülkemizin kuş faunasının zenginliğinin en önemli nedenleri arasında sayılan, tropikal ormanlardan sonra biyolojik üretimin en yüksek olduğu ekosistemlerdir. Buna rağmen tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en çok tehlike altında olan ekosistemler arasındadır (Anonim, 1993; Kızıroğlu, 2008).

Türkiye biyoçeşitlilik açısından Avrupa'nın en zengin ülkelerinden biridir. Buna rağmen ülkemizin yüz ölçümünün sadece % 9.5'i korunan alan statüsüne sahiptir (Bilgin ve Akçakaya, 1987; Sezen, 2017). Görüldüğü gibi ülkemizin yüz ölçümüne göre korunan alanlarının oranı oldukça düşüktür. Bu oranın artırılması ve etkili bir korunan alan yapısının oluşturulması ülkemizin ulusal hedefleri arasında yer almaktadır. Özellikle çalışma alanımızın içinde bulunduğu Van Gölü Havzası'ndaki sulak alanların çoğu koruma statüsüne sahip değildir.

Bu çalışmada, Türkiye'nin Van Gölü Havzası'ndaki Önemli Kuş Alanlarından biri olan Heybeli Gölü'nde konaklayan ve üreyen kuş türleri ile türlere ve yaşam alanlarına yönelik tehdit unsurları ve alınması gereken tedbirler araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

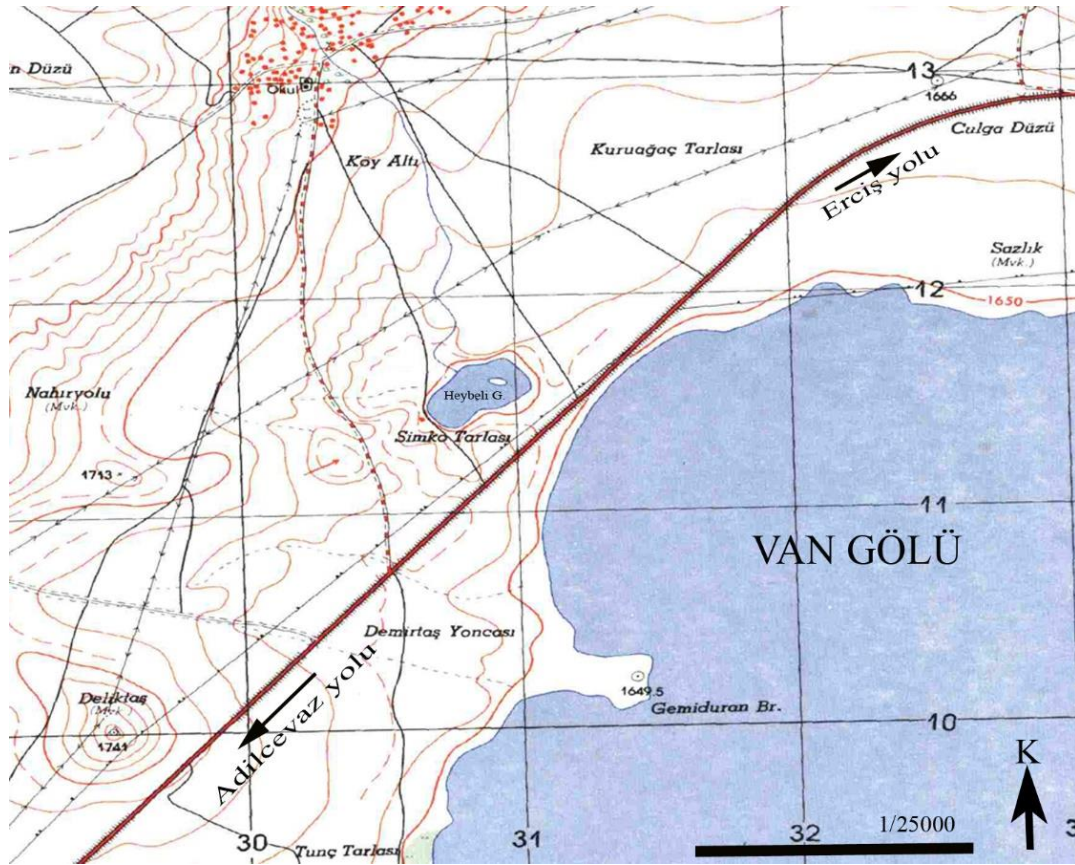
Çalışma Alanının Tanıtımı

Bitlis ili Adilcevaz ilçesinin kuzeydoğusunda yer alan Heybeli Gölü 6.984 ha büyüklüğünde sığ bir tatlı su gölüdür. 33.0875 K, 43.11576 D koordinatına ve 1657 m rakıma sahiptir (Şekil 1). Kapalı havza özelliği gösteren göl, çevresindeki mevsimsel dereler ve yağışlarla beslenmektedir. İlkbahar dönemindeki derinliği ortalama 1.5-2 m civarındadır (Anonim, 1993; Eken ve ark., 2006)

Doğu Anadolu karasal iklim tipinin egemen olduğu Heybeli Gölü ve çevresine düşen yıllık toplam yağış 458 mm, ortalama sıcaklık ise 8 °C'dir. Gölün güney ve doğu kesimlerinde sazlıklar ve bataklık bitkileri oldukça yaygındır. Bunlardan saz (*Phragmites australis*), deli saz (*Eleocharis palustris*), kamış (*Typha latifolia*), kındıra (*Sparganium erectum* subsp. *erectum*) yaygın vejetasyon örtüsünü oluşturur (Seçmen ve Leblebici, 1997; Eken ve ark., 2006; Anonim, 2017).

Metot

Heybeli Gölü'nde Mart 2017-Nisan 2018 tarihleri arasında gerçekleştirilen arazi çalışmaları aylık periyotlarla yürütülmüştür. Göç ve üreme dönemlerinde yoğunlaştırılan gözlemler genellikle bireylerin aktif olduğu 6⁰⁰ - 19⁰⁰ saatleri arasında yapılmıştır. Popülasyon yoğunluğu ve birey sayısını belirlemeye yönelik gözlemlerde Hat Boyunca Gözlem (Line transect) ve Noktasal Gözlem Metodu (Point counts) kullanılmıştır (Dobinson, 1976; Bibby ve Burgess 1992). Bunun için alanda, gölü karakterize etmelerine, birbirinden farklı ekolojik özellikte ve kolay ulaşılabilir olmalarına dikkat edilerek sabit gözlem istasyonları belirlenmiştir. Gözlemlerde dürbün (Canon 10x30), Canon 7D fotoğraf makinesi, Canon 400 mm teleobjektif, teleskop (Konuspot-100) ve GPS kullanılmıştır.



Şekil 1. Heybeli Gölü'nün genel görünüşü

Kuş türlerinin teşhisinde Green ve Moorhouse (1995), Heinzl ve ark. (1995), Harrison ve Greensmith (2000), Svensson ve ark. (2011) gibi el kitapları kullanılmıştır. Ayrıca gözlemler sırasında türlerin morfolojik karakterleri, sesleri, uçuş özellikleri, habitat seçimleri ve yuvalanma şekilleri gibi özelliklerinden de faydalanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Heybeli Gölü'nde gerçekleştirilen gözlem ve çalışmalar sonucunda alanda toplam 14 takım ve 32 familyaya ait 78 kuş türü tespit edilmiştir. Bu türlerin alandaki göç durumları dikkate alındığında; 34'ü yerli (% 43.5), 35'i yaz ziyaretçisi (% 44.8), 5'i kış ziyaretçisi (% 6.5) ve

4'ü transit göçerdir (%5.2) Çalışma sahasında Anatidae familyası en fazla türle temsil edilmektedir (Çizelge 1).

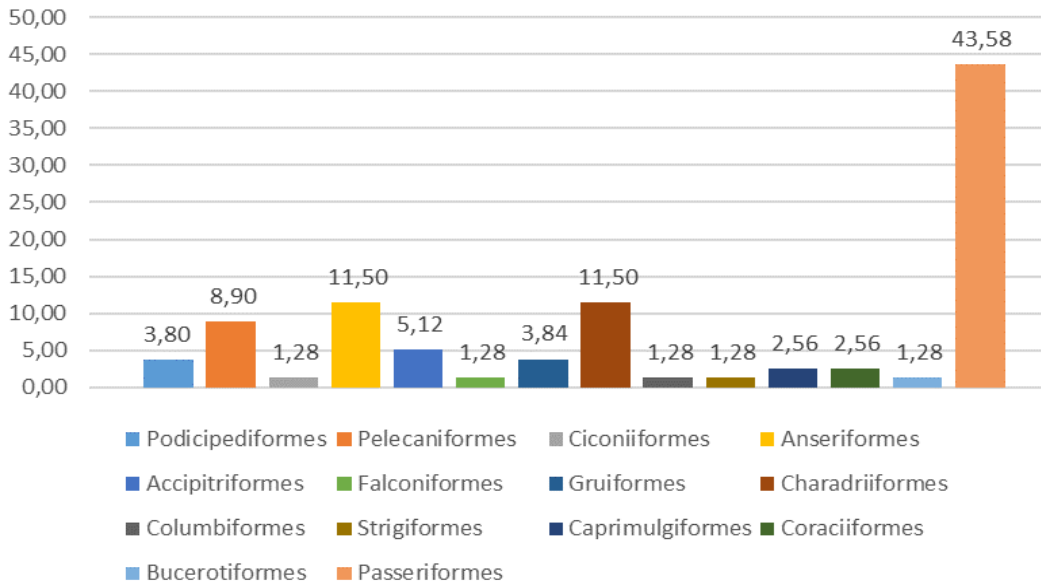
Türlerin takımlara göre dağılımları; Podicipediformes 3, Pelecaniformes 7, Ciconiiformes 1, Anseriformes 9, Accipitriformes 4, Falconiformes 1, Gruiformes 3, Charadriiformes 9, Columbiformes 1, Strigiformes 1, Caprimulgiformes 2, Coraciiformes 2, Bucerotiformes 1 ve Passeriformes 34 türle temsil edilmektedir. Heybeli Gölü'nde Passeriformes takımı en fazla, Ciconiiformes, Falconiformes, Columbiformes, Strigiformes ve Bucerotiformes takımları ise en az türle temsil edilmektedir (Şekil 2).

Çizelge 1. Heybeli Gölü kuş türleri ve tehlike durumları

Ordo	Familya	Tür	Göç statüsü	IUCN	Bern	CITES	
PODICIPEDIFORMES	PODICIPEDIDAE	<i>Tachybaptus ruficollis</i>	Y	LC	EKII	-	
		<i>Podiceps nigricollis</i>	Y	LC	EKIII	-	
		<i>Podiceps cristatus</i>	Y	LC	EKII	-	
PELECANIFORMES	ARDEIDAE	<i>Ardea purpurea</i>	YZ	LC	EKII	-	
		<i>Ardea cinerea</i>	Y	LC	EKIII	-	
		<i>Egretta garzetta</i>	YZ	LC	EKII	-	
		<i>Bubulcus ibis</i>	YZ	LC	EKIII	-	
		<i>Ardeola ralloides</i>	T	LC	EKII	-	
		<i>Nycticorax nycticorax</i>	YZ	LC	EKII	-	
		<i>Plegadis falcinellus</i>	YZ	LC	EKII	-	
		<i>Ciconia ciconia</i>	YZ	LC	EKII	-	
		<i>Anas crecca</i>	KZ	LC	EKIII	-	
		<i>Anas platyrhynchos</i>	Y	LC	EKIII	-	
CICONIIFORMES	CICONIIDAE	<i>Spatula clypeata</i>	KZ	LC	EKIII	-	
		<i>Netta rufina</i>	YZ	LC	EKIII	-	
ANSERIFORMES	ANATIDAE	<i>Aythya ferina</i>	Y	VU	EKIII	-	
		<i>Aythya fuligula</i>	KZ	LC	EKIII	-	
		<i>Oxyura leucocephala</i>	YZ	EN	EKIII	-	
		<i>Tadorna ferruginea</i>	Y	LC	EKII	-	
		<i>Tadorna tadorna</i>	Y	LC	EKII	-	
		<i>Buteo buteo</i>	Y	LC	EKII	EKII	
		<i>Buteo rufinus</i>	Y	LC	EKII	EKII	
		<i>Accipiter nisus</i>	Y	LC	EKII	EKII	
		<i>Circus aeruginosus</i>	Y	LC	EKII	EKII	
		<i>Falco tinnunculus</i>	YZ	LC	EKII	EKII	
FALCONIFORMES	FALCONIDAE	<i>Gallinula chloropus</i>	Y	LC	EKIII	-	
		<i>Porphyrio porphyrio</i>	Y	LC	EKII	-	
GRUIFORMES	RALLIDAE	<i>Fulica atra</i>	Y	LC	EKIII	-	
		<i>Himantopus himantopus</i>	YZ	LC	EKII	-	
CHARADRIIFORMES	RECURVIROSTRIDAE	<i>Recurvirostra avosetta</i>	YZ	LC	EKII	-	
		<i>Charadrius dubius</i>	YZ	LC	EKII	-	
	CHARADRIIDAE	<i>Vanellus vanellus</i>	YZ	NT	EKIII	-	
		<i>Gallinago gallinago</i>	T	LC	EKIII	-	
	SCOLOPACIDAE	<i>Tringa totanus</i>	YZ	LC	EKIII	-	
		<i>Larus ridibundus</i>	Y	LC	EKIII	-	
	LARIDAE	<i>Larus armenicus</i>	Y	NT	-	-	
		<i>Chlidonias leucopterus</i>	T	LC	EKII	-	
	COLUMBIFORMES	COLUMBIDAE	<i>Columba livia</i>	Y	LC	EKIII	-
	STRIGIFORMES	STRIGIDAE	<i>Athene noctua</i>	Y	LC	EKII	EKII
CAPRIMULGIFORMES	APODIDAE	<i>Apus apus</i>	YZ	LC	EKIII	-	
		<i>Tachymarptis melba</i>	YZ	LC	EKII	-	
CORACIIFORMES	MEROPIDAE	<i>Merops apiaster</i>	YZ	LC	EKII	-	
		<i>Coracias garrulus</i>	YZ	LC	EKII	-	
BUCEROTIFORMES	CORACIIDAE	<i>Upupa epops</i>	YZ	LC	EKII	-	
PASSERIFORMES	ALAUDIDAE	<i>Melanocorypha calandra</i>	Y	LC	EKII	-	
		<i>Melanocorypha bimaculata</i>	YZ	LC	EKII	-	
		<i>Galerida cristata</i>	Y	LC	EKIII	-	
		<i>Alauda arvensis</i>	Y	LC	EKIII	-	
		HIRUNDINIDAE	<i>Riparia riparia</i>	YZ	LC	EKII	-
			<i>Hirundo rustica</i>	YZ	LC	EKII	-
			<i>Delichon urbicum</i>	YZ	LC	EKII	-
		MOTACILLIDAE	<i>Motacilla flava</i>	YZ	LC	EKII	-
			<i>Motacilla citreola</i>	YZ	LC	EKII	-
			<i>Motacilla cinerea</i>	YZ	LC	EKII	-
		MUSCICAPIDAE	<i>Motacilla alba</i>	Y	LC	EKII	-
			<i>Muscicapa striata</i>	KZ	LC	EKII	-
			<i>Erithacus rubecula</i>	KZ	LC	EKII	-
			<i>Phoenicurus phoenicurus</i>	T	LC	EKII	-
			<i>Saxicola rubetra</i>	YZ	LC	EKII	-
			<i>Saxicola torquatus</i>	YZ	LC	EKII	-
		<i>Oenanthe isabellina</i>	YZ	YZ	EKII	-	
		<i>Oenanthe oenanthe</i>	YZ	YZ	EKII	-	

Ordo	Familya	Tür	Göç statüsü	IUCN	Bern	CITES
	ACROCEPHALIDAE	<i>Acrocephalus arundinaceus</i>	YZ	LC	EKII	-
	PHYLLOSCOPIIDAE	<i>Phylloscopus collybita</i>	YZ	LC	EKII	-
	PANURIDAE	<i>Panurus biarmicus</i>	Y	LC	EKII	-
	PARIDAE	<i>Parus major</i>	Y	LC	EKII	-
	LANIIDAE	<i>Lanius collurio</i>	YZ	LC	EKII	-
	CORVIDAE	<i>Corvus monedula</i>	Y	LC	-	-
		<i>Corvus frugilegus</i>	Y	LC	-	-
		<i>Corvus corone</i>	Y	LC	-	-
		<i>Pica pica</i>	Y	LC	-	-
	STURNIDAE	<i>Sturnus vulgaris</i>	Y	LC	-	-
	PASSERIDAE	<i>Passer montanus</i>	Y	LC	EKIII	-
		<i>Passer domesticus</i>	Y	LC	-	-
	FRINGILLIDAE	<i>Linaria cannabina</i>	Y	LC	EKII	-
		<i>Carduelis carduelis</i>	Y	LC	EKII	-
	EMBERIZIDAE	<i>Emberiza calandra</i>	YZ	LC	EKIII	-
		<i>Emberiza melanocephala</i>	YZ	LC	EKII	-

Y: Yerli, YZ: Yaz Ziyaretçisi, KZ: Kış Ziyaretçisi, T: Transit Göçer, EN:Endangered/Tehlikede, VU:Vulnerable/Hassas, NT: Near Threatened/Tehlikeye yakın, LC:Least Concern/Düşük risk



Şekil 2. Göldeki türlerin takımlara göre yüzdeler oranları

Alanda saptanan türlerin IUCN tehlike kategorileri dikkate alındığında; 1 tür EN "Tehlike altında" (*Oxyura leucocephala*), 1 tür VU "Zarar görebilir=Duyarlı" (*Aythya ferina*) ve 2 tür de NT "Tehdide açık" kategorisinde (*Larus armenicus*, *Vanellus vanellus*) yer almaktadır. Geriye kalan 74 tür ise LC "Asgari endişe=Düşük riskli" kategorisinde bulunmaktadır (IUCN, 2017). Alandaki kuş türleri Bern Sözleşmesi kapsamında değerlendirildiğinde 49 kuş türü EK-II'de; yani "Mutlak Koruma Altındaki Türler" arasında yer

almaktadır. Bu türlerin özellikle Muscicapidae, Accipitridae, Ardeidae ve Motacillidae familyalarında yoğunlaştığı görülmektedir. Diğer taraftan, Bern sözleşmesinin EK-II listesinde yer alan türlerden 16 tanesi Y statüsünde iken 28 tanesi ise YZ olmak üzere farklı tipte göçmen statüsünde bulunmaktadır. Alandaki 22 kuş türünde Bern sözleşmesinin EK III listesinde, CITES sözleşmesine göre de 6 tür EKII listesinde.

Belirlenen 78 türün yayılış alanı ve göç statüleri; Adızel (1998), Adızel ve Durmuş

(2009), Adızel ve ark., (2009)'nın verileriyle uygunluk göstermektedir. Türkiye'de 437'si düzenli, 65'i rastlantısal olmak üzere toplam 502 kuş türü, Van Gölü Havzası'nda ise 68'i yerli olmak üzere 232 kuş türü bulunmaktadır (Kızıroğlu, 2008; Adızel ve ark., 2016). Heybeli Gölü'nün ornitofauna ve biyoekolojik özellikleri göz önüne alındığında önemli bir sulak alan olduğu görülmektedir.

Alanda belirlenen habitat tipleri; açık su yüzeyi, sazlık, bataklık ve çayırılık alanıdır. Heybeli Gölü genel olarak sığ bir göldür. Ancak sazlığa su girişinin olduğu noktalarda su seviyesinde ani yükselmeler görülmektedir. Özellikle yağışlı zamanlarda bu noktalarda akış hızı ve su derinliği artmaktadır. Bu durum özellikle dalarak beslenen Podicipedidae, Anatidae ve Rallidae familyasına ait türlerin beslenmesini sınırlamaktadır. Su kuşlarının habitat tercihi ile ilgili bazı çalışmalarda dalarak beslenen türlerin beslenirken sığ kesimleri tercih ettiği belirtilmektedir (Lantz ve ark, 2011; Sulai ve ark., 2015). Alandaki gözlemlerimiz bu çalışmalarını doğrular niteliktedir.

Kış aylarında göl yüzeyinin neredeyse tamamen donmasına rağmen etrafında bulunan sazlık ve çayırılık alanlar birçok kuş türüne ev sahipliği yapmaktadır. Gölün ortasındaki adacıkta yer alan sazlıkların özellikle alandaki su kuşları için önemli bir üreme alanı olduğu tespit edilmiştir. Dünya çapında nesli tehlike altında olan Dikkuyruk ördek (*Oxyura leucocephala*) ve Elmabaş patka (*Aythya ferina*) alanda kuluçkaya yatan türler arasındadır.

SONUÇ

Heybeli Gölü yüz ölçümü olarak küçük bir göl olmasına rağmen habitat yapısı bakımından özellikle su kuşlarının üremesi açısından oldukça uygun bir alanıdır. Özellikle gölün ortasındaki sazlıklar antropolojik baskı ve predasyon riskinin az olması sebebiyle yuva alanı olarak tercih edilmektedir. Ancak gölün Van-Bitlis karayolunun oldukça yakınında yer alması

avcılarının alanı sıklıkla ziyaret etmesine sebep olmaktadır. Tüm yörede olduğu gibi Heybeli Gölü'nde de yasadışı avcılık faaliyetleri oldukça yaygındır. Ayrıca gölün etrafında tarım arazileri bulunmaktadır. Tarım arazilerine oldukça yakın olması da bir dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle ekim ve hasat zamanında uygulanan yoğun tarımsal faaliyetler kuşları tedirgin etmektedir. Göl çevresindeki hayvancılık ve otlatma faaliyetleri de zaman zaman göle ve sazlıklara zarar verecek boyuta ulaşmaktadır. Bütün bu olumsuzluklara rağmen gölde konaklayan yerli tür sayısının oldukça fazla olması alanın habitat zenginliğinin bir göstergesidir. Dikkuyruk ördek ve Elmabaş patka gibi nesli dünya çapında tehlike altında olan türlerin bu alanda kuluçkaya yatıyor olması alanın önemini arttırmaktadır. Ancak su kuşlarının kuluçkaya yattığı sazlık alanlar kontrolsüz şekilde yakılmakta ve tahrip edilmektedir. Bütün bu veriler alanın bir an önce yasal koruma statüsüne kavuşturulmasının gerekliliğini vurgulamaktadır.

KAYNAKLAR

- Adızel Ö, 1998. Van Gölü Havzası Ornitofaunası Üzerine Araştırmalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Doktora Tezi, 242 s.
- Adızel Ö, Durmuş A, 2009. A Study on Bird Species Under Threat and Avifauna of Erçek Lake (Van-Turkey). Scientific Research and Essay, 4 (10):1006-1011.
- Adızel Ö, Durmuş A, Kızıroğlu İ, 2009. Preliminary study on newly detected Yaylıyaka Marshes in the Lake Van Basin, Turkey. The Journal of Animal and Plant Sciences, 20(4):286-292.
- Adızel Ö, Durmuş A, Kızıroğlu İ, 2016. Lake Van Basin Types of Bird Species. V. International Eurasian Ornithology Congress, 10-13 May, Çanakkale.

- Anonim, 1993. Türkiye'nin Sulak Alanları. Türkiye Çevre Vakfı Yayınları, Ankara, 398s.
- Anonim, 2017. Bitlis İli 2017 Yılı Çevre Durum Raporu.
http://webdosya.csb.gov.tr/db/ced/icerikler/b-tl-s_cdr2017-20181011142542.pdf.
(Erişim tarihi: 26.11.2018).
- Bibby CJ, Burgess ND, 1992. Bird Census Techniques. Academic Press Limited, London, 257pp.
- Bilgin C, Akçakaya HR, 1987. Türkiye'nin Biyolojik Zenginlikleri. Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayını, 316s Ankara.
- Eken G, Bozdoğan M, İsfendiyaroğlu S, Kılıç DT, Lise Y, 2006. Türkiye'nin Önemli Doğa Alanları. Mas Matbaacılık, 699s. Ankara.
- Dobinson HM, 1976. Bird Count, A Practical Guide to Bird Survey. Keztrell Books, Published by Penguin Books Ltd. Hormondsworth, Middlesex, 192pp.
- Green I, Moorhouse N, 1995. A Birdwatchers' Guide to Turkey. Bird Watcher's Guides Prion Ltd., England, 122pp.
- Harrison C, Greensmith A, 2000. Birds of the World. A. Dorling Kindersley Book, 416 pp., London.
- Heinzel H, Fitter R, Parsiov J, 1995. Türkiye ve Avrupa'nın Kuşları. Doğal Hayatı Koruma Derneği Yayını, İstanbul, 384s.
- IUCN, 2017. The International Union for Conservation of Nature Red List of Threatened Species.
<http://www.iucnredlist.org>. (Erişim tarihi: 26.11.2018).
- Khan MS, Pant A, 2017. Conservation status, species composition, and distribution of Avian Community in Bhimbandh Wildlife Sanctuary, India. Journal of Asia Pacific Biodiversity, 10:20-26.
- Kızıroğlu İ, 2008. Türkiye Kuşları Kırmızı Listesi. Desen Matbaası, Ankara, 148s.
- Lantz SM, Gawlik DE, Cook MI, 2011. The effects of water depth and emergent vegetation on foraging success and habitat selection of wading birds in the Everglades. Waterbirds, 34:439-447.
- Seçmen Ö, Leblebici E, 1997. Türkiye Sulak Alan Bitkileri ve Bitki Örtüsü. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Yayın no:158, İzmir, 405s.
- Sezen J, 2017. Türkiye ve Dünyada Korunan Alanlara Yönelik Çevre Bilincinin Önemi. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Dergisi, 2(2):165-177.
- Sulai P, Nurhidayu S, Aziz N, Zakaria M, Barclay H, Azhar B, 2015. Effects of water quality in oil palm production landscapes on tropical waterbirds in Peninsular Malaysia. Ecological Research, 30:941-949. Svensson L, Mullarney K, Grant PJ, Zetterstrom D, 2011. Collins Bird Guide The Most Complete Guide to The Birds of Britain and Europe. Harper Collins, UK, 392 pp.

Mammals of Gala Lake National Park

Beytullah ÖZKAN^{1*}

ABSTRACT: Gala Lake National Park (GLNP) consists of terrestrial and aquatic ecosystems covering 6.087 hectares of area in Enez and İpsala district boundaries of Edirne province. Extensive field studies were performed on mammals within the boundaries of GLNP for 26 days from 29 July to 07 November 2016. A total of 44 mammalian species from 16 families within 6 orders were determined in the studied area and an up-to-date inventory of mammals was prepared. *Myocastor coypus* (coypu) were detected as an invasive species in the region.

Keywords: Gala lake national park, mammalia, Enez, İpsala, Edirne, Thracia

Gala Gölü Milli Parkı Memelileri

ÖZET: Gala Gölü Milli Parkı Edirne iline bağlı Enez ve İpsala ilçe sınırları içerisinde yer alan, 6.087 ha alanı kaplayan karasal ve sulak ekosistemlerden oluşmaktadır. Gala Gölü Milli Parkı sınırları içerisinde memeli hayvanlar üzerine 29 Temmuz – 07 Kasım 2016 tarihleri arasında 26 günlük kapsamlı arazi çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonunda memeli hayvanların güncel envanteri yapılarak Gala Gölü Milli Parkı sınırları içerisinde 6 takım, 16 familyaya ait toplam 44 memeli türünün bulunduğu tespit edilmiştir. Bölgede istilacı tür olarak *Myocastor coypus* (su maymunu) tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gala gölü milli parkı, memeli, Enez, İpsala, Edirne, Trakya

INTRODUCTION

Gala Lake National Park (GLNP) is located in district borders of Enez and İpsala in Edirne and covers an area of 6.087ha including aquatic (stagnant water bodies and marshes) and terrestrial (forest and agricultural areas and meadows) ecosystems (Figure 1). The mammalian species living in and around GLNP have been determined with a numerous studies performed in the region (Spitzenberger, 1968; Kurtonur, 1972; Dođramacı, 1974; Ağşa, 1975; Kumerloeve, 1975; Kurtonur 1975; Kurtonur 1982; Turan, 1984; Özkan, 1987; Albayrak, 1988; Kıvanç, 1988; Kurtonur and Özkan, 1990; Kurtonur and Özkan, 1991; Kurtonur et al., 1994; Özkan and Kurtonur, 1994; Civitelli et al., 1995; Filippucci et al., 1995; Özkan, 1995; Kurtonur et al., 1996; Kryštufek et al., 1997; Benda and Horacek, 1998; Albayrak, 1999; Mitchell-Jones et al., 1999; Özkan, 1999; Özkan and Kryštufek, 1999; Çolak et al., 2000; Buruldađ and Kurtonur 2001; Kryštufek and Vohralik, 2001; Özkan et al., 2003; Yiđit et al., 2003; Çolak et al., 2005; Kryštufek and Vohralik, 2005; Özkan, 2006a; Özkan, 2006b; Yiđit et al., 2006; Paksuz et al., 2007; Paksuz and Özkan, 2008; İlker et al., 2009; Kryštufek and Vohralik, 2009; Kryštufek et al., 2009; Anonim, 2010a; Anonim, 2010b; Dođan, 2010; Paksuz and Özkan, 2011; Gruychev, 2012; Paksuz and Özkan, 2012; Anonim, 2014; Özkan and Paksuz, 2015; Anonim, 2016; Gruychev, 2017; Chloe and Legakis, 2016). However, a through investigation of some of these studies revealed that some mammals were lacking in the species lists reported and that some species which are hard to be present in the region were reported to occur here, showing the necessity of a detailed and updated inventory of mammals of the region.

The present study was performed in order to determine the current status of mammalian species present in aquatic and terrestrial ecosystems of GLNP. Field studies were performed in the region and the findings of these

studies, in addition to the data obtained from previous literature, were used in preparation of an inventory to obtain an updated list of mammalian species living in the region.

MATERIAL AND METHOD

Different field study techniques depending on the type of the ecosystem monitored were used. Live traps were used for small sized mammals and photo traps (Bushnell Trophy Cam HD Aggressor Brown Model 119776) for used for medium and large sized mammals. Nets were used as the primary source of equipment for bats but a bioacoustics recording device (Wildlife Song Meter SM4BAT FS Bioaccustics Recorder) was also used for bats in the region for the first time. Species and their habitats were photographed and monitored using binoculars when possible. Individuals accidentally and/or naturally died along roads and/or in the field, nests, shelters, feces and any type of clues, e.g. hair, residues of eaten vegetation, left behind by travelling individuals were also considered. Previous studies and questionnaires with local people in the region were evaluated (see Figure 1).

The different ecosystem types in GLNP were visited during daytime and night to trap alive mammalian specimens with relevant techniques. The identifications of each individual were determined on site, their body size measurements were taken, biological and ecological notes were taken in detail and all were released in the field. The GPS data of sampling sites were also noted and determined species were evaluated considering their international and national conservation statuses.

RESULTS AND DISCUSSION

The field studies in GLNP and evaluation of available literature revealed presence of 44 mammalian species within 29 genera, 16 families in 6 orders (Tables 1 and 2). The distribution of the species with respect to families and orders were given in Tables 1 and 2.

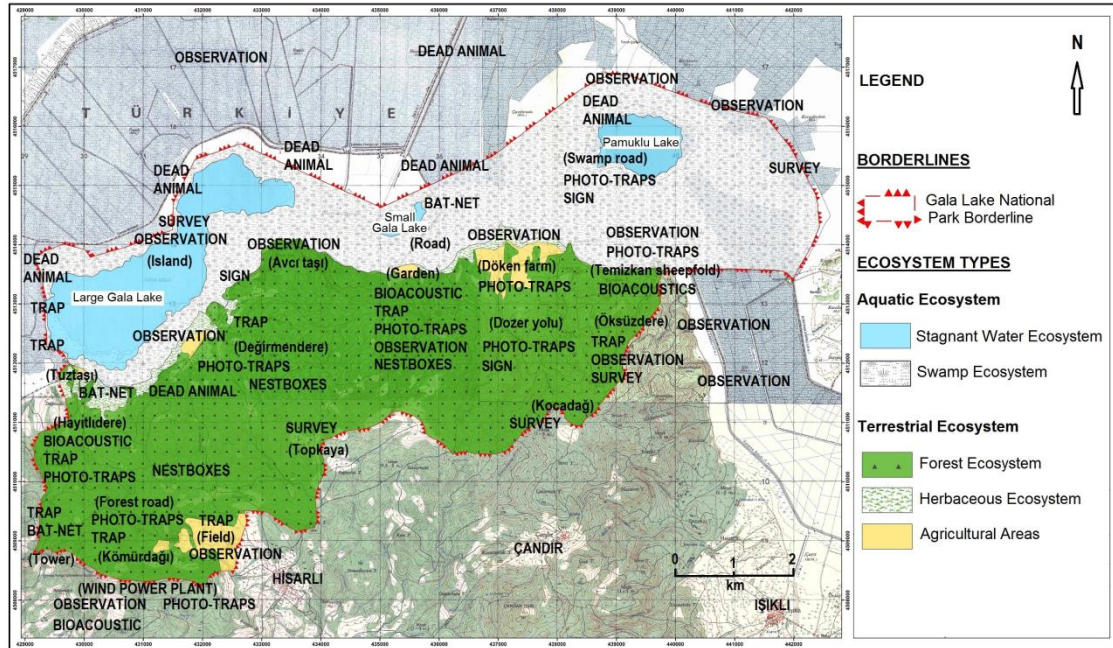


Figure 1. The localities visited in GLNP during the field studies. The techniques used to trap mammalian specimens were shown on the map (Modified from Anonymous (2016)).

Table 1. Mammals of GLNP and their international and national conservation statuses [MFWA= Ministry of Forestry and Water Affairs (App II = Specified Hunting Animals by the Ministry of Forestry and Water World, App III = Wild Animals Protected by the Ministry of Forestry and Water World)].

Order	Family	Genus	Species	CITES	IUCN	BERN	MFWA
1- EULIPOTYPHLA (Insectivorous)	3	3	4	-	LC=4	APP-II =1 APP-III=1	AppIII=4
2- CHIROPTERA (Bats)	2	6	14	-	LC=11 VU=3	APP-II = 13 APP-III = 1	AppIII=14
3- LAGOMORPHA (Rabbit and Hares)	1	1	1	-	LC=1	APP- III = 1	-
4- RODENTIA (Rodents)	6	10	14	-	LC=11 VU=1 NT=1 DD=1	APP-III = 3	AppIII=5
5- CARNIVORA (Carnivores)	3	9	10	APP-1=1 APP-2=2	LC=8 VU=1 NT=1	APP-II=4 APP-III=4	App II=4 AppIII=6
6- ARTIODACTYLA (Even-toed ungulate)	1	1	1	-	LC=1	APP-III=1	App II=1
Total	16	30	44	APP-1=1 APP-2=2	LC=36 VU=5 NT=2 DD=1	APP-II=18 APP-III=11	App II=5 AppIII=27

Table 2. The mammalian species determined in GLNP and their international and national conservation statuses [OT = Observation Types (1 – Direct observation (direct observation of itself), 2 – Indirect observation (Trace, evidence etc.), 3 – Verified survey + literature), T = Trap, BN = Bat-Net, BR = Bioacoustic Record, PT = Photo-Traps. MFWA= Ministry of Forestry and Water Affairs (App II = Specified Hunting Animals by the Ministry of Forestry and Water World, App III = Wild Animals Protected by the Ministry of Forestry and Water World)].

Order	Family	Common name in Turkish	Common name in English	Scientific name	Density	Endemic	CITES	IUCN	BERN	MFWA	*OT
EULIPOTYPHLA (Insectivorous)	Erinaceidae (Hedgehogs)	Kirpi	Northern white breasted hedgehog	<i>Erinaceus roumanicus</i> Barret-Hamilton, 1900	Rare	-	-	LC	-	App III	1
	Talpidae (Moles)	Köstebek	Common mole	<i>Talpa europaea</i> Linnaeus, 1758	Unknown	-	-	LC	-	App III	1; 2
	Soricidae (Shrews)	Beyazdişli Küçük Böcekçil	Lesser white toothed shrew	<i>Crocidura suaveolens</i> (Pallas, 1811)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	1 (T)
		Beyazdişli Böcekçil	Bi-coloured white-toothed shrew	<i>Crocidura leucodon</i> (Hermann, 1780)	Unknown	-	-	LC	APP III	App III	1 (T)
CHIROPTERA (Bats)	Rhinolophidae (Horseshoe bats)	Nalburunlu Büyük yarasa	Greater horseshoe bat	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i> (Schreber, 1774)	Unknown	-	-	LC	APP III	App III	1, 3 (BN)
		Mehely Yarçasası	Mehely's horseshoe bat	<i>Rhinolophus mehelyi</i> Matschie, 1901	Unknown	-	-	VU	APP II	App III	1; 3 (BN)
	Vespertilionidae (Vesper bats)	Uzunayaklı Yarasa	Long-fingered bat	<i>Myotis capaccinii</i> (Bonaparte, 1837)	Unknown	-	-	VU	APP II	App III	1; 2 (BN)
		Su Yarçasası	Dabenton's bat	<i>Myotis daubentoni</i> (Kuhl, 1817)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	1; 2 (BR)
		Beyazyakalı Yarasa	Kuhl's pipistrelle	<i>Pipistrellus kuhlii</i> (Kuhl, 1819)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	1; 2 (BR)
		Pürtüklü Cüce Yarasa	Nathusius' pipistrelle	<i>Pipistrellus nathusii</i> (Kayserling & Blasius, 1839)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	1; 2 (BR)
		Bayağı Cüce Yarçasası	Common pipistrelle	<i>Pipistrellus pipistrellus</i> (Scheber, 1774)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	1; 2 (BR)
		Akdeniz Cüce Yarasa	Soprano pipistrelle	<i>Pipistrellus pygmaeus</i> (Leach, 1825)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	1; 2 (BR)

Order	Family	Common name in Turkish	Common name in English	Scientific name	Density	Endemic	CITES	IUCN	BERN	MFWA	*OT
		Büyük Akşamcı Yarasa	Greater noctula	<i>Nyctalus lasiopterus</i> (Schreber, 1780)	Unknown	-	-	VU	APP II	App III	2 (BR)
		Küçük Akşamcı Yarasa	Leisler's bat	<i>Nyctalus leisleri</i> (Kuhl, 1817)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	2 (BR)
		Akşamcı Yarasa	Noctula	<i>Nyctalus noctula</i> (Schreber 1774)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	2 (BR)
		Genişkanatlı Yarasa	Serotina	<i>Eptesicus serotinus</i> Schreber, 1774	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	2 (BR)
		Kahverengi Uzunkulaklı Yarasa	Brown long-eared bat	<i>Plecotus auritus</i> (Linnaeus, 1758)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	2 (BR)
		Kahverengi Uzunkulaklı Yarasa	Grey long-eared bat	<i>Plecotusa austriacus</i> (Linnaeus, 1758)	Unknown	-	-	LC	APP II	App III	3
LAGOMORPHA (Rabbits and Hares)	Leporidae (Hares)	Kır Tavşanı, Yabani Tavşan	Brown hare	<i>Lepus europaeus</i> (Pallas, 1778)	Middle	-	-	LC	APP III	App II	1; 2 (PT)
	Sciuridae (Squirrels)	Avrupa Sincabı	Red squirrel	<i>Sciurus vulgaris</i> Linnaeus, 1758	Rare	--	-	LC	APP III	App III	1; 3
		Gelengi, Kazıksıçanı	European souslik	<i>Spermophilus citellus</i> (Linnaeus, 1766)	Middle	--	-	VU	APP III	App III	1
	Cricetidae (Voles)	Uzunkuyruklu Çayır Faresi	Sibling vole	<i>Microtus levis</i> Ognev, 1924	Unknown	-	-	LC		-	2
		Tarla Faresi	Guenther's vole	<i>Microtus guentheri</i> (Danford and Alston, 1880)	Unknown	-	-	LC		-	2
RODENTIA (Rodents)	Spalacidae (Mole rat)	Körfare	Lesser mole rat	<i>Nannospalax leucodon</i> (Nordmann, 1840)	Common	-	-	DD		-	1; 3
	Muridae (Rats and mice)	Hasat Faresi	Harvest mouse	<i>Micromys minutus</i> (Pallas, 1771)	Unknown	-	-	NT		App III	1; 3
		Orman Faresi	Yellow-necked mouse	<i>Apodemus flavicollis</i> (Melchior, 1834)	Common	-	-	LC		-	1; 2 (T)
		Tarla faresi	Wood mouse	<i>Apodemus sylvaticus</i> (Linnaeus, 1758)	Common	-	-	LC		-	1 (T)
		Ev Sıçanı	Black rat	<i>Rattus rattus</i> (Linnaeus, 1758)	Rare	-	-	LC	-	-	1; 3
		Göçmen Sıçan	Brown rat	<i>Rattus norvegicus</i> (Berkenhout, 1769)	Rare	--	-	LC	-	--	1; 3 (T)

Mammals of Gala Lake National Park

Order	Family	Common name in Turkish	Common name in English	Scientific name	Density	Endemic	CITES	IUCN	BERN	MFWA	*OT
		Makedonya Ev Faresi	Balkan short-tailed mouse	<i>Mus macedonicus</i> Petrov & Ruzic, 1983)	Middle	-	-	LC	-	-	1 (T)
		Ev faresi	Western house mouse	<i>Mus domesticus</i> Rutty, 1772	Rare	-	-	LC	-	-	1 (T)
	Gliridae (Dormouses)	Ağaç Faresi, Cevizkiran	Forest mouse	<i>Dryomys nitedula</i> (Pallas, 1779)	Middle	-	-	LC	APP III	App III	1 (T)
	Myocastoridae (Coypus)	Su Maymunu	Coypu	<i>Myocastor coypus</i> (Molina, 1758)	Common	-	-	LC	-	App III	1 (PT)
CARNIVORA (Carnivores)	Canidae (Canids)	Kurt	Wolf	<i>Canis lupus</i> Linnaeus, 1758	Unknown	-	APP 2	LC	APP II	App III	3
		Çakal	Golden jackal	<i>Canis aureus</i> Linnaeus, 1758	Middle	-	-	LC	-	App II	2; 3 (PT)
		Tilki	Vulpes	<i>Vulpes vulpes</i> (Linnaeus, 1758)	Common	-	-	LC	-	App II	1; 2; 3 (PT)
	Mustelidae (Martens)	Kaya Sansarı	Beech marten, Stone marten	<i>Martes foina</i> (Erxleben, 1777)	Middle	-	-	LC	APP III	App II	2 (PT)
		Porsuk	Badger	<i>Meles meles</i> (Linnaeus, 1758)	Middle	-	-	LC	APP III	App II	2 (PT)
		Su Samuru	Otter	<i>Lutra lutra</i> (Linnaeus, 1758)	Rare	-	APP 1	NT	APP II	App III	2 (PT)
		Gelincik	Weasel	<i>Mustela nivalis</i> Linnaeus, 1766	Rare	-	-	LC	APP III	App II	3
		Kokarca	Western polecat	<i>Mustela putorius</i> Linnaeus, 1758	Rare	-	-	LC	APP III	App II	3
		Alaca Kokarca	Marbled polecat	<i>Vormela peregusna</i> (Guldenstaedt, 1770)	Unknown	-	-	VU	APP II	App III	3
		Felidae (Cats)	Yaban Kedisi	Wildcat	<i>Felis silvestris</i> Schreber, 1777	Rare	-	APP 2	LC	APP II	App III
ARTIODACTYLA (Even-toed ungulate)	Suidae (Pigs)	Yaban Domuzu	Wildboar	<i>Sus scrofa</i> Linnaeus, 1758	Common	-	-	LC	-	App II	1; 2 (PT)
6	16		30 genera and 44 species		Rare=9 Middle=7 Common=6 Unknown=22	-	APP 1=1 APP 2=2	LC=36 VU=4 NT=3 DD=1	APP II =18 APP III=11	App II=5 App III=29	

CONCLUSION

The mammalian fauna of Turkey is represented with 172 species and 70 of these species (40.1%) lives in Thrace region, 52 (30.2%) in provincial borders of Edirne and 44 (25.5%) in GLNP (Kumerlove, 1975; Özkan, 1987; Kurtonur et al., 1996; Kryštufek et al., 1997; Mitchell-Jones et al., 1999; Kryštufek and Vohralik, 2001; Kryštufek and Vohralik, 2005; Çolak et al., 2005; Yiğit et al., 2006; Kryštufek and Vohralik, 2009; Kryštufek et al., 2009; Anonim, 2010a; Anonim, 2010b; Anonim, 2014; Anonim, 2016).

The international and national conservation statuses of these 44 species were given in Table 2.

Apodemus flaviollis (yellow-necked mouse) is one of the most common small mammal seen during the field studies in the terrestrial ecosystems (Doğramacı, 1974; Çolak et al., 2005; Anonim, 2014; Anonim, 2016).

Myocastor coypus (coypu) was determined to be an invasive species in GLNP (Özkan, 1999; Anonim, 2016). The population size of this species in Maritza River basin, GLNP and related wetlands such as lakes, ponds, streams, channels etc. was determined to increase leading to economic and ecological losses in agricultural rice fields and wetlands by consuming rice seedlings, reeds and aquatic plants in huge amounts. The harm given to wetland vegetation indirectly and irreversibly affected bird nesting and breeding sites and breeding areas of fish populations in lakes.

A detailed study on impacts of coypu in GLNP is planned to be implemented in near future.

The questionnaires showed that the roe deer *Capreolus capreolus* was completely removed from the region by 1984 as a result of hunting activities and habitat destructions.

Personal observations in the region during the study showed that a huge amount of grazing

due to stock farming and sheep and goat farming is taking place.

The region located underside parts of wind power plants established in Hisar Mountain in the southern border of GLNP were monitored for the presence of dead bats but no death individual was encountered during the monitoring leading us to conclude that the wind turbines used had no negative effect on bats of GLNP.

REFERENCES

- Ağşa L, 1975. Su Maymunu. Av Dergisi 8: 3-4.
- Albayrak İ, 1988. Batı Türkiye Yarasa ve Yarasa Pireleri. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu. TBAG-663. 80 sayfa.
- Albayrak İ, 1999. Fauna: Su samuru, ATLAS-Yeşil Atlas, 2: 82-83.
- Anonim 2010a. Gala Gölü Milli Parkı Uzun Devreli Gelişme Planı Analitik Etüt Raporu. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü. Belde Proje ve Danışmanlık Ticaret Limited Şirketi – Ankara. 581 sayfa.
- Anonim 2010b. Gala Gölü Milli Parkı Uzun Devreli Gelişme Planı Sentez Raporu. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü. Belde Proje ve Danışmanlık Ticaret Limited Şirketi – Ankara. 70 sayfa.
- Anonim 2014. Edirne İlinin Karasal ve İç Su Ekosistemleri Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi. Orman ve Su İşleri III. Bölge Müdürlüğü / Edirne Şube Müdürlüğü, Edirne. 783 sayfa.
- Anonim 2016. Gala Gölü Milli Parkı'nın Flora, Fauna ve Vegetasyon Tespiti. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Müdürlüğü I. Bölge Müdürlüğü, Edirne Şube Müdürlüğü. 265 sayfa.
- Benda P, Horacek I, 1998. Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean. Part 1. Review of distribution and taxonomy of bats in Turkey. Acta Societatis Zoologicae Bohemicae 62: 255-313.
- Buruldağ E, Kurtonur C, 2001. Hibernation and Postnatal Development of the Mouse-Tailed Dormouse, *Myomimus roachi* Reared Outdoor's in a Cage. Trakya University Journal of Scientific Research Series B, 2 (2): 179-186.

- Chloe A, Legakis A, 2016. First account on the occurrence of selected invasive alien vertebrates in Greece. *Bio Invasions Records*, 5 (4): 189–196.
- Civitelli MV, Filippucci MG, Kurtonur C, Özkan B, Capanna E, 1995. Chromosome analysis of three species of Myoxidae. In: Filippucci M. G. (ed). Proc. II. Conf. On Dormice. *Hystrix* (n.s.) 6 (1–2) : 117 - 126.
- Çolak E, Yiğit N, Sözen M, Verimli R, Özkurt ÖŞ, 2000. On coloration and karyology of *Vormela peregusna*, in Turkey, *Zoology in the Middle East*, 21: 13-18.
- Çolak R, Çolak E, Yiğit N, 2005. Morphometric, Karyotypic and Electrophoretic Analysis of the Genus *Apodemus* Kaup, 1826 (Mammalia: Rodentia) in Thrace. *Turkish Journal of Zoology*, 29 (2): 147-153.
- Doğan M, 2010. Trakya’da Yayılış Gösteren *Microtus* (Mammalia; Rodentia) Türlerinin Morfolojik Özellikleri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü 1-57. Ankara (Yüksek Lisans Tezi).
- Doğramacı S, 1974. Türkiye *Apodemus* (Mammalia; Rodentia)’larının Taksonomik Durumları. Tarım Hayvancılık Bakanlığı Zirai Mücadele Müdürlüğü Araştırma, 1-56.
- Filippucci MG, Kryštufek B, Simson S, Kurtonur C, Özkan B, 1995. Allozymic and Biometric Variation in *Dryomys nitedula* (Pallas, 1778). In: Filippucci M.G. (ed.). Proc. II Conf. on Dormice. *Hystrix*. (n.s.) 6 (1-2): 127 - 140.
- Gruychev G, 2012. New Record of *Nutria* (*Myocastor coypus* (Molina, 1782)) Downstream of The Maritsa River in Bulgaria. *Forestry Ideas* vol. 18 (1): 110-112.
- Gruychev G, 2017. Distribution And Density Of Coypu (*Myocastor Coypus* (Molina, 1782)) In Downstream Of Maritsa River Southeast Bulgaria. *Forestry Ideas*, 23 (1): 77-81.
- İlker A, Arslan A, Pamukoğlu N, Albayrak İ, 2009. C-Banded karyotype of *Myocastor coypus* (Molina, 1782) from Turkey (Mammali: Rodentia). *Folia Biologica*, 57: 33–36.
- Kıvanç E, 1988. Türkiye *Spalax*’larının Coğrafik Varyasyonları (Mammalia; Rodentia). Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 88 pp. (Doktora tezi).
- Kryštufek B, Vohralik V, 2001. Mammals of Turkey and Cyprus. Introduction, Checklist, Insectivora. Knjiznica Anneles Majora. 140 pp. Koper, Slovenia.
- Kryštufek B, Vohralik V, 2005. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia I: Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae. Knjiznica Anneles Majora. 292 page, Koper, Slovenia.
- Kryštufek B, Vohralik V, 2009. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia II: Cricetinae, Muridae, Spalacidae, Calomyscidae, Capromyidae, Hysticidae, Castoridae. Knjiznica Anneles Majora, 372 pp. Koper, Slovenia.
- Kryštufek B, Murariu D, Kurtonur C, 1997. Present distribution of the Golden Jackal *Canis aureus* in the Balkans and adjacent regions. *Mammal Review*, 27(2): 109-114.
- Kryštufek B, Tvrtkovic N, Paunovic M, Özkan B, 2009. Size variation in the Northern white-breasted hedgehog *Erinaceus roumanicus*: latitudinal cline and the island rule. *Mammalia*, 73: 299–306.
- Kumerlove H, 1975. Die Säugetierte (Mammalia) der Turkei. Veröffentlichungen der Zoologischen Staatssammlung München, 18: 69-158.
- Kurtonur C, 1972. Trakya Rodentia'ları Üzerinde Taksonomik Bir Araştırma. İstanbul Üniversitesi. 69 sayfa. (Doktora Tezi).
- Kurtonur C, 1975. New Records of Thracian Mammals. *Säugetierkundliche Mitteilungen*, 23 (1): 14 - 16.
- Kurtonur C, 1982. Trakya Glirid Türleri (Rodentia; Gliridae). -Dağılımı, Habitat, Taksonomik Karakterler- İstanbul Üniversitesi. 70 Sayfa (Doçentlik Tezi).
- Kurtonur C, Kryštufek B, Özkan B, 1994. The European polecat (*Mustela putorius*) In Turkish Thrace. *Small Carnivore Conservation*. (IUCN), 11: 8 – 10.
- Kurtonur C, Özkan B, 1990. Orman Ağaç Faresi *Dryomys nitedula* (Rodentia: Gliridae)'nın Trakya'daki Dağılımı ve Üreme Mevsimi. X. Ulusal Biyoloji Kongresi, 18 - 20 Temmuz 1990, Erzurum.
- Kurtonur C, Özkan B, Albayrak İ, Kıvanç E, Kefelioğlu H, 1996. Memeliler (Mammalia); Türkiye Omurgalılar Tür Listesi. Editör: Kence, A., Bilgin, C. C. : DPT/TBAG - Çevre Seksiyonu 3. 1-23. Ankara.

- Kurtonur C, Özkan B, 1991. New Records of *Myomimus roachi* (Bate, 1937) From Turkish Thrace (Mammalia: Rodentia: Gliridae). *Senckenbergiana Biologica*, 71: 239 - 244.
- Mitchell-Jones AJ, Amori G, Bogdanowicz W, Kryštufek B, Reijnders PJH, Spitzenberger F, Stubbe M, Thissen JBM, Vohralik V, Zima J, 1999. The Atlas of European Mammals. The Academic Press, London. 496 pp.
- Özkan B, Kryštufek B, 1999. Wood Mice, *Apodemus* of Two Turkish Island: Gökçeada and Bozcaada, *Folia Zoologica*, 48 (1): 17-24.
- Özkan B, Kurtonur C, 1994. Trakya Bölgesi'nde *Myocastor coypus* (Molina, 1782) (Sümaymunu) (Rodentia: Mammalia)'a Ait İlk Kayıt. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, 6 - 8 Temmuz 1994, Edirne.
- Özkan B, Paksuz S, 2015. Yeryediuyuru (*Myomimus roachi*) Tür Koruma Eylem Planı. Orman ve Su İşleri Bölge Müdürlüğü Edirne Şube Müdürlüğü. 110 sayfa.
- Özkan B, 1987. Edirne Kemiricileri. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. 39 sayfa (Yüksek Lisans Tezi).
- Özkan B, 1995. Gökçeada ve Bozcaada Adalarının Kemiricileri. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. 156 sayfa (Doktora Tezi).
- Özkan B, 1999. Invasive coypus, *Myocastor coypus* (Molina; 1782) in European part of Turkey. *Israel Journal of Zoology*, 45: 289-291.
- Özkan B, 2006a. An Observation on the Reproductive Biology of *Glis glis* (Linnaeus, 1766) (Rodentia; Gliridae) and Body Weight Gaining of Pups in the Istranca Mountains of Turkish Thrace. *International Journal of Zoological Research*, 2 (2): 129-135.
- Özkan B, 2006b. Trakya Bölgesinde Yaban Kedisi (*Felis silvestris* Schreber, 1775)'in Dağılımı. 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, AYDIN.
- Özkan B, Yiğit N., Çolak E. 2003. A study on *Micromys minutus* Pallas, 1771 (Mammalia: Rodentia) in Turkish Thrace. *Turkish Journal of Zoology*. 27: 55-60.
- Paksuz S. Özkan B, 2008. Istranca Ormanlarının Yarasa Faunası. XIX. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2008, Trabzon.
- Paksuz S, Özkan B, 2011. New Distribution Records and Some Notes for Greater Noctule, *Nyctalus lasiopterus* (Mammalia: Chiroptera) from Turkey. *Acta Zoologica Bulgarica*, 63 (2): 217-220.
- Paksuz S, Özkan B, 2012. The protection of the bat community in the Dupnisa Cave System, Turkey, following opening for tourism. *Fauna & Flora International, Oryx*, 46 (1): 130-136.
- Paksuz S, Özkan B, Postawa T, 2007. Seasonal Changes of Cave-dwelling Bat Fauna and Their Relationship with Microclimate in Dupnisa Cave System (Turkish Thrace). *Acta Zoologica Cracoviensia, Series A: Vertebrata*, 50 (1-2): 57-66.
- Spitzenberger F, 1968. Zur Verbreitung und Systematik Türkischer Soricinae (Insectivora, Mamm.). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 72: 273-289.
- Turan N, 1984. Türkiye'nin Av ve Yaban Hayvanları – Memeliler. Ogun Kardeşler Matbaacılık Sanayii, Ankara, 178 sayfa.
- Yiğit N, Çolak E, Çolak R, Özkan B, Özkurt ÖŞ, 2003. On the Turkish Populations of *Dryomys nitedula* (Pallas, 1779) and *Dryomys laniger* Felten and Storch, 1968 (Mammalia: Rodentia). *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 49 (Supl. 1), pp. 147-158.
- Yiğit N, Çolak E, Sözen M, Karataş A, 2006. Rodents of Türkiye (Türkiye Kemiricileri). (Ed. Ali Demirsoy). *Meteksan*, Ankara. 1-15

Karbondetraklorür'ün Neden Olduğu Sıçan Böbrek Dokusu Hasarlarına Karşı Kuersetin'in Koruyucu Etkisi

Hurrem TURAN AKKOYUN^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, sıçan böbrek dokusunda karbondetraklorür'ün neden olduğu hasara karşı kuersetin'in etkisi araştırıldı. Çalışmada ağırlıkları yaklaşık (200-300) gr ağırlığında 28 adet yetişkin wistar albino sıçan kullanıldı ve dört gruba ayrıldı. 3 günlük uygulamayı takiben sıçanlar anestezi altına alınarak böbrek dokuları alındı. Böbrek dokusunda SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri ve (8-OHdG) düzeyi değerlendirildi. SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri değerlendirildiğinde, kontrol grubuna oranla CCl₄ uygulanan grupta enzim aktivitesinde azalış, CCl₄ grubuna oranla CCl₄ + kuersetin uygulaması yapılan grupta enzim aktivite düzeyinde artış olduğu belirlendi. Çalışmada, karbondetraklorüre maruz kalan sıçanların böbrek dokusunda 8-OHdG düzeyi değerlendirildiğinde; kontrole oranla karbondetraklorür uygulanan grupta artma, yine kontrole oranla karbondetraklorür + kuersetin uygulanan grupta ise artma, karbondetraklorür grubuna oranla ise karbondetraklorür + kuersetin uygulanan grupta düşme olduğu gözlemlendi. Kuersetinin, CCl₄ tarafından indüklenen böbrek doku hasarı üzerine koruyucu etkisinin olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Böbrek hasarı, Karbondetraklorür, Kuersetin, Koruyucu etki, Oksidatif stres

The Protective Effect of Quercetin Against to Renal Tissue Damage Induced Carbontetrachloride in Rat

ABSTRACT: In this study, the protective effect of quercetin against to the renal tissue damage caused by carbontetrachloride in rat was investigated. It was used 28 adults wistar albino rats weighing approximately 200-300 gr and were divided into four groups. Following 3 days of intraperitoneal application, rats were anesthetized and kidney tissues were taken. As biochemical parameters, SOD, CAT, GPx activities and (8-OHdG) levels were evaluated in renal tissue. When SOD, CAT, GPx enzyme activity was evaluated, decrease in enzyme activity in CCl₄ group class with control group and increase in enzyme activity in CCl₄ + quercetin group class with CCl₄ group was determined. In this study, when 8-OHdG level of kidney tissue exposed to carbontetrachloride was evaluated; In the group treated with carbontetrachloride compared to the control, it was observed that the increase in the group of carbontetrachloride + quercetin compared to the control and the decrease in the group of carbontetrachloride + quercetin compared to the carbontetrachloride group. It was concluded that quercetin had protective effect on CCl₄-induced kidney tissue damage.

Keywords: Renal damage, Carbontetrachloride, Quercetin, Protective effect, Oxidative stress

¹Hurrem TURAN AKKOYUN (Orcid ID: 0000-0002-4547-8003), Siirt Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Veteriner Fakültesi, Fiziyojoloji Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hurrem TURAN AKKOYUN, e-mail: turanakkoyun@hotmail.com

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makale yer alan hayvan deneyi için "Bingöl Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı"nın Tarih: 04.10.2018 Toplantı Sayısı: 2018/08 ve Karar Sayısı: 08/01 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

Geliş tarihi / *Received*: 28.10.2018
Kabul tarihi / *Accepted*: 29.01.2018

GİRİŞ

Karbon tetraklorür (CCl₄), kuru temizleme endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve oldukça toksik bir kimyasal maddedir (Ozturk ve ark., 2003; Junnila ve ark.,2000). CCl₄, insan ve hayvan vücuduna öncelikle solunum ve sindirim yollarından girebilir (Zhang ve ark.,2014). CCl₄'ün karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, beyin ve kan gibi birçok dokuda serbest radikal oluşumuna neden olduğu (Dashti ve ark., 1989), yine CCl₄'e maruz kalmanın akut ve kronik böbrek yaralanmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Turkey ve ark.,2005). CCl₄, laboratuvar hayvanlarında oksidatif stresi indüklemek için yaygın olarak kullanılan güçlü bir toksindir (Moneim ve El-Khadragy, 2013). Reaktif oksijen türleri (ROS), metabolizmanın sonucu olarak organizmalar tarafından üretilir (Birben ve ark., 2012). ROS, reaktiftir ve protein ve DNA gibi önemli bileşenleri oksitleyebilir ve zarar verebilir (Herbet ve ark., 2015). ROS, tek iplikli kopmalar, çift iplikli kopmalar, olmak üzere baz modifikasyonları ve DNA-protein çapraz bağlanması gibi çeşitli DNA hasarı indüklerler ve bu hasar, kanser patojenezinde ve yaşlanmada önemli bir ara madde olup, ROS-kaynaklı baz modifikasyonlarının çoğu promotajeniktir (Nomoto ve ark.,1999).Kuersetin,bitkilerde ve bitki besin kaynaklarında hemen hemen her yerde bulunan polifenolik flavonoid bileşiklerinin büyük bir sınıfına aittir (Muthukumaran ve ark., 2008).Kuersetin, elma, soğan, dut, patates, brokoli, çay, yer fıstığı ve soya fasulyesi gibi meyve ve sebzelerde yüksek konsantrasyonda bulunur. Oksidantların neden olduğu endotelial apoptozun önlenmesinde çok güçlü antioksidan ve sitoprotektif etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Ma ve ark., 2015; Renugadevi ve Prabu, 2010). Bu çalışmanın amacı, karbontetraklorürün neden olduğu sıçan böbrek dokusunda oksidatif stres ve DNA hasarlarına karşı kuersetinin koruyucu etkisini araştırmaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma için gerekli olan etik kurul onayı deneyler başlamadan önce Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Komitesi tarafından (BUHADEK: 04.10.2018-2018/08-08/01) alındı. Deneyde ağırlıkları yaklaşık 200-300 gr olan 28 adet yetişkin, Wistar albino erkek sıçanlar kullanıldı. 20±2°C sıcaklık ve onikişer (12h) saatlik aydınlık-karanlık siklusu sağlanan odada, kafeslerde tutuldu. Beslenmeleri sağlandı. Ortama uyumları sağlandıktan sonra çalışmaya başlandı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Sıçanlara (i.p) enjeksiyon yoluyla uygulama yapıldı. Kontrol grubuna eşit hacimde zeytinyağı,2. gruba 1 ml/kg Karbontetraklorür (CCl₄), 3.Gruba 1 ml/kg Karbontetraklorür (CCl₄) ve 25 mg/kg Kuersetin birlikte uygulandı. 4.Gruba ise sadece 25 mg/kg Kuersetin (Ku) verildi. CCl₄ ve Ku dozları Makni ve ark. (2012) ile Yuan ve ark. (2016)'ın çalışmaları baz alınarak belirlendi. Maruziyet 3 gün sürdürüldü ve 3.günün sonunda sıçanlar 60 mg/kg Ketamine hidroklorit + 10 mg/kg Xylazine hidroklorit karışımı ile anestezi altına alınarak kesildi ve böbrek dokuları alındı. Böbrek dokusu biyokimyasal analiz için ve 8-OHdG düzeylerinin yapılacağı zamana kadar -80°C'de muhafaza edildi.

Biyokimyasal Analizler

Süperoksit dismutaz (SOD) Sun ve ark., (1988), Glutasyon peroksidaz (Gpx) Donald ve Valentina (1967), Katalaz (CAT) Aebi (1984)'nin belirledikleri metodlara göre yapıldı. Böbrek dokularından alınan homojenatların protein miktar tayini Bradford (1976)'a göre yapıldı.

Doku 8-OHdG Seviyelerinin Belirlenmesi

8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) seviyelerinin ölçümü, ELISA (DZE201110032) kiti kullanılarak gerçekleştirildi (Özyurt ve ark., 2014).

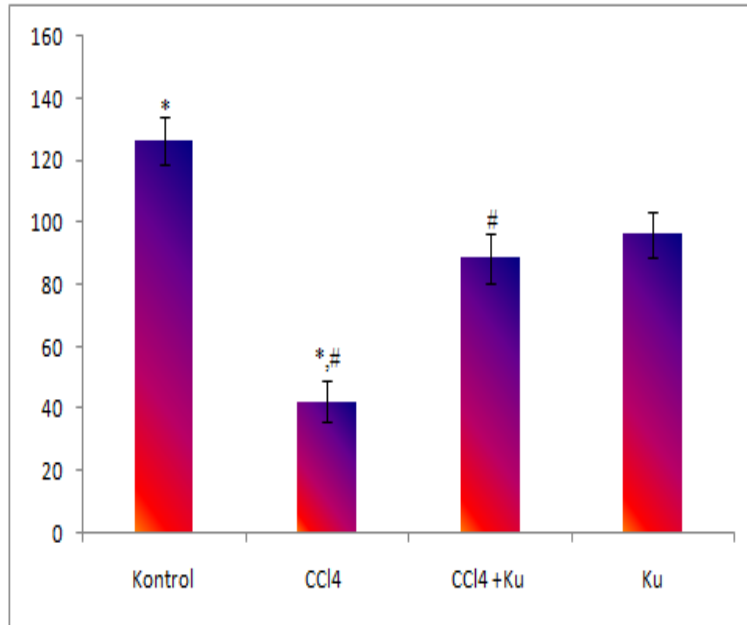
İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde, SPSS yazılımı, Windows 15.0 sürümü kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde sunuldu. Gruplar arasındaki farklılıkları değerlendirmek için ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma analizleri kullanıldı.

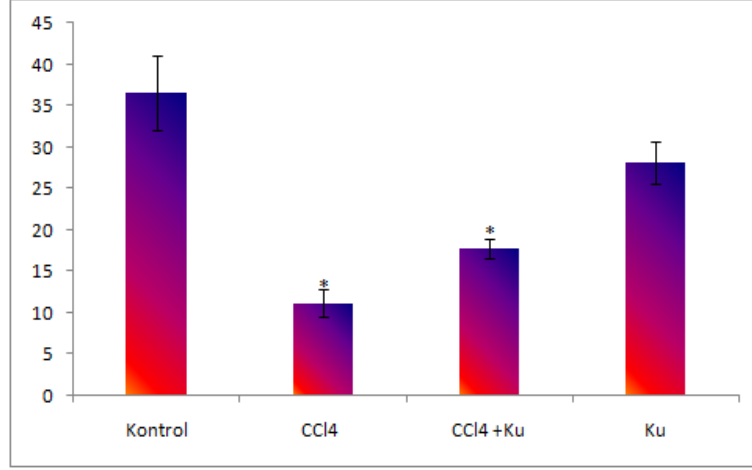
BULGULAR VE TARTIŞMA

SOD enzim aktivitesi değerlendirildiğinde kontrol grubuna oranla karbontetraklorür uygulanan grupta enzim aktivitesinde önemli azalışın olduğu ($p<0.05$), karbontetraklorür grubuna oranla karbontetraklorür + kuersetin uygulaması yapılan grupta enzim aktivite düzeyinde artışın ($p<0.01$) olduğu belirlendi (Şekil 1). Çalışmamızda CAT enzim aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubuna oranla karbontetraklorür uygulanan grupta düşmenin olduğu gözlemlendi. Karbontetraklorür grubuna oranla karbontetraklorür + kuersetin uygulaması yapılan grupta enzim aktivite

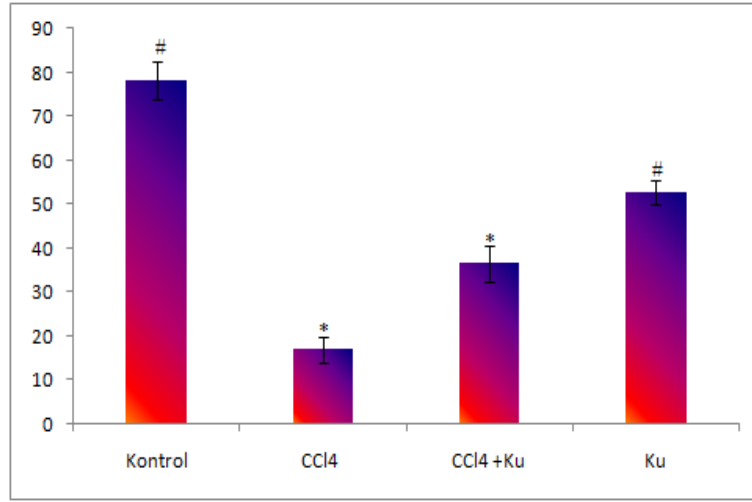
düzeyinde artışın olduğu ($p<0.05$) görüldü (Şekil 2). Oksidatif strese karşı savunma mekanizmasında önemli bir yer tutan GPx, enzim aktivitesi değerlendirildiğinde ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında karbontetraklorür ve karbontetraklorür + kuersetin uygulanan gruplarda aktivitenin azaldığı görüldü. Ayrıca karbontetraklorür uygulanan grup ile karşılaştırıldığında CCl₄+ kuersetin uygulanan grupta artış olduğu görüldü ($p<0.05$). Kontrol oranla kuersetin uygulanan grupta azalmanın olduğu tespit edildi ($p<0.01$) (Şekil 3). Çalışmada, karbontetraklorüre maruz kalan sıçanların böbrek dokusunda 8-OHdG düzeyi değerlendirildiğinde; kontrole oranla karbontetraklorür uygulanan grupta artma ($p<0.05$), yine kontrole oranla karbontetraklorür + kuersetin uygulanan grupta ise artma ($p<0.01$), karbontetraklorür grubuna oranla ise karbontetraklorür + kuersetin uygulanan grupta düşme olduğu gözlemlendi (Şekil 4).



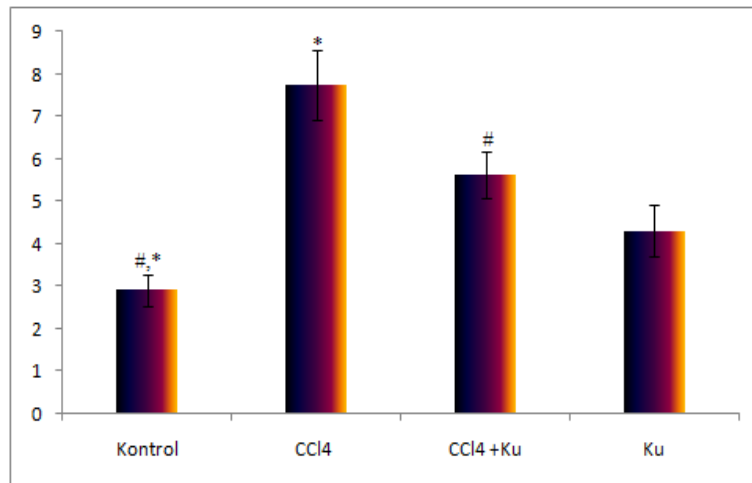
Şekil 1. Böbrek dokusu süperoksitdismutaz (SOD) aktivite seviyeleri (IUmg⁻¹protein) Gruplar arasındaki farklılıklar (*= $p<0.05$, #= $p<0.01$) şeklinde gösterildi.



Şekil 2. Böbrek dokusu katalaz (CAT), seviyeleri (IUmg⁻¹protein) Gruplar arasındaki farklılıklar (*=p<0.05 şeklinde gösterildi).



Şekil 3. Böbrek dokusu glutatyon peroksidaz (GPx) seviyeleri (IUmg⁻¹protein) Gruplar arasındaki farklılıklar (#=p<0.01, *=p<0.05) şeklinde gösterildi.



Şekil 4. Böbrek dokusu 8-OHdG seviyeleri (ng mg⁻¹) Gruplar arasındaki farklılıklar (#=p<0.01, *=p<0.05) şeklinde gösterildi.

Oksidatif stres, doku hasarına yol açabilen reaktif oksijen türleri (serbest radikaller) ve antioksidan savunma arasındaki dengede bir bozukluk olarak tanımlanmıştır (Betteridge, 2000). Organizmalar, enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler yoluyla oksidatif strese karşı korunurlar (Akkoyun ve ark., 2018). SOD, CAT ve GPx önemli antioksidan enzimlerdendir (Liu ve ark., 2010). CAT, SOD ve GSH-Px, reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı, destekleyici bir savunma takımı oluştururlar (Khan ve Ahmed, 2009). SOD, hücre ve dokuları endojen ve eksojen kaynaklardan elde edilen ROS'dan koruyan antioksidan enzimdir. OD ayrıca, esas olarak süperoksit anyonunun ($O_2^{\bullet-}$ - H_2O_2) dönüşümünü katalize eder (Islam ve ark., 2017). SOD'un hücre enzimatik savunmasında oksijen toksisitesine karşı önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (Ozturk ve ark., 2003). SOD, serbest radikaller tarafından lipid peroksidasyonun başlamasını önleyebilen peroksit anyon radikalleri toplayıcısıdır (Escobar ve ark., 1996). Çalışmada, SOD enzim aktivitesi değerlendirildiğinde kontrol grubuna oranla karbontetraklorür uygulanan grupta enzim aktivitesinde önemli azalışın olduğu ($p < 0.05$), karbontetraklorür grubuna oranla karbontetraklorür + kuersetin uygulaması yapılan grupta enzim aktivite düzeyinde artışın ($p < 0.01$) olduğu belirlendi (Şekil 1). Yapılan literatür taramalarında, kurşunun neden olduğu sıçan böbrek doku hasarında antioksidan enzimlerden SOD aktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubuna oranla, kurşun uygulanan grupta azalmanın, kurşun uygulanan gruba oranla kurşun + kuersetin uygulanan grupta ise enzim aktivitesinin yükseldiği tespit edilmiştir (Liu ve ark., 2010). Yine kadmiumun neden olduğu böbrek yetmezliği üzerine yapılan farklı bir çalışmada SOD enzim aktivitesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında kadmium uygulanan grupta düşmenin olduğu, kadmium+kuersetin uygulanan grupta ise kadmium grubu ile kıyaslandığında yükselmenin olduğu vurgulanmıştır (Sedky ve

ark., 2017). Sıçanlarda nefrotoksisiteye neden olan DEN/2AAF üzerine kuersetin ve naringinin iyileştirici etkisi ile ilgili yapılmış çalışmada, SOD aktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubuna oranla, DEN/2AAF uygulanan grupta azalmanın olduğu, DEN/2AAF grubu ile kıyaslandığında, DEN/2AAF+kuersetin uygulanan grupta yükselmenin olduğunu tespit edilmiştir (Adel Abdel-Moneim ve ark., 2016). Siprofloksasinin neden olduğu böbrek hasarına karşı kuersetin'in koruyucu etkisi üzerine yapılan bir çalışmada ise; SOD enzim aktivitesinin, kontrol grubuna göre siprofloksasinin uygulanan grupta azaldığı, siprofloksasinin uygulanan gruba oranla siprofloksasin+kuersetin uygulanan grupta ise önemli düzeyde artığı görülmüştür (Elbe ve ark., 2016). Gentamisin nedenli nefrotoksisiteye karşı kuersetin'in koruyucu etkisinin değerlendirildiği çalışmada, SOD aktivitesinde, kontrol grubuna göre gentamisin uygulanan grupta azalmanın olduğu, gentamisin grubuna oranla ise gentamisin+kuersetin uygulanan grupta yükselmenin olduğu belirtilmiştir (Abdel-Raheem ve ark., 2009). Karaciğer, böbrek, beyin ve kalp'de oksidatif stres'e neden olan atrazin üzerine kuersetin'in koruyucu etkisi ile ilgili yapılan başka bir çalışmada SOD enzim aktivitesinin, atrazin uygulanan grupta kontrol grubuna göre azaldığı, atrazin uygulanan gruba oranla, atrazin +kuersetin (5mg) ve atrazin + kuersetin (10mg) uygulanan grupta artma olduğu, 10mg kuersetin dozunun atrazinin oluşturduğu hasarı önlemede 5mg kuersetin dozuna göre daha etkin olduğu belirtilmiştir (Abarikwu SO., 20014). Katalaz (CAT), katalizör olarak demirin bulunması durumunda oldukça reaktif olan hidroksil radikalini oluşturarak hidroperoksiti ortadan kaldıran bir enzimdir (Abdurrauf ve Aksakal, 2007). CAT, antioksidan enzim sisteminde önemli bir bileşendir (Bansal ve ark., 2005). Çalışmamızda CAT enzim aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde, kontrol grubuna oranla karbontetraklorür uygulanan grupta düşmenin

olduğu gözlemlendi. Karbontetraklorür grubuna oranla karbontetraklorür + kuersetin uygulaması yapılan grupta enzim aktivite düzeyinde artışın olduğu ($p<0.05$) görüldü (Şekil II). Yapılan farklı literatür taramalarında, böbrek, testis dokusu ve sperm parametrelerinde sisplatin karşı kuersetinin koruyucu etkisi üzerine yapılan çalışmada CAT enzim aktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubuna oranla sisplatin uygulanan grupta düşmenin olduğu, sisplatin grubuna oranla ise kuersetin+sisplatin uygulanan grupta yükselmenin olduğu vurgulanmıştır (Aldemir ve ark., 2014). Böbrek zararı, apoptozis ve oksidatif strese neden olan MTX üzerine kuersetin'in iyileştirici etkisi ile ilgili yapılan farklı bir çalışmada, CAT enzim aktivitesinde, kontrol grubuna oranla MTX uygulanan grupta düşmenin olduğu, MTX grubuna oranla ise kuersetin+ MTX uygulanan grupta yükselmenin olduğunu belirtilmiştir (Erboga ve ark.,2015). Titanyum Dioksit Nanopartiküllerinin neden olduğu böbrek zararı ve tübüler hücre apoptozisi üzerine kuersetin'in etkisi ile ilgili yapılan çalışmada; CAT enzim aktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubuna oranla NTiO₂ uygulanan grupta düşmenin olduğu, NTiO₂ grubuna oranla ise kuersetin+ NTiO₂ uygulanan grupta yükselmenin olduğu tespit edilmiştir (Alidad ve ark.,2018). GPx, lipid peroksidasyonunu engelleyen enzimdir. GSH-Px, redükte glutasyonu yükseltgeyerek hidrojenperoksitin suya dönüşümünü sağlar. Sonuç olarak membran lipidlerinin ve hemoglobinin korunmasını sağlar(Akşit ve ark., 1989). Glutasyon peroksidaz (GPx), hidroperoksitlerin azaltılmasından sorumlu olan enzimdir. Dört selenyum atomu içeren tetramerik yapının sitosolik bir enzimidir. GPx, serbest oksijen radikalleri, peroksitler ve karsinojenlere karşı savunmada önemli bir rol oynar (Arslan ve ark., 2014). Çalışmada, oksidatif strese karşı savunma mekanizmasında önemli bir yer tutan GPx,enzim aktivitesi değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile

kıyaslandığında karbontetraklorür ve karbontetraklorür + kuersetin uygulanan gruplarda aktivitenin azaldığı görüldü. Ayrıca karbontetraklorür uygulanan grup ile karşılaştırıldığında CCl₄+ kuersetin uygulanan grupta artış olduğu görüldü($p<0.05$). Yine kontrole oranla kuersetin uygulanan grupta azalmanın olduğu tespit edildi ($p<0.01$) (Şekil 3). Rat böbrek dokusunda sisplatinin neden olduğu oksidatif stres üzerine kuersetinin etkisi üzerine yapılan çalışmada GPx, enzim aktivitesinin; kontrol grubu ile kıyaslandığında sisplatin ve sisplatin + kuersetin uygulanan gruplarda azaldığı, sisplatin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında sisplatin+ kuersetin uygulanan grupta arttığı, fakat kontrole oranla kuersetin uygulanan grupta ise azalmanın olduğu tespit edilmiştir (Almaghrabi, 2015.) Ratlara karaciğer ve böbrek fonksiyon bozuklukları, karaciğer toksisitesi, oksidatif stres, histolojik değişimlere neden olan parasetamol kaynaklı hasara karşı kurkumin ve kuersetin'in koruyucu etkisi ile ilgili yapılan çalışmada GPx, enzim aktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubuna kıyasla parasetamol ve parasetamol + Kuersetin uygulanan grupta düşmenin olduğu, parasetamol grubuna kıyasla parasetamol + kuersetin uygulanan grupta yükselmenin olduğunu belirtmişlerdir (Yousef ve ark.,2010). Bu sonuçlar dikkate alındığında çalışmanın farklı literatürler tarafından desteklendiği görülmüştür. 8-Hidroksiguanin(8-OH-Gua), esas olarak oluşan DNA hasarının önemli belirteçlerinden biridir. Genellikle oksidatif DNA hasarında biyobelirteç olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Liu ve ark.,2010). Çalışmada, karbontetraklorüre maruz kalan sıçanların böbrek dokusunda 8-OHdG düzeyi değerlendirildiğinde; kontrole oranla karbontetraklorür uygulanan grupta artma ($p<0.05$), yine kontrole oranla karbontetraklorür + kuersetin uygulanan grupta ise artma ($p<0.01$), karbontetraklorür grubuna oranla ise karbontetraklorür + kuersetin uygulanan grupta düşme olduğu gözlemlendi (Şekil 4). Bu durum

DNA'nın böbreklerde, karbontetraklorür'ün neden olduğu ROS'un hedefi olduğunu göstermektedir. CCl₄ uygulanan grupta belirlenen artışın kuersetin'e bağlı olarak azaldığı görüldü. Radyasyonun neden olduğu sıçan böbrek ve mesane dokularında DNA hasarı ve apoptoze üzerine kuersetin koruyucu etkisi ile ilgili yapılan çalışmada 8-OHdG düzeyleri değerlendirildiğinde; kontrol grubuna göre radyasyon uygulanan grupta arttığı fakat radyasyon+kuersetin uygulan grupta ise azaldığını bildirmişlerdir(Özyurt ve ark., 2014).Bu bağlamda yapılan başka bir çalışmada, kurşunun neden olduğu rat böbrek dokusunda 8-OHdG düzeyi değerlendirildiğinde; kontrol grubuna göre kurşun uygulanan grupta arttığı fakat kurşun+kuersetin uygulan grupta ise azaldığı görülmüştür(Liu ve ark., 2010).

SONUÇ

Çalışmamızda, sıçan böbreğinde SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerinin karbontetraklorür maruziyeti sonucunda önemli ölçüde azaldığı tespit edildi. Buda karbontetraklorür maruziyetinin, antioksidan enzim aktivitelerini inhibe ederek oksidatif strese neden olduğunun bir göstergesidir. Antioksidan enzim aktivitelerindeki artış ve DNA hasarının inhibisyonu kuersetinin, böbrek dokusunu oksidatif hasara karşı koruyabileceği görüşünü desteklemektedir.

KAYNAKLAR

Abarikwu SO, 2014. Protective Effect of Quercetin on Atrazine-Induced Oxidative Stress in the Liver, Kidney, Brain, and Heart of Adult Wistar Rats. *Toxicol Int.* May-Aug, 21(2): 148–155.

Abdel-Raheem IT, Abdel-Ghany AA, Mohamed GA, 2009. Protective effect of quercetin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(1), 61-67.

Abdurrauf Y, Aksakal M, 2007. Ratların Karaciğer ve Testis Dokusundaki Antioksidan Aktivite Üzerine Nar Suyunun Etkisi.F.Ü. Sağ. Bil. Derg, 21(6): 253-256.

Adel Abdel-Moneim A, Ahmed OM, Fahim HI, Zaky MY, 2016. Ameliorative Effects of Quercetin and Naringenin on Diethylnitrosamine/2-acetyl amino flourene-Induced Nephrotoxicity in Male Wistar Rats. *American Journal of Biochemistry*, 6(5): 113-121.

Aebi H, 1984. Catalase in vitro assay methods. *Methods Enzymol*, 105:121-126.

Aldemir M, Okulu E, Kösemehmetoğlu K, Ener K, Topal F, Evirgen O, Gürleyik E, Avcı A,2014. Evaluation of the protective effect of quercetin against cisplatin-induced renal and testis tissue damage and sperm parameters in rats. *Andrologia*, 46(10), 1089-1097.

Alidadi H, Khorsandi L, Shirani M, 2018. Effects of Quercetin on Tubular Cell Apoptosis and Kidney Damage in Rats Induced by Titanium Dioxide Nanoparticles. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 25(2), 72-81.

Almaghrabi OA, 2015. Molecular and biochemical investigations on the effect of quercetin on oxidative stress induced by cisplatin in rat kidney. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 227-231.

Akkoyun HT, Bengu AS, Ulucan A, Bayramoglu-Akkoyun M, Arihan O, 2018.Protective Effect Of Ellagic Acid Against Carbon Tetrachloride (CCl₄) Induced Oxidative Brain Injury In Rats.*Fresenius Environmental Bulletin*, 27(5): 3148-3155

Akşit H, Akşit D, Bildik A, Kara H, Yavuz Ö, Seyrek K, 1989. Deneysel Karaciğer İntoksikasyonunda N-Asetil Sistein'in Glutasyon Metabolizması ve Lipid Peroksidasyonuna Etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 62:(1-5).

- Arslan A, Demir H, Ozbay MF, Arslan H, 2014. Evaluation of lipid peroxidation and some antioxidant activities in patients with primary and metastatic liver cancer. *Journal of Cancer Therapy*, 5(2):192.
- Bansal AK, Bansal M, Soni G, Bhatnagar D, 2005. Protective role of Vitamin E pre-treatment on N-nitrosodiethylamine induced oxidative stress in rat liver. *Chemico-biological interactions*, 156(2-3): 101-111.
- Betteridge DJ, 2000. What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2): 3-8.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O, 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1):9.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248.
- Dashti H, Jeppsson B, Hagerstrand I, Hultberg B, Srinivas U, Abdulla M, Bengmark S, 1989. Thioacetamide and carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis. *Eur Surg Res*, 21:83-91.
- Donald EP, Valentina WN, 1967. Studies on the quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory & Clinical Medicine*, 70:158-169.
- Elbe H, Dogan Z, Taslidere E, Cetin A, Turkoz Y, 2016. Beneficial effects of quercetin on renal injury and oxidative stress caused by ciprofloxacin in rats: A histological and biochemical study. *Human & experimental toxicology*, 35(3), 276-281.
- Erboga M, Aktas C, Erboga ZF, Donmez YB, Gurel A, 2015. Quercetin ameliorates methotrexate-induced renal damage, apoptosis and oxidative stress in rats. *Renal failure*, 37(9), 1492-1497.
- Escobar JA, Rubio MA, Lissi EA, 1996. SOD and catalase inactivation by singlet oxygen and peroxy radicals. *Free Radic Biol Med*, 20: 285-290.
- Herbet M, Gawrońska-Grzywacz M, Jagiełło-Wójtowicz E, 2015. Evaluation Of Selected Biochemical Parameters Of Oxidative Stress In Rats Pretreated With Rosuvastatin And Fluoxetine. *Acta Polonicae Pharmaceutica*, 72(2): 261-265.
- Islam MA, Al Mamun MA, Faruk M, Islam MTU, Rahman MM, Alam MN, Alam MA, 2017. Astaxanthin ameliorates hepatic damage and oxidative stress in carbon tetrachloride-administered rats. *Pharmacognosy research*, 9(1):84.
- Junnila M, Rahko T, Sukura A, Lindberg LA, 2000. Reduction of carbon tetrachloride-induced hepatotoxic effects by oral administration of betaine in male Han-Wistar rats: a morphometric histological study. *Veterinary pathology*, 37(3), 231-238.
- Khan MR, Ahmed D, 2009. Protective effects of *Digera muricata* (L.) Mart. on testis against oxidative stress of carbon tetrachloride in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6):1393-1399.
- Liu CM, Ma JQ, Sun YZ, 2010. Quercetin protects the rat kidney against oxidative stress-mediated DNA damage and apoptosis induced by lead. *Environmental toxicology and pharmacology*, 30(3): 264-271.
- Ma JQ, Li Z, Xie WR, Liu CM, Liu SS, 2015. Quercetin protects mouse liver against CCl₄-induced inflammation by the TLR2/4 and MAPK/NF- κ B pathway. *International immunopharmacology*, 28(1): 531-539.
- Makni M, Chtourou Y, Garoui EM, Boudawara T, Fetoui H, 2012. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and DNA damage in rats: protective role of vanillin. *Human & experimental toxicology*, 31(8): 844-852.

- Moneim AEA, El-Khadragy MF, 2013. The potential effects of pomegranate (*Punica granatum*) juice on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of physiology and biochemistry*, 69(3): 359-370.
- Muthukumaran S, Sudheer AR., Nalini N, Menon VP, 2008. Effect of quercetin on nicotine-induced biochemical changes and DNA damage in rat peripheral blood lymphocytes. *Redox Report*, 13(5): 217-224.
- Nomoto M, Yamaguchi R, Kawamura M, Kohno K, Kasai H, 1999. Analysis of 8-hydroxyguanine in rat kidney genomic DNA after administration of a renal carcinogen, ferric nitrilotriacetate. *Carcinogenesis*, 20(5):837-841.
- Ozturk F, Ucar M, Ozturk IC, Vardi N, Batcioglu K, 2003. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in Sprague-Dawley rats. *Urology*, 62(2): 353-356.
- Özyurt H, Çevik Ö, Özgen Z, Özden AS, Çadırcı S, Elmas MA, Şener G, 2014. Quercetin protects radiation-induced DNA damage and apoptosis in kidney and bladder tissues of rats. *Free radical research*, 48(10): 1247-1255.
- Renugadevi J, Prabu SM, 2010. Quercetin protects against oxidative stress-related renal dysfunction by cadmium in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(5): 471-481.
- Sedky A, Mahboub F, Elsayy H, Eid R, 2017. Protective Potential of Quercetin on Cd-Induced Hepatorenal Damage. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(5).
- Sun Yi, Oberley LW, Ying Li. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3):497-500.
- Tirkey N, Pilkhwal S, Kuhad A, Chopra K, 2005. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC pharmacology*, 5(1): 2.
- Yousef MI, Omar SA, El-Guendi M I, Abdelmegid LA, 2010. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3246-3261.
- Yuan Y, Ma S, Qi Y, Wei X, Cai H, Dong L, Guo Q, 2016. Quercetin inhibited cadmium-induced autophagy in the mouse kidney via inhibition of oxidative stress. *Journal of toxicologic pathology*, 29(4): 247-252.
- Zhang JQ, Shi L, Xu XN, Huang SC, Lu B, Ji LL, Wang ZT, 2014. Therapeutic detoxification of quercetin against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice and its mechanism. *Journal of Zhejiang University Science B*, 15(12): 1039-1047.

Pleurotus Sajor-Caju (Fr) Singer'in Yetiştiriciliği ve Verimi Üzerine Araştırmalar

Hilal ACAY^{1*}

Abdunnasır YILDIZ²

ÖZET: *Pleurotus sajor caju* (Fr) Singer'in kültürü için ham materyal olarak, buğday sapı (B) ve buğday-mısır (B-M) saplarının 1:1 oranı kullanılmıştır. Katkı maddesi olarak da mercimek samanı (MS) ve pirinç kepeği (PK)'nin farklı oranları kullanılmıştır. Yapılan çalışmada, misel gelişim süresi (MGS) 12.8-38.0 gün olarak tespit edilmiştir. En kısa süre 12.8 gün olarak B'de, en uzun süre ise 38.0 gün olarak B-M+ 1MS:2PK'de elde edilmiştir. Basidiokarp oluşum süresi (BOS), birinci hasat ve toplam hasat sürelerinde en kısa süreler, sırasıyla; 16.4 gün, 26.6 gün ve 86.0 gün olarak buğday sapında saptanmıştır. En uzun basidiokarp oluşum, birinci hasat ve toplam hasat süreleri sırasıyla; 51.2 gün, 55.0 gün olarak B-M+ 1MS:2PK'den, 105.8 gün ile B-M+ 2MS:1PK'den elde edilmiştir. 100 g materyalden (% 70 nem) elde edilen taze mantar miktarı birinci, ikinci ve toplam hasatta sırasıyla; en yüksek 10.6, 7.3, 25.1 g olarak B-M+ 1MS:2PK'de tespit edilmiştir. Birinci hasta en düşük verim ise 7.1 g ile B+ 2MS:1PK'den elde edilirken toplam hasatta en düşük verim 15.7 g olarak B'den elde edilmiştir. Sonuç olarak; *P. sajor-caju* kültürü için üreticilere diğer deneme gruplarına göre en kısa sürede ve en yüksek miktarda ürün veren B-M+ 1MS:2PK ortamı önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Mantar yetiştiriciliği, oyster, *Pleurotus sajor caju*, verim

Research on the Production and Yield of *Pleurotus Sajor-Caju* (Fr) Singer

ABSTRACT: Wheat straw (B) and 1:1 rate of the raw wheat straw (B) and wheat-maize (B-M) were used as raw materials for cultivation of *Pleurotus sajor caju* (Fr) Singer. Different ratios of lentil straw (MS) and rice bran (PK) were used as additives. In this study, micelle development time (MGS) was determined as 12.8-38.0 days. B-M + 1MS: 2PK was obtained as the shortest period of 12.8 days in B, and the longest period was 38.0 days. Basidiocarp formation time (BOS), first harvest and total harvest time, the shortest periods, respectively; 16.4 days, 26.6 days and 86.0 days were determined in wheat stalks. The longest basidocarp formation, the first harvest and the total harvest time were respectively; 51.2 days, 55.0 days from B 1 M + 1MS: 2PK, 105.8 days from B 2 M + 2MS: 1PK. The amount of fresh mushrooms obtained from 100 g of material (70% moisture) was determined as follows; maximum 10.6, 7.3, 25.1 g in B MS M + 1MS: 2PK. The first patient was obtained from B + 2MS: 1PK with the lowest yield of 7.1 g, while the lowest yield was obtained from B in 15.7 g. As a result; B-M + 1MS: 2PK medium can be recommended for the sajor-caju culture in the shortest period of time and in the highest amount according to the other groups.

Keywords: Mushroom cultivation, oyster, *Pleurotus sajor caju*, yield

¹ Hilal ACAY (Orcid ID: 0000-0002-7732-106X), Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Mardin, Türkiye

² Abdunnasır YILDIZ (Orcid ID: 0000-0002-4024-7708), Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Diyarbakır, Türkiye

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Hilal ACAY, e-mail: hilalacay@gmail.com

GİRİŞ

Pleurotus türleri ağaç kütüklerinin yanı sıra geniş enzim sistemleri sayesinde değişik zirai artıklar ve endüstriyel üretim sonucu oluşan artıklar üzerinde kolonize olabilirler. Bundan dolayı kağıt, odun kepeği, talaş, fındık kabuğu, sebze artıkları (Eger et al., 1976), odun blokları, küspe, kahve hamuru (Zadrazil ve Dube, 1992), buğday, mercimek, sorgum, soya fasulyesi, darı sapları (Yıldız ve ark., 1998; Yıldız ve Karakaplan, 2003), pamuk sapları, mısır koçanı, sorgum ve bunların karışımı (Ragunathan ve Swaminathan, 2003) gibi substratlar üzerinde kültürünün yapıldığı bilinmektedir.

Pleurotus türlerinden ilk kültüre alınan tür *Pleurotus ostreatus* olup, bu kaynaklara göre de 1900 yılına kadar inmektedir. *P.sajor-caju*'nun kültüre alınışı ise 1974 yılı olarak bildirilmektedir (Aksu, 2001). Ülkemizin üretim potansiyelinde tarımsal ürünlerin önemli yer tuttuğu, bunların hasadı ve sanayide işlenmesi sırasında sap, saman, kepek, melas vb, artıkların ortaya çıktığı bilinmektedir. Bunların bir kısmı hayvan yemi olarak değerlendirilmekte ise de bir kısmı yakılmakta, diğer bir kısmı da bulunduğu ortamda bırakılmaktadır. Bu uygulamaların da doğal denge üzerinde olumsuz etki yaptığı görülmektedir. İnsan beslenmesinde ve sağlığının korunmasında önemli özellikleri olduğu bilinen mantarların (Aletor, 1985; Alofe ve ark., 1996) kültüründe, birçok sanayi ve tarım artıklarının kullanılması, bu konunun önemini daha da arttırmaktadır.

Pleurotus spp. yetiştiriciliğinin avantajlarını aşağıdaki gibi sıralamak mümkündür. Yüksek besinsel değere sahiptirler. Yetiştirme teknikleri diğer kültür mantarlarına göre daha basit ve ucuzdur. Yetişme ortamı olarak fermente olmamış bitki materyalleri kullanılır. Yani kompost hazırlama gerektirmez. Bu da zamandan ve işçilikten tasarruf sağlar. Üretiminde çok düşük maliyetli yatırımlara ve başlangıç giderlerine ihtiyaç duyulur. Bu da alt

yapısı olmayan aile tipi işletmeler için avantaj sağlamaktadır. Ülkemizde yaygın şekilde yetiştiriciliği yapılan kültür mantarlarının çok sayıda hastalık etmenine hassas olduğu bilinmekte olup, istiridye mantarı yetiştiriciliğinde sorun olan önemli bir hastalık rapor edilmemiştir (Sanchez 2010). *Pleurotus* türlerinin kültüründe misel gelişim (inkübasyon) evresi ile basidiokarp oluşum (fruktifikasyon) evrelerindeki ekolojik istekleri birbirinden farklıdır (Block ve ark., 1959; Olivier, 1988; Olivier, 1990). Kültür koşullarında gelişim türün genotipine, substratın besinsel içeriğine, inkübasyon ve fruktifikasyon evrelerindeki sıcaklığa ve bu farklı faktörler arasındaki karşılıklı etkileşime bağlıdır (Olivier, 1990; Yıldız 1998). Oluşturulacak farklı kültür koşullarının gelişim ve verimi etkileyeceği düşünülerek bu çalışmada; *P.sajor-caju* kültüründe bölgemizde bol bulunan ve ucuz fiyatla sağlanabilen bazı bitkisel materyallerin değerlendirilebilme olanakları araştırılmıştır. Sonuç olarak bu çalışmayla; daha ekonomik koşullarda *P.sajor-caju*'da kısa sürede, daha yüksek verim elde etme olanaklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden sağlanan *P.sajor-caju* (Fr) Singer'in ana kültürleri Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvar'ndan Yıldız (1998)'e göre çoğaltılarak çalışmalarda kullanılmıştır.

Ana Kültürün Çoğaltılması

20 g malt ekstratı ile 20 g agar 1 lt'lik erlene konularak hazırlanan besiyeri, otoklavda 1.5 atm basınç altında 121°C' de 15 dk. bekletilerek steril hale getirilmiştir.

Ekim Odasının Hazırlanması ve Aşılama İşlemleri

Ekimin yapılacağı HS 12 model HERAUS marka Laminal Flow'un içi alkolle

temizlenmiştir. Daha sonra steril petri kaplarının her birine besiyerinden yaklaşık olarak 25 ml doldurulmuştur. Aşılama işlemi; ana kültürden yaklaşık olarak 0.5 cm² büyüklüğündeki bir parça agarlı besiyerinin miselle birlikte petri kabının ortasına bırakılması şeklinde yapılmıştır. Petriker ES 110 model NÜVE marka inkübatöre bırakılmıştır. 25±1 °C sıcaklıkta (Zadrazil, 1978) misellerin besiyerini sarması beklenmiştir. Buradan elde edilen miseller tohumluk misel (spawn) eldesinde aşı materyali olarak kullanılmıştır.

Tohumluk Misel (Spawn) Eldesi

3 kg buğday 1 saat süreyle kaynatılmış sonra, süzülmesi için 12 saat bekletilmiştir. İşlem sonunda nemin yaklaşık olarak %55 civarında olması sağlanmıştır. 3 kg'lık buğday tanelerine ortamın pH' ını 5.5-6.5 arasında tutmak için 6 g kireç, tanelerin birbirlerine yapışmasını önlemek için ise 24 g alçı karıştırılmıştır (Zadrazil, 1978; Yıldız, 1998; Yıldız ve Karakaplan, 2003). Ayrıca 1 kg kuru ağırlık için 100 g pirinç kepeği buğday tanelerine eklenerek homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra 500 ml'lik erlenlere konularak otoklavda 1.5 atm basınç altında 121°C' de 15 dk. bekletilerek taneler steril hale getirilmiştir. Hazırlanan erlenlerin her birine ana kültürden 2 parça agarlı besi yeri ile birlikte misel aşılansak 25±1°C de sabit sıcaklıkta inkübasyona (Zadrazil, 1978) bırakılmıştır. Mantar miselleri erlenlerdeki buğday tanelerini sarması beklenmiştir. Daha sonra bunlar kompost ortamında "tohumluk misel" olarak kullanılmıştır.

Kompostun hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan tarımsal artıklar Diyarbakır'dan sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan farklı materyallerin değişik oranlarının *P.sajor-caju*'nun gelişmesine ve verimine etkisini belirlemede çalışma grupları oluşturulmuştur.

Kontrol grupları:

1. Buğday sapı (saf)
2. 1:1 buğday – mısır (saf)

Deneme grupları:

1. 1 kg buğday sapı + 100 g MS + 200 g PK
2. 1 kg buğday sapı + 200 g MS + 100 g PK
3. 1 kg buğday - mısır (1:1) + 100 g MS + 200 g PK
4. 1 kg buğday - mısır (1:1) + 200 g MS + 100 g PK

Oluşturulan kültür ortamlarının %70-75 oranında nemlenmesi sağlanmıştır. Daha sonra her 1 kg kuru materyal başına 35 g kireç 35 g alçı (Zadrazil, 1978; Yıldız, 1998; Yıldız ve Karakaplan, 2003) ve yukarıdaki gibi katkı maddeleri ilave edilmiştir. Hazırlanan komposttan 2 lt' lik kavanozların her birine yaklaşık olarak 400 g doldurulmuştur. 121°C de 15 dk süreyle sterilize edilen kompost misel inokulasyonu için ekim odasına taşınmış ve soğumaya bırakılmıştır.

Misel Ekimi

Kompost sterilize edildikten sonra, tabanı % 70 alkolle dezenfekte edilmiş ekim odasına alınmıştır. Kavanozlardaki kompostta tohumluk misel inoküle edilmiştir.

Kültür Ortamının Hazırlanması ve Mantar Yetiştirme Koşulları

Kültür için 2.10 × 2.60 × 3.00 m boyutunda bir oda kullanılmıştır. Odanın havalandırılması White-Westinghouse marka klimanın günde 3-4 saat çalışmasıyla yapılmıştır. Oda sıcaklığının misel gelişim döneminde 25±1°C, sonraki evrelerde 22±1°C' de sabit tutulması (Zadrazil, 1978) için termostat tesisatına bağlı elektrikli bir radyatör kullanılmıştır. Işık *Pleurotus spp.*'nin misel gelişimi için gerekli olmadığı, basidiokarp oluşum ve gelişim evresinde gerekli olduğu belirtilmiştir (Olivier, 1988). Bu nedenle oda, misel gelişim evresinde aydınlatılmamış, diğer evrelerde ise 200 lüks şiddetinde aydınlatma sağlanmıştır. Kültürün sulanması günde 1 defa

su püskürtme ile kompostun üst kısmının nemlendirilmesiyle sağlanmıştır.

Gelişim Evreleri

Pleurotus sajor-caju'nun miselinin kompost ortamına ekildikten sonra farklı gelişim evreleri tanımlanmıştır. Buna göre misel ekiminden misellerin kompostu optimum bir şekilde sarmasına kadar geçen süre "misel gelişim süresi", misel ekiminden basidiokarp oluşumuna kadar geçen süre "basidiokarp oluşum süresi", misel ekiminden ürün eldesine kadar geçen süre "hasat süresi", toplam ürünün elde edildiği süre ise "toplam hasat süresi" olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada misel gelişim, basidiokarp oluşum ve hasat süresi gün olarak belirlenmiştir. 100 g komposttan (yaklaşık %70 nem) hasat sonunda elde edilen taze mantar miktarının ve bu miktarın hasat evrelerine dağılımının saptanması için 100 g nemli materyale (%70 nem) düşen taze mantar miktarı hesaplanmıştır. Hasat edilen mantarların büyüklüklerinin T.C Resmi Gazete'de yayımlanan 03.04.1998 tarih ve 23306 sayılı standardizasyon esaslarına uygun olmasına dikkat edilmiştir.

Verilerin Analizi

Çalışmanın verilerinin analizi ANOVA'ya göre yapılmıştır. Gruplar arasındaki farkın belirlenmesinde Ducan (1955)'in çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki fark, $P < 0.05$ olduğu zaman önemli kabul edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Oyster mantarı *P. sajor-caju*, kültürü başarıyla yapılan ve özellikle beğenilerek tüketilen lezzetli bir besin olarak kabul edilmektedir. Bu türün kültürü; farklı lignoselülozik materyaller üzerinde, birçok araştırmacı tarafından yapılmıştır. (Zadrazil, 1980a; Chang ve ark., 1981; Cogorni ve ark., 2014). Zadrazil (1980b), *P. sajor-caju*'nun yüksek saprofitik kolonizasyon yeteneğine ve

buğday sapını etkili bir şekilde parçalama yeteneğine sahip olduğunu saptamıştır. Thomas ve ark., (1998) fındık içini, Das ve ark., (2000) *P. sajor-caju* ve *P. florida* kültürü için yabancı otları substrat olarak kullanmışlardır. Zhang ve ark., (2002) pirinç ile buğday samanını, Shashirekha ve ark., (2002) ham materyal olarak pirinç sapı ve katkı maddesi olarak hardal, ay çiçeği, pamuk ve soya fasulyesi tohum tozlarını, Rangunathan ve Swaminathan, (2003) pamuk sapı, mısır lifleri, sorgum sapı ve bunların karışımını, Bonatti ve ark., (2004) *P. sajor-caju*'nun kültüründe, pirinç ve muz sapını kullanmışlardır. Araştırmacıların çalışma bölgelerine uygun, kolay sağlanabilen lokal materyalleri seçtikleri gözlenmektedir. Bu nedenle bu çalışmada; *P. sajor-caju* kültürü için bölgemizde bol bulunan ve kolay elde edilebilen bitkisel artıklar kullanılmıştır. Bunun temelinde; bu mantarın daha önceki çalışmalarda (Shukla ve Biswas, 2000) belirtildiği gibi yenilebilir ve lezzetli olması, basit yöntemlerle kültürünün yapılması ve bütün dünyada kültür mantarı olarak ticaretinin yapılması yatmaktadır. Sağır ve Yıldız, (2004) *Pleurotus* türlerinin *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi bazı kontaminant mantarlara karşı kolay bir şekilde mücadele edebileceklerini belirtmişlerdir. Bu çalışmada herhangi bir kontaminasyona rastlanmaması *Pleurotus* türlerinin hastalık ve zararlılara karşı mücadele edebileceğini desteklemektedir.

Yapılan çalışmalarda kompost ortamında *Pleurotus*'un misel gelişim süresinin birçok faktöre bağlı olduğu belirtilmiştir. Laborde ve ark. (1990), ham materyal olarak arpa, buğday sapı ve mısır koçanı, katkı maddesi olarak da alçı ve piliç tüyü tozu kullanarak hazırladıkları kompost'da misel gelişiminin kasa sisteminde 21 gün naylon torbalarda 14 günde tamamlandığını saptamışlardır. Singh ve ark., (1993) *P. sajor-caju* ve *P. platypus*'nun pirinç sapı ve çam atıkları üzerindeki kültüründe de misel gelişim süresini 12 – 15 gün, odun talaşı üzerinde ise 18 – 20 gün olarak bildirmişlerdir. İlbay ve Okay,

(1996) *P. sajor-caju* kültüründe fındık kabuğu + kepek + talaş (1:2:1) uygulamasında misel gelişmesinin 36 günde tamamlandığını belirtmişlerdir. Thomas ve ark., (1998) *P. sajor-caju*'nun yaprak sapı, üzüm salkımı atıkları ve yaprak ayası, pirinç kepeği eklenmiş mısır özünü kullanılarak yapılan kültürde misel gelişim süresinin 20 gün olduğunu bildirmişlerdir. Shashirekha ve ark., (2002) ham materyal olarak pirinç sapı ve katkı maddesi olarak da hardal, soya fasulyesi, ay çiçeği tohum ununu kullandıkları kültür çalışmasında, *P. sajor-caju*'da misel gelişim süresini 8 – 19 gün olarak

belirtmişlerdir. Zhang ve ark., (2002), pirinç ve buğday sapı üzerindeki kültürde misel gelişim süresini 20 gün olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise; Çizelge 1'de görüldüğü gibi; misel gelişim süresi 12.8 – 38.0 günde tamamlanmıştır. Misel gelişimi en kısa süre olarak 12.8 gün ile B'de, en uzun süre olarak da 38.0 gün ile B-M+ 1MS:2PK'de elde edilmiştir. Bu çalışmada; PK ve MS'nin katkı maddesi olarak beraber kullanıldığı ortamda misel gelişim süresinin diğer gruplara göre kısaltıldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Farklı Materyallerin Değişik Oranlarının *P.sajor-caju*'nun Gelişim Evreleri Üzerine Etkileri (Gün)

Materyaller*	MGS X ±SD	BOS X ±SD	1.Hasat (gün) X ±SD	2.Hasat (gün) X ±SD	3.Hasat (gün) X ±SD
B	12.8±1.1c *	16.4±0.9c	21.6±2.1c	78.2±27.9a	86.0±26.9a
B-M (1:1)	29.6±17.0ab	43.4±19.3ab	47.8±18.7ab	93.2±14.8a	104.8±4.6a
B 1MS:2PK	16.6±2.3bc	27.4±12.4bc	31.8±11.6bc	79.4±18.8a	97.4±13.3a
B-M 1MS:2PK	38.0±11.8a	51.2±14.4a	55.0±14.2a	74.4±12.9a	95.0±11.5a
B2MS:1PK	24.2±10.1abc	37.0±14.3ab	40.6±13.5ab	86.6±28.1a	99.6±18.7a
B-M 2MS:1PK	28.4±12.3ab	46.2±15.8a	49.6±14.9a	95.2±11.6a	105.8±4.3a

*B: Buğday Sapı, PK: Pirinç Kepeği, B-M: Buğday-Mısır Sapları (1:1), MS: Mercimek Samanı

MGS: Misel Gelişim Süresi, BOS:Basidiokarp Oluşum Süresi

* Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli değildir (P<0.05).

Misel gelişim süresi ile ilgili olarak elde edilen sonuçlar; önceki çalışmalarla (Singh ve ark., 1993; İlbay ve Okay, 1996; Thomas ve ark., 1998; Shashirekha ve ark., 2002; Zhang ve ark., 2002; Bonatti ve ark., 2004) uyum göstermektedir. Literatürde (Olivier, 1990; Yıldız, 1998), misel gelişmesi üzerine genotip ve kültür ortamının besinsel içeriğinin, kompost ortamının C/N oranının ve katkı maddesi olarak kullanılan farklı organik ve inorganik azot kaynaklarının etkili olduğunu belirtmişlerdir. Misel gelişim süresindeki bu farkın; daha önce yapılan çalışmalarda (Delmas ve Mamoun, 1990; Yıldız ve Saya, 1996) belirtildiği gibi kültür ortamının içerdiği besin maddesinin cinsinden ve miktarından kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Pleurotus spp.'de basidiokarp oluşum süresini 22–27 gün olarak (Ragunathan ve ark.,

1996) saptamışlardır. Thomas ve ark. (1998), *P. sajor-caju*'da basidiokarp oluşum süresini; yaprak sapı ve üzüm salkımı atıkları üzerinde 25.8 gün, yaprak ayası üzerinde 24.8 gün ve mısır özü üzerinde ise 22.5 gün olarak tespit etmişlerdir. Ragunathan ve Swaminathan, (2003) *P. sajor-caju*' nun basidiokarp oluşum süresini mısır sapları üzerinde yapılan kültüründe 21 gün, sorgum sapları üzerinde yapılan kültüründe 24 gün, pamuk sapları üzerinde yapılan kültüründe ise 26 gün ve bunların karışım olarak kullanıldığı kültürde de 28 gün olarak tespit etmişlerdir. Bu araştırmanın bulgularında ise; basidiokarp oluşumunun 16.4 – 51.2 günde tamamlandığı tespit edilmiştir. Buna göre, Çizelge 1'de de görüldüğü gibi, en kısa süre 16.4 gün ile B'den, en uzun süre 51.2 gün ile B–M+ 1MS:2PK'den elde edilmiştir. B'de elde edilen

16.4 günlük süre önceki çalışmalarda (Ragunathan ve ark., 1996; Thomas ve ark., 1998; Ragunathan ve Swaminathan, 2003) belirtilen sürelerle göre daha kısa bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda (Delmas ve Mamoun, 1990; Olivier 1990; Yıldız ve Saya, 1994) basidiokarp oluşumu üzerine, ışık yoğunluğu ile uygulama süresi, C ve N oranı ile kaynağı, demir ve CO₂ konsantrasyonunun etkili olduğu belirtilmiştir. Kompost yapımında kullanılan bitkisel atıkların kuru ağırlıktaki % azot oranları; buğday sapında 0.52 (Yıldız ve ark., 1998), mısır sapında 0.96 (Philippoussis ve ark., 2003) , pirinç kepeğinde 4 (Yıldız, 1997), mercimek samanında 1.48 (Yıldız, 1997) olduğu belirtilmiştir. Ayrıca Ginterova ve Maxianova, (1975) *P. sajor-caju*'nun atmosferik nitrojeni fikse ettiğini belirtmişlerdir. Basidiokarp oluşum süresinin farklı ortamlarda, değişik sürelerde elde edilmiş olmasının Yıldız (1998)'ın da belirttiği gibi, kültür ortamının N içeriği ile C/N oranından kaynaklanmış olabilir.

Ragunathan ve Swaminathan, (2003) değişik zirai atıklar üzerinde yapılan *Pleurotus spp.* kültüründe toplam hasadın 35 günde tamamlandığını belirtmişlerdir. Laborde ve ark. (1990), *Pleurotus*'un komposta aşılmasından sonra toplam hasat süresinin 64 günde, Zhang ve ark. (2002), *P. sajor-caju*'nun pirinç ve buğday sapı üzerinde yapılan kültüründe toplam hasadın yaklaşık 40 günde tamamlandığını saptamışlardır. Bu çalışmada; Çizelge 1'de görüldüğü gibi; birinci hasat süresi 21.6–55.0 günde tamamlanmıştır. Buna göre; birinci hasatta en kısa süre 21.6 gün ile B'den, en uzun süre 55.0 gün ile B–M+ 1MS:2PK'den elde edilmiştir. Birinci hasat süresi göz önüne alındığında B ve B+ 1MS:2PK ortamları birinci hasat süresinin kısalığı bakımından en iyi seçeneklerdir. İkinci hasat süresi 74.4 – 95.2 günde tamamlanmıştır. İkinci hasatta en kısa süre 74.4 gün ile B–M+ 1MS:2 PK'den en uzun süre 95.2 gün ile B–M+ 2MS:1PK'den elde edilmiştir.

Kumar ve ark., (2000) *P. sajor-caju*'da maksimum verimi *Ageratum spp.* sürgünlerinden elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ragunathan ve ark., (1996) 1 kg kuru mısır saplarından 327 g taze ürün elde ettiklerini bildirmişlerdir. Thomas ve ark., (1998) *P. sajor-caju* kültüründe kullandıkları 3 kg komposttan, yaprak saplarında 709 g, üzüm salkımı atıklarında 611 g, mısır özünde 403 g taze mantar elde ettiklerini bildirmişlerdir. Zhang ve ark., (2002) *P. sajor-caju* kültüründe kullanılan 1 kg kuru öğütülmüş pirinç samanıyla 158.6 g, kırılmış pirinç samanıyla 158.3 g ve buğday samanıyla da 141 g verim elde edildiğini belirtmişlerdir. Ragunathan ve Swaminathan (2003), *P. sajor-caju* için 1 kg kuru materyalden, pamuk sapı kullanılarak 414 g, sorgum sapından 367 g, mısır saplarından 273 g ve bunların karışımı kullanılarak yapılan kültürden ise, 352 g taze mantar elde edildiğini saptamışlardır. Aynı araştırmacılar, verim miktarının kullanılan materyalin selüloz ve lignin değerlerine bağlı olduğunu da tespit etmişlerdir.

Singh ve ark., (1993) *P. sajor-caju* ve *P. platipus*'u sıcak suyla muamele edilmiş çeltik sapı üzerinde yetiştirdiklerinde, kuru materyalin %60–70'i kadar ürün elde ettiklerini belirtmişlerdir. Çalışmalarımızda birinci hasatta verim miktarı 7.1–10.6 g olarak tespit edilmiştir. Çizelge 2'ye göre; en düşük verim 7.1 g ile B+ 2MS:1PK'den, en yüksek verim ise 10.6 g ile B–M+ 1MS:2PK'den elde edilmiştir. Toplam hasatta ise verim miktarı, 15.7 – 25.1 g olarak tespit edilmiştir. Toplamda en düşük verim miktarı 15.7 g ile B'den elde edilirken en yüksek verim ise 25.1 g ile B–M+ 1MS:2PK'den elde edilmiştir (Çizelge 2). Çizelge 2'de belirtilen sonuçlara göre birinci hasat miktarı ile toplam hasat miktarı arasında pozitif bir ilişki belirlenirken; birinci hasatta elde edilen mantar miktarı (gr) arttıkça ikinci hasatta bu miktarın azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Farklı Materyallerin Değişik Oranlarının *P.sajor-caju*'nun Verimi Üzerine Etkileri (gr)

Materyaller*	1.Hasat (gr) X ±SD	2.Hasat (gr) X ±SD	3.Hasat (gr) X ±SD	Toplam Hasat (gr) X ±SD
B	7.6±4.4a*	4.1±2.6a	3.9±1.2a	15.7±5.2c
B-M (1:1)	8.2±3.3a	4.5±3.4a	4.9±2.5a	16.6±4.7bc
B 1MS:2PK	9.2±3.3a	3.9±3.3a	5.6±3.5a	18.7±3.5bc
B-M 1MS:2PK	10.6±2.5a	7.3±4.5a	7.2±3.6a	25.1±6.6a
B2MS:1PK	7.1±2.5a	5.9±3.4a	7.8±5.0a	20.7±3.2abc
B-M 2MS:1PK	9.2±1.9a	7.2±1.5a	5.6±2.7a	21.9±3.4ab

*B: Buğday Sapı, PK: Pirinç Kepeği, B-M: Buğday-Mısır Sapları (1:1), MS: Mercimek Samanı

* Ortamlar üzerindeki harfler sütun karşılaştırmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklı değildir (P<0.05).

Elde edilen sonuçlar Ragunathan ve ark., (1996) ile Ragunathan ve Swaminathan, (2003) tarafından bildirilen verilere göre daha az; Zhang ve ark., (2002) tarafından belirtilen sonuçlara göre de daha fazla bulunmuştur. Sonuçlar arasındaki bu fark, Thomas ve ark. (1998)'nin belirttiği gibi materyalin selüloz ve lignin değerine bağlı olabileceği gibi, Olivier (1990)'in belirttiği gibi substratın besinsel içeriğinin ve yapısının farklı olmasından da kaynaklanabilir. Çizelge 1'de görüldüğü gibi MGS (38.0) ve BOS (51.2)'de en uzun sürenin B-M 1MS:2PK edilmesine rağmen, en yüksek verim 25.1 g ile bu ortamdan elde edilmiştir. Toplam hasat süresi 95.0 gün olması nedeniyle bu ortamı üreticiye önerebiliriz. Zira en kısa MGS ve BOS B'den elde edilmiş olmasına karşın 15.7 g 'lik en düşük toplam verim B'den elde edilmiştir. Yıldız (1998), 'in belirttiği gibi, gelişim süreleri ile verim miktarı arasında paralel bir bağlantı saptanamamıştır.

SONUÇ

Çalışmada, en yüksek verimin elde edildiği B-M+ 1MS:2PK içeren kompost ortamı, en kısa hasat süresinin elde edildiği ikinci grup olmuştur. Mantar üretiminde tarımsal atıklardan yararlanılması, çok önemli bir çevre problemi olan zirai atıkların ortamdaki kaldırılmasında iyi bir çözüm olacağı düşünülebilir. Katı atıkların dönüşümü ile şapkalı mantar gibi kaliteli bir besin kaynağı elde edilirken, aynı zamanda

çevrenin korunmasında doğal bir yöntem sunulmuş ayrıca kolay ve uygun fiyata erişilebilen materyal eldesi ekonomik bir kazanç ta sağlanmış olur. Sonuç olarak; *P. sajor-caju* kültürü için üreticilere farklı alternatifler denenerek diğer deneme gruplarına göre en kısa sürede ve en yüksek miktarda ürün veren B-M+ 1MS:2PK ortamı önerilebilir.

TEŞEKKÜR

Çalışma Dicle Üniversitesi tarafından "DÜBAP-04-FF-31" nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Ahmed SAJA, Kadam VP, Mane SS, Patil MMV, Baig 2009. Biological efficiency and nutritional contents of *Pleurotus fl orida* (Mont.) Singer cultivated on different agro-wastes. Natural Science, 7: 44-48.
- Aksu Ş, 2001. Kayın Mantarı (*Pleurotus spp.*) Üretim Teknikleri. Atatürk Bahçe Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü 16 s. Yayın No: 85, Yalova.
- Aletor VA, 1985. Compositinal Studies on Edible Tropical Species of Mushrooms, Food Chemistry, 54(3): 265-268.
- Alofe FV, Odeyemi O, Oke O, 1996. Three Edible Wild Mushroom From Nigeria: Their Proximate and Mineral Composition, Plant Foods For Human Nutrition, 49 : (1), 63-73.

- Block SS, Tsau G, Hau L, 1959. Experiment In the Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Mushroom Science, 4: 309-325.
- Bonatti M, Karnopp P, Soares HM, Furlan SA, 2004. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* Nutritional Characteristics When Cultivated in Different Lignocellulosic Wastes. Food Chemistry 88, 425-428.
- Chang ST, Lau DW, Cho KY, 1981. The Cultivation and Nutritional Value of *Pleurotus sajor-caju*. European journal of applied microbiology and biotechnology 12, 58-62.
- Cogorni PFBO, Schulz JG, Alves EP, Gern RMM, Furlan SA, Wisbeck E, 2014. The production of *Pleurotus sajor-caju* in peach palm leaves (*Bactris gasipaes*) and evaluation of its use to enrich wheat flour, Food Science And Technology Campinas, 34(2): 267-274
- Das N, Mahapatra SC, Chattopadhyay RN, 2000. Use of Wild Grasses as Substrates for the Cultivation of Oyster Mushroom in South West Bengal,. Mushroom Research, 9, 95-99.
- Delmas J, Mamoun M, 1990. Le *Pleurote* en Corne d'Abondance un Champignon Aujourd'Hui Cultivable en France. Dossier *Pleurote* (ed.J.M.Olivier).INRA, Bordeaux, 101-109.
- Duncan DB, 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11:1-42
- Eger G, Eden G, Wissig E, 1976. *Pleurotus Ostreatus* -breeding potential of a new cultivated mushroom. Theoretical and Applied Genetics.47, 155-163.
- Ginterova A, Maxianova A, 1975. The Balance of Nitrogen and Composition of Proteins in *Pleurotus ostreatus* Grown on Natural Substrates, Folia Microbiologica.20, 246-50.
- İlbay ME, Okay Y, 1996. *Pleurotus sajor-caju* (Fr) Singer Yetiştiriciliğinde Fındık Kabuğu Kullanım Olanakları, Turkish Journal of Botany, 20, 285-289.
- Kumar P, Pal J, Sharma BM, 2000. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on Different Substrate, Mushroom Research, 9,43-45.
- Laborde J, Clauzel P, Crabos O, Delmas J, 1990. Aspest Proatigues de la Culture de *Pleurotus spp.*, Dossier *Pleurote* I.N.R.A. Press Bordeaux, 30-51.
- Oliver JM, 1990. Les Besoins des *Pleurotus* Cultives ,Bulletin de la FNSACC, 45, 33-51.
- Oliver, JM, 1988. Les Besoin en Lumiere Dans in Culture des *Pleurotus*, Bulletin de la FNSACC, 40, 1433-1439.
- Philippoussis AN, Diamantopoulou PA, Zervakis GI, 2003. Correlation of the Properties of Several Lignocellulosic Substrates to the Crop Performances of the Shiitake Mushroom *Lentinula edodes*, World Journal of Microbiology & Biotechnology, 19, 551-557.
- Ragurathan R, Swaminathan K, 2003. Nutritional Status of *Pleurotus spp.* Grown on Various Agro-wastes, Food Chemistry, 80, 371-375.
- Ragurathan R, Gurusamy R, Palaniswamy M, Swaminathan K, 1996. Cultivation of *Pleurotus* Species on Various Agro- residues, Food Chemistry, 55, 139-144,
- Sagır A, Yıldız A, 2004. Growth of Mycelium of *Pleurotus spp.* on Different Grains and Determination of Their Competition with Some Contaminant Fungi. Acta Alimentaria 33: 249-257.
- Sanchez C, 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and Other Edible Mushrooms. Applied Microbiology and Biotechnology 85: 1321-1337.
- Shashirekha MN, Rajarathnam S, Bano Z, 2002. Enhancement of Bioconversion Efficiency and chemistry of the mushroom, *Pleurotus sajor-caju* (Berk and Br.) Sacc. Produced on Spent Rice Substrate, Supplemented with Oil Seed Cakes, Food Chemistry, 76, 27-31.
- Shukla CS, Biswas MK., 2000. Evaluation of Different Techniques for Oyster Mushroom Cultivation. J Mycology Plant Pathology, 30: 431-435.

- Singh NI, Singh SM, Devı LS, 1993. Cultivation of *Pleurotus platypus* and *Pleurotus sajor-caju* in Imphal. *Journal of Food Science and Technology*, 6: 444-446.
- Thomas GV, Prabhu S.R, Reeny M.Z, Boparah BM, 1998. Evulation of Lignocellulosic Biomass from coconut palm as Substrate for Cultivation of *Pleurotus sajor caju* (Fr) Singer, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 14, 879-882.
- Yıldız A, 1997. *Pleurotus florida* Fovose'nin Gelişim Evreleri ve Verimi Üzerine Dezenfektan Olarak Kullanılan Benlatenin Bazı Dozlarının Etkileri. XIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Bildiri Metinleri Kitabı. İstanbul-TURKEY. 2, 312-319.
- Yıldız A, 1998. Farklı Katkı Maddelerinin Değişik Oranlarının *Pleurotus florida* Fovose'nin Misel Gelişimi Basidiokarp Oluşum ve Gelişim Süreleri ile Verim Miktarı Üzerine Etkileri *Turk Journal of Biology*, TÜBİTAK, 22, 127-142
- Yıldız A, Karakaplan M, 2003. Evaluation of Some Agricultural Wastes for the Cultivation of Edible Mushrooms (*Pleurotus ostreatus* var. *salignus*). *Journal of Food Science and Technology -Mysore-* 40: 290-292.
- Yıldız A, Karakaplan M, Aydın F, 1998. Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq.ex Fr.) Kum.var.*salignus* (Pers.ex Fr.) Konr. et Maubl: Cultivation, Proximate Composition, Organic and Mineral Composition of Carpophores. *Food Chemistry*, 61: 127-130.
- Yıldız A, Saya Ö, 1994. Demirin Farklı Konsantrasyonlarının *Pleurotus Florida fovose*'nin Basidiokarplarının Oluşum ve Gelişim Evreleri ile Ürün Verim Miktarlar Üzerine Etkileri, *Doğa Türk Biyoloji Dergisi*, 18(3): 189-194.
- Yıldız A, Saya Ö, 1996. Diyarbakır İli ve Çevresinde Doğal Olarak Yetişen *Pleurotus* Türlerinin Saptanması ve Kültüre Alma Çalışmaları Üzerine Bir Araştırma, *Turk Journal of Biology*, 20, 65-71. Cultivation of the *Pleurotus ostreatus* Culture Mushroom, *Process Biochemistry*, 38, 301-306.
- Zadrazil F, 1978. Cultivation of *Pleurotus*. In *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*, eds S. T. Chang & W. A. Hayes. Academic Press New York 521- 558. ISBN 0-12-188050.
- Zadrazil F, Dube, H.C, 1992. The Oyster Mushroom: Importance and prospects Mushroom Research, 1, 25-32.
- Zadrazil F, 1980a. Conversion of Different Plant Wastes into Feed by *Basidiomycetes*, *European journal of applied microbiology and biotechnology*, 9, 243-248.
- Zadrazil F, 1980b. Influent of Ammonia Nitrate and Organic Supplements on the Yield of *Pleurotus sajor-caju*, *European journal of applied microbiology and biotechnology*, 9, 31-35.
- Zadrazil F, 1974. The Ecology and Industrial Production of *Pleurotus ostreatus*. *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornicopiae* and *Pleurotus eryngii*. *Mushroom Science*, 9, 621-652.
- Zhang R, Lı X, Fadel J.G, 2002. Oyster Mushroom Cultivation With Rice and Wheat Straw. *Bioresource Technology*, 82: 277-284

Ömrünü Tamamlamış Elektrikli Araç Bataryalarının Çevresel Yönetimi

Emine CAN GÜVEN^{1*}, Kadir GEDİK²

ÖZET: Araç sayısının artmasıyla hızla tükenen petrol kaynakları ve hava kirliliğindeki artış enerji sektöründe yeni arayışlara yol açarak alternatif enerji kaynaklarının kullanımı yönünde çalışmaları hızlandırmıştır. Bu amaçla geliştirilen elektrikli araçlar, kirletici emisyonlarının konvansiyonel araçlara göre düşük olması ve petrole bağımlılığı azaltması nedeniyle geleceğin teknolojisi olarak öngörülmektedir. Elektrikli araçların üretim, kullanım ve kullanım sonrası aşamaları ele alındığında, sıfır kirletici emisyonu mümkün olmamakla birlikte en önemli çevresel etkisi kullanılan bataryalardan kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada, kullanım ömrünü tamamlamış elektrikli araç bataryalarının atık azaltma, yeniden kullanım, geri dönüşüm ve geri kazanım bağlamındaki çevresel yönetimi değerlendirilmiştir. Tüm alternatifler incelendiğinde, yeniden kullanım, bataryaların faydalı kullanım ömürlerini arttırarak hem ekonomik hem de çevresel açıdan katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Atık batarya, Atık yönetimi, Hava kirliliği, Sıfır emisyon, Yeşil teknoloji

Environmental Management of End-of-life Electric Vehicle Batteries

ABSTRACT: The rapid depletion of petroleum reserves and increases in air pollution due to rising use of vehicles has accelerated efforts towards the use of alternative energy sources. Electrical vehicles, developed for this purpose, are projected to be the future technology in terms of lower pollutant emissions in contrast with conventional vehicles and reduction in petroleum dependency. Zero emission is not possible considering production, usage and end-of-life phases as well as batteries constitute the most significant environmental concern in electric vehicles. Accordingly, in this study, environmental management of end-of-life batteries from electric vehicles is evaluated within the context of reduce, reuse, recycle and recovery. Considering all alternatives, reuse will contribute to the economic and environmental aspects by increasing the useful life of the batteries.

Keywords: Waste battery, Waste management, Air pollution, Zero emission, Green technology

¹Emine CAN GÜVEN (Orcid ID: 0000-0002-3540-3235), Yıldız Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

²Kadir GEDİK (Orcid ID: 0000-0002-1391-9265), Eskişehir Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Eskişehir, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Emine CAN GÜVEN, e-mail: ecguven@yildiz.edu.tr

GİRİŞ

Atmosfere büyük miktarda kirlilik salınımına neden olan ulaşım sektörünün, 2010 yılından itibaren küresel ısınmayı tetikleyen en önemli etken haline geldiği düşünülmektedir (Elker, 2011). Nüfus artışına bağlı olarak ulaşım yoğunluğunun artması, fosil yakıt kullanan motorlu taşıt sayısının da gün geçtikçe artmasına neden olmuş ve beraberinde artan sera gazı emisyonları, sera etkisi ve iklim değişikliği gibi sorunları gündeme getirmiştir (Akbaba, 2011). Ulaşım sektörünün yoğun olduğu Avrupa Birliği'nde bu sektör, azot oksit (NO_x) emisyonunun %39'u, karbonmonoksitin (CO) %36'sı, karbondioksitin (CO_2) %25'i ve partikül maddenin (PM) %18'ine neden olmaktadır (Messagie ve ark., 2014). Araç yoğunluğuna bakıldığında ülkemizde de benzer durum söz konusu olup Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2017 yılında trafiğe kayıtlı araç sayısını 22 218 945 olarak açıklamış, son 5 yılda araç sayısında yaklaşık %33'lük bir artış gerçekleşmiştir (TÜİK, 2018). Bir insanın günlük ihtiyacı olan 15 m^3 temiz havayı tek bir taşıtın 10 dakikada tehlikeli hale dönüştürmesi, taşıt yoğunluğunun artışına bağlı olarak ortaya çıkacak hava kirliliğinin boyutu hakkında fikir vermektedir (MEB, 2011).

Ulaşımında kullanılan araç sayısının artmasına bağlı olarak hızla tükenmekte olan petrol kaynakları, yüksek yakıt fiyatları, hava kirliliği ve sera gazı miktarındaki artış, enerji sektöründe yeni arayışlara yol açarak alternatif enerji kaynaklarının kullanımı yönündeki çalışmaları hızlandırmıştır. Günümüzde, petrol tüketimini azaltmak ve gelecekte oluşabilecek potansiyel enerji krizlerinin önüne geçmek için elektrik enerjisi ile çalışan otomobiller geliştirilmeye başlanmıştır. Ulaşım sektörü, dünyadaki toplam enerji tüketiminin %27'sine (Tie ve Tan, 2013) ülkemizde ise toplam enerji tüketiminin %20'sine karşılık gelmektedir (UDHB, 2011). Ülkemizde ulaşım sektöründe

tüketilen enerjinin %99'u petrol ürünlerinden karşılanmaktadır (UDHB, 2011). Trafikteki araçların tükettikleri enerji miktarı göz önüne alındığında elektrikli araçların yaygınlaşması ile bu enerji, elektrik enerjisinden karşılanacaktır (Birleştirici ve ark., 2015).

Enerji üretim maliyetinin düşük olması nedeniyle yanma işleminde, yakıt olarak çoğunlukla fosil yakıtlar gibi ısıl kapasitesi yüksek maddeler tercih edilmektedir. Artan enerji ihtiyacına bağlı olarak fosil yakıtların bu talebi karşılayamaması ve kaynakların hızla tükenmesi, bilim insanlarını ve yetkili kurum/kuruluşları alternatif yakıt arayışına yöneltmekte, ancak, mevcut sistemler ve altyapı olanaklarının getirdiği kısıtlamalar nedeni ile fosil yakıtlardan alternatif yakıtlara geçilmesi beklenen hızda gelişmemektedir (Akbaba, 2011). Konvansiyonel araçlar günümüzde hala CO_2 , NO_x , karbon karası ve partikül madde emisyonları açısından temel kaynaktır (Buekers ve ark., 2014). Herhangi bir önlem alınmamış benzinli araçların egzoz gazında hacimsel olarak %0.85 CO , %0.08 NO_x , %0.05 hidrokarbonlar (HC) ve %0.005 katı parçacıklar bulunmaktadır. Dizel motorlarda ise benzinli motorlara göre daha az olmakla birlikte CO ve HC , benzinli motordan daha fazla oranda NO_x bulunmakta, en önemli parametre olarak ise partikül madde öne çıkmaktadır (Keskin ve Sağıroğlu, 2010). CO_2 ve N_2O gibi sera gazı emisyonlarının azaltılması bağlamında elektrikli araçların kullanımı çevresel açıdan olumlu bir gelişme olarak görülse de elektrikli araç bataryalarını şarj etmek için kullanılan elektrik enerjisinin konvansiyonel teknolojilerle üretilmesi nedeniyle elektrikli araçların %100 temiz bir teknoloji olmadığı öne sürülmektedir (Buekers ve ark., 2014). Elektrikli araçlar piyasaya girdiğinde kirliletiçi emisyonlarının, trafik emisyonundan enerji üretim tesislerinin olduğu yerlere kayması beklenmektedir (Buekers ve ark., 2014).

Elektrikli araçların emisyon avantajı göz ardı edilemez bir gerçektir. Ancak, tüm çevresel ve sağlık etkilerinin ortaya konması için elektrikli araç üretimi ve batarya şarjı için gerekli olan enerjinin üretim aşamasında gerçekleşen kirletici emisyonları da değerlendirilmelidir (Buekers ve ark., 2014). Yapılan çalışmalarda elektrikli araçlar emisyon açısından değerlendirilmekte ve konvansiyonel araçlara kıyasla daha düşük hava kirletici emisyonları olduğu belirtilmektedir. Öte yandan, diğer araçlarda olduğu gibi elektrikli araçların da üretim, kullanım, bakım/onarım süreci ve kullanım sonrası ortaya çıkacak atıkları da değerlendirilerek çevresel etkisi bir bütün halinde ele alınmalıdır. Ayrıca, bu araçların çevresel etkilerinin büyük bir kısmına karşılık gelen bataryaları da incelenmelidir.

Geleceğin teknolojisi olarak görülen ve birçok ülkede teşvik edilen elektrikli araçların gün geçtikçe sayısı artmakta ve 2020 yılında ulaşım sektöründeki araçların %7'den fazlasının elektrikli araç olacağı tahmin edilmektedir (WMW, 2011). Araç sayısının artması bu araçlarda kullanılan bataryaların sayısının da artmasıyla potansiyel atık oluşumu anlamına gelmektedir. Amerika'daki elektrikli araçların üçte birinin satıldığı Kaliforniya eyaleti özelinde yapılan bir çalışmada, elektrikli araçlarda kullanım ömrünü tamamlayan batarya potansiyelinin 620 000-890 000 ton yıl⁻¹ olduğu belirtilmektedir (Hendrickson ve ark., 2015). Dünya genelindeki elektrikli araç sayısı dikkate alındığında atık batarya potansiyelinin ciddi boyutlarda olduğu veya olacağı görülmektedir. Bu nedenle, araçlarda kullanım ömrünü tamamlayan bataryalara uygulanacak işlemlerin ekonomik ve çevresel boyutu incelenmelidir. Buradan hareketle, söz konusu bu çalışmada, elektrikli araçlarda kullanım ömrünü tamamlamış bataryaların kullanım sonrası akıbeti, uygulanan yeniden kullanım ve bertaraf

işlemlerinin çevresel açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Elektrikli Araçlar

Elektrikli araçlar sistem konfigürasyonları ve enerji akışına göre tümü elektrikli araçlar, hibrit elektrikli araçlar ve bataryalı/bataryasız yakıt pilli araçlar olarak üç gruba ayrılmaktadır (Kerem, 2014). Elektrikli araçlar, elektrik motoru, elektronik kontrol modülü, pil, pil yönetim sistemi, akıllı akü şarj cihazı, kablolama sistemi, jeneratif fren sistemi, araç gövdesi, soğutma, fren gibi temel bileşenlerden meydana gelmektedir (Algül, 2015).

Elektrikli araçlar sera gazı ve kirli duman gibi kirletici emisyonların azaltılması için alternatif olarak öne çıkmaktadır (Vivanco ve ark., 2014). Elektrikli araçların kullanımı, CO₂ emisyonlarının azalmasını ve petrole olan bağımlılıktan kurtulmayı sağlayacaktır (Buekers ve ark., 2014). Elektrikli ve hibrit araçlar düşük sera gazı emisyonunun yanı sıra benzin ve dizele göre daha ekonomik olması nedeniyle "yeşil teknoloji" olarak değerlendirilmektedir. Ancak, güncel çalışmalar incelendiğinde elektrikli araçların enerji ihtiyaçlarının, özellikle yenilenebilir enerji kullanımının yaygın olmadığı ülkelerde, net sera gazı emisyonunda artışa neden olduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda, bu araçlarda kullanılan donanım ve bataryaların, kullanım ömrünü tamamlaması sonucunda bertarafı ve/veya geri kazanımına yönelik teknolojilerin geliştirilmesi gerekmektedir (Manzetti ve Mariasiu, 2015). Elektrikli araçların çevresel etkisinin belirlenmesinde üretim, kullanım ve kullanım sonrası akıbetinin belirlenmesi önemlidir (Manzetti ve Mariasiu, 2015). Bu araçların ve bataryalarının üretim aşamasında içten yanmalı motorlu araçlara göre daha fazla çevresel etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Girardi ve ark., 2015).

2020 yılı itibarıyla dünyada yaklaşık 11 milyon elektrikli aracın kullanımda olabileceği tahmin edilmektedir (Ramoni ve Zhang, 2013).

Ülkemizde, elektrikli araçların kullanımına yönelik teşvikler bulunmakla birlikte özellikle hibrit araçlara getirilen ÖTV düzenlemesi ile 2017 yılında hibrit araç satışlarında büyük artış yaşanmıştır (TEHAD, 2018). Ancak %100 elektrikli araçlar ülkemizde yeterli ilgiyi görememiş ve satışları dünya ortalamasının çok gerisinde kalmıştır (TEHAD, 2018). Hibrit elektrikli araçlar için MTV teşviği sağlanmaması, tamamen elektrikli araçların performansının düşük olması ve ülkemizdeki şarj istasyonu sayısının yetersiz olması elektrikli araç kullanımının düşük olmasına yol açmaktadır. Ülkemizde küçük büyük tüm elektrikli araç şarj istasyonlarının sayısı 2016 yılında 1000 olarak belirtilmiş olup bunun sadece 400 tanesinin kullanıma açık olması elektrikli araç kullanımının yaygınlaşmasını sınırlandıran başka bir etkidir (TEHAD, 2017).

Elektrikli araçların piyasaya girmesi sera gazı emisyonlarının azaltılması yönünde büyük bir fırsat olarak görülebilir ancak, sıfır emisyon hiç bir durumda mümkün değildir (Girardi ve ark., 2015). Elektrikli araçlardaki en önemli çevresel etki, elektrik ihtiyacı ve bu ihtiyacın karşılanması için kullanılan teknolojidir (Girardi ve ark., 2015). Elektrikli araçların çevresel ve sağlık etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, elektrikli araçların insanlara yönelik toksik etkisinin %45-47 oranında bataryalarından kaynaklandığı belirlenmiştir (Girardi ve ark., 2015). Elektrikli araçların avantajlarından bahsedebilmek için üretim, kullanım ve kullanım sonrası çevresel etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla kullanılabilir en uygun yöntem "yaşam döngüsü analizi" yaklaşımıdır (Samaras ve Meisterling, 2008; Girardi ve ark., 2015). Bir ürün ya da hizmetin üretimi için kullanılan ham madde ve enerji aşamasından itibaren ilgili tüm üretim, tüketici tarafından kullanım ve kullanım sonrası atık olarak bertarafını kapsayan bu yaklaşım ile

elektrikli araç ve bataryalarının değerlendirilmesi, konunun bir bütün olarak ele alınması açısından önem arz etmektedir.

Elektrikli Araçlarda Kullanılan Bataryalar

Kimyasal enerjiyi elektrik enerjisine dönüştürerek bünyesinde depolayan cihazlar pil, çoğunlukla aynı kimyasal yapıya, ölçüye ve elektrik kapasitesine sahip pillerin bir araya getirilerek oluşturdukları gruplara da batarya adı verilir (TAP, 2015). Sıkça birbirinin yerine kullanılan batarya ve akümülatör terimleri çalışma prensibi olarak aynı olmakla birlikte akümülatör kurşun asit bataryalara karşılık gelmektedir (ÇŞB, 2006). Elektrikli araç bataryaları, üreticilerine bağlı olarak farklı kompozisyon ve miktarda metaller, organik kimyasallar ve plastikler içerebilir (Ramoni ve Zhang, 2013). Bataryalar kimyasal yapısına göre aşağıdaki gibi gruplandırılabilir (Algül, 2015; Manzetti ve Mariasiu, 2015). Sıklıkla tercih edilen batarya çeşitlerinin yapılarındaki maddeler Çizelge 1'de özetlenmiştir.

Kurşun asit bataryalar (Pb-asit); En eski tip bataryadır. En önemli çevresel etkisi yapısında bulunan asidin ve kurşunun işlenmesi ve kullanım sonrası bertaraf edilmesidir. Yaklaşık olarak 20 yıla kadar ömürleri vardır. Verimlilikleri de %95-%99 arasında değişkenlik gösterir.

Nikel-kadmiyum bataryalar (NiCd); En fazla kullanım ömrüne sahip bataryadır. Yapısında bulunan kadmiyum nedeniyle çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğundan kullanımı sınırlandırılmıştır.

Nikel-metal-hidrit bataryalar (NiMH); Üretim ve işleyiş açısından NiCd bataryalara benzemektedir. Düşük depolama özelliği nedeni ile yüksek güç ihtiyacında çok büyük pillerin kullanılması gerekmektedir.

Çizelge 1. 25 kWh kapasiteye sahip bazı bataryaların özellikleri ve yapısında bulunan maddeler

Batarya çeşidi	Ağırlık (kg)	Yapısında bulunan maddeler	Kaynak
Pb-asit	500	Kurşun, kurşun-oksit, asit (%22-26 H ₂ SO ₄), cam elyaf keçe, çelik veya polipropilen dış kaplama	(Gaines ve Singh, 1995)
NiCd	439	Cd (% 15), Ni (% 22)	(Gaines ve Singh, 1995)
NiMH	330	KOH elektrolit, çelik, eser elementler (%33), geçiş metalleri (%60), diğer metaller (% 7)	(Gaines ve Singh, 1995)
Li-ion	167.5	Batarya tipi ve kullanım alanına göre farklı lityum bileşikleri (LiCoO ₂ , LiMn ₂ O ₄ , LiNiMnCoO ₂ , LiFePO ₄ , LiNiCoAlO ₂ , Li ₄ Ti ₅ O ₁₂)	(BU, 2016; ULTRALIFE, 2016)

Lityum-ion bataryalar (Li-ion); Yüksek enerji depolama kapasitesine sahip ancak maliyeti yüksek, ısınması fazla ve kullanım ömrü kısadır.

Lityum-ion polimer bataryalar; Li-ion bataryaya göre daha uzun ömürlü ancak aşırı yüklenme hali ve şarjı kritik seviyenin altına düştüğü durumlarda fonksiyonel açıdan daha kararsız yapıdadır.

Sodyum nikel klorür bataryalar (NaNiCl); Zebra batarya olarak da bilinir. Yüksek depolama kapasitesine sahip olup işletme ve uzun süre depolanması konularında dezavantajlıdır.

NiMH bataryalar daha yakıt dostu ancak Li-ion bataryalar daha düşük işletme maliyeti ve Pb-asit bataryaya göre daha düşük sera gazı emisyonuna sahiptir (Shahi ve Wang, 2010). NiMH bataryalar sera gazı emisyonu, tatlı su ekosistemine toksik etkisi, ötrofikasyon ve insanlar üzerindeki toksik etkisi gibi parametreler dikkate alındığında en fazla etkiye sahip batarya çeşididir (EC, 2011). Bataryanın tasarımı, şarj durumu, sıcaklığı, önceki çevrim geçmişi ve kullanımı gibi etkenler bataryaların şarj ve deşarj olma durumlarını belirlemektedir. Yüksek güç yoğunluğu gerektiren durumlarda Li-ion veya NiMH bataryalar tercih edilmektedir (Kerem, 2014). 100 km'den fazla sürüş mesafesi için elektrikli araçların enerji ihtiyacının karşılanabilmesi için 20 kWh'ten daha fazla kapasiteye sahip bataryaya ihtiyaç

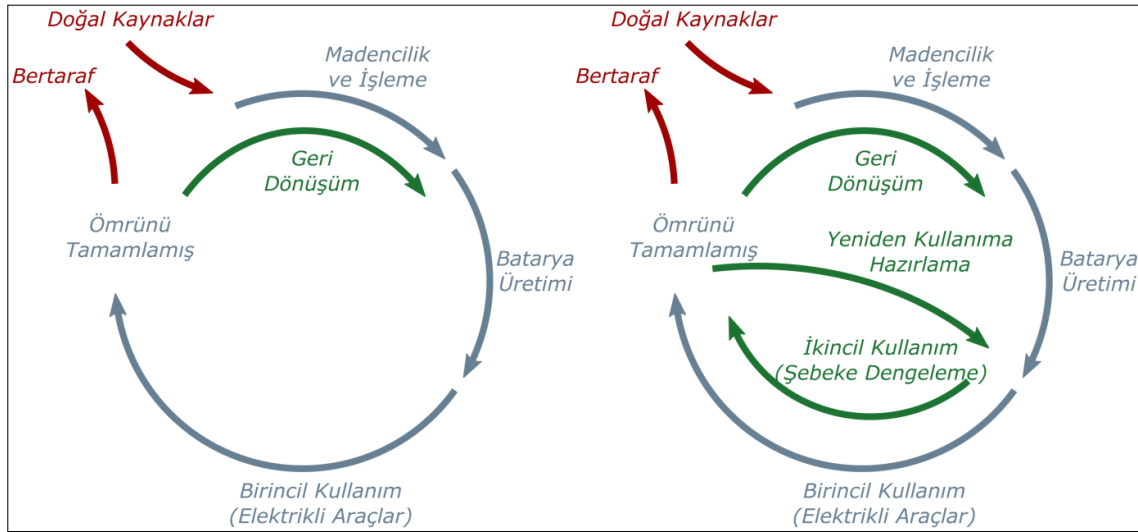
duyulmaktadır (Hacker ve ark., 2009). Elektrikli araçların üretim ve bertarafından kaynaklanan ekonomik etkileri nedeniyle elektrikli araç fiyatlarındaki en önemli faktör bataryadır (Hacker ve ark., 2009; Neubauer ve Pesaran, 2011). Elektrikli araçların en pahalı parçası olan bataryaların maliyeti 2014 yılında ortalama 380\$ kWh⁻¹ mertebesinde (Kerem, 2014). Günümüz elektrikli araçlarında genellikle 10-85 kWh kapasiteli Li-ion bataryalar tercih edilmekte, gelecek nesil elektrikli araçlarda da en fazla bu bataryaların kullanılacağı öngörülmektedir (Hacker ve ark., 2009; Faria ve ark., 2014).

Kullanılmış Bataryaların Çevresel Akıbeti

Bir elektrikli aracın ömrü yaklaşık 200 000 km (Faria ve ark., 2014) veya 15 yıl (Ramonı ve Zhang, 2013) olarak kabul edilirken kullanılan bataryanın ömrü 8-10 yıl olarak kabul edilmektedir (Hacker ve ark., 2009). Diğer bir yaklaşım ise bataryanın depolama kapasitesinin başlangıç kapasitesine göre %20-30 düşmesi durumunda ömrünü tamamladığı şeklindedir (Ramonı ve Zhang, 2013; Ahmadi ve ark., 2014). Bataryaların ömrünü ve kullanım süresini etkileyen parametreler; fazla şarj etmek, şarjını tamamen boşaltmak, hızlı şarj etmek, kullanım sırasında yüksek sıcaklığa maruz kalması olarak belirtilmektedir (Ahmadi ve ark., 2014). Elektrikli araçlarda ömrünü tamamlamış bataryaların kullanım sonrası geri dönüşümü ve

geri kazanımı, yapısında bulunan değerli metallerin yeniden kullanımı açısından çevresel ve ekonomik öneme sahiptir (Olapiriyakul ve Caudill, 2008). Bataryaların yapısında bulunan toksik maddelerin (Pb, Cd, Ni, Li, sülfürik asit) çevreye zarar vermeyecek şekilde geri kazanım prosesleri uygulanması hem ekonomik açıdan

hem de çevresel açıdan fayda sağlamaktadır (Olapiriyakul ve Caudill, 2008). Ömrünü tamamlamış bataryalar doğrudan bertaraf edilebileceği gibi yeniden kullanım süreci ile faydalı kullanım ömrünün arttırılabileceği bildirilmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Kullanım sonrası doğrudan bertaraf ve yeniden kullanım akış şeması (Ahmadi ve ark., 2014)

Bazı araştırmacılar bataryaların kullanım sonrası için geri dönüşümün en uygun yöntem olduğunu düşünmekle birlikte bazıları da bu bataryaların yeniden üretim sürecine dâhil edilmesinin yeni bir batarya üretmekten daha ekonomik ve avantajlı olduğunu belirtmektedir (Ramoni ve Zhang, 2013). Kapasitesinin %80'ine sahip olan bataryaların ikincil uygulamalarda yeniden kullanımının/geri dönüşümünün, atık azaltılmasının yanı sıra bataryada kalmış olan kapasitenin kullanılması ile çevresel ve ekonomik açıdan katkı sağlayacağı ifade edilmektedir (Ramoni ve Zhang, 2013). Elektrikli araçlarda kullanımını tamamlamış bataryaların yeniden kullanımının çevresel açıdan değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışmada, bataryanın toplam kullanım süresini uzatacağından yeniden kullanımın CO₂ ve sera gazı emisyonunda azalma sağlayacağı vurgulanmaktadır (Ahmadi ve ark., 2014; Faria ve ark., 2014). Ömrü tükenmiş bataryaların

yeniden kullanımının çevresel açıdan değerlendirildiği bir diğer çalışmada, yeniden kullanımın CO₂ emisyonunda %56 azalma sağladığı gösterilmektedir (Ahmadi ve ark., 2014). Atık yönetimi kapsamında 4R (reduce, reuse, recycle, recovery) ile atık oluşumunun azaltılması, atıkların yeniden kullanımı, geri dönüşümü, geri kazanımı gibi yollar ile doğal kaynak kullanımının azaltılması ve atık yönetiminin sağlanmasını amaçlamaktadır (ÇŞB, 2015). Bu yönetim planı kapsamında ömrünü tamamlamış bataryalar için uygulanabilecek yaklaşımlar özetlenmiştir.

Atık Azaltma

Atık yönetiminde ilk ve en önemli aşama olan atıkların azaltılması, atık batarya sayısının azaltılması ile ilişkilendirilebilir. Ancak, gelecekte kullanılması planlanan elektrikli araç sayısı göz önüne alındığında batarya sayısının azaltılması mümkün görünmemektedir. Öte

yandan, bataryaların şarj olma süresinin uzunluğu nedeniyle deşarj olmuş bataryaların dolun istasyonlarında tam dolu bataryalar ile değiştirilmesi yaklaşımı söz konusudur. Deşarj olan batarya testlerden geçerek şarj edildikten sonra tekrar döngüye katılmaktadır. Bu döngünün uzun olmasının batarya sayısının araç sayısından fazla olmasına yol açacağı düşünülmektedir. Bu durum ise bataryalarda çevresel açıdan zararlı olabilecek kimyasalların bulunması nedeniyle yüksek miktarda kimyasalın da üretimini ve çevreye salınmasını beraberinde getirecektir (Kerem, 2014). Bu kadar çok sayıda bataryanın kullanım ömrünü tamamlayarak atık haline geçmesi durumunda ise yüksek miktarda toksik atık oluşacaktır. Bu bataryaların yapısında nikel, kadmiyum gibi toksik maddelerin bulunması nedeniyle uygun geri dönüşüm veya bertaraf teknolojileri kullanılmadığı takdirde çevreye yüksek miktarda toksik maddenin karışması kaçınılmazdır (Manzetti ve Mariasiu, 2015).

Yeniden Kullanım

Elektrikli araçlarda kullanım ömrünü tamamlamış bataryalar hala orijinal depolama kapasitelerinin %70-80'ine sahiptir (Ramoni ve Zhang, 2013). Bu kapasite, elektrikli araç için yeterli olmasa da elektrik şebekelerinde güç dengelemesi gibi ikincil kullanımlar için dikkate değer bir kapasitedir. Bu konuda yapılmış öncü bir çalışmada, elektrikli araç bataryalarının farklı alanlarda yeniden kullanımının teknik ve ekonomik olarak mümkün olduğu belirtilmektedir (Cready ve ark., 2003). Bu bağlamda değerlendirilen ve bataryaların etkili olarak kullanılmasının söz konusu olduğu alanlardan şanzıman takviyesi, hafif ticari uygulamalarda yükleme desteği, yerleşim yerlerinde yükleme desteği ve telekomünikasyon ağında yedekleme gücü olarak kullanımının teknik ve ekonomik açıdan uygulama potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir (Cready ve ark., 2003). Yeniden kullanım

üzerine yapılan çalışmalarda 5-10 yıl gibi sabit bir sürede bataryaların yeniden kullanımının ekonomik açıdan karlı olacağı, frekans regülatörü, iletim ve dağıtım dengeleyicisi, enerji zamanının ayarlanması (Narula ve ark., 2011), voltaj düzenlemesi, ani voltaj yüklemesinin dengelenmesi ve vites değişikliklerinde gecikmenin önlenmesi gibi uygulamalarda bataryaların yeniden kullanılabilirliği belirtilmektedir (Neubauer ve Pesaran, 2011). Öte yandan, araç sahiplerinin ömrünü tamamlamış bataryalarını, güneş ve/veya rüzgâr enerjisi gibi yenilenebilir enerji kaynakları ile gün boyu elektrik üretim sistemi bulunan evlerinde, daha sonra kullanmak için enerji depolamak amacıyla yeniden kullanım sürecine dahil edebileceği belirtilmektedir (McIntire-Strasburg, 2015). Bataryaların binalarda voltaj dengeleyici veya şebeke düzenleyici olarak yeniden kullanımının çevresel etkisi, bataryayı şarj etmek için kullanılacak olan elektrik enerjisinin üretildiği hammaddeye göre de değişmektedir (Faria ve ark., 2014). Yeniden kullanılan bataryanın şarj edilmesi için kullanılacak elektriğin büyük bir kısmı yenilenebilir enerji kaynaklarından elde edilse bile toplam çevresel etkisinin azalmadığı belirtilmektedir (Faria ve ark., 2014).

Geri Dönüşüm

Elektrikli araç bataryalarının kullanım sonrası tipik bertaraf şekli geri dönüşümdür. Ömrünü tamamlamış bataryalara çeşitlerine göre farklı geri dönüşüm teknikleri uygulanmaktadır. Pb-asit bataryalar darbeli kırıcı ile parçalara ayrılmaktadır. Plastik parçalar yıkayıp kurutulduktan sonra eriticiye gönderilmektedir. Eritilen parçalar küçük topaklar haline getirilerek üreticilere gönderilmektedir. Yapısındaki kurşun eritme, kalıplara dökme, safsızlıkların ayrılması işlemlerinden sonra üreticilere gönderilip yeni batarya üretimine katılmaktadır. Yapısındaki sülfürik asit ise nötralize edilerek su kaynaklarına deşarj

edilmekte veya toz sodyum sülfat haline getirilerek deterjan, cam ve tekstil üretiminde kullanılmaktadır (BS, 2016). Otomotiv sektöründeki en büyük başarılarından biri Pb-asit bataryaların %98 oranında geri dönüşümünün sağlanmış olmasıdır (Sullivan ve Gaines, 2010). Kurşun, yaygın olarak kullanılan ve geri dönüşümü kolay olan bir madde olmasına rağmen toksik etkileri nedeniyle çevresel açıdan uygun şekilde işlem yapılmalıdır (Lopez ve ark., 2015). Ni-Cd ve NiMH bataryalar %100 geri dönüştürülmektedir. Eritme işleminden önce bu bataryalardan plastik ve metal parçalar ayrılmaktadır. Metaller "yüksek sıcaklık metal geri kazanım prosesi" ile geri dönüşüme kazandırılmaktadır (BS, 2016). Bataryanın geri dönüşümü çevresel etkiyi azaltırken (Messagie ve ark., 2014) enerji tüketimi açısından bakıldığında aynı şekilde avantajlı olmamaktadır (Samaras ve Meisterling, 2008; Buekers ve ark., 2014). Li-ion bataryanın üretimi esnasında kullanılan enerji 25-30 kWh kg⁻¹ iken (Buekers ve ark., 2014) geri dönüşümü için tüketilen enerji 47 kWh kg⁻¹'dir (Samaras ve Meisterling,

2008). Japonya'da batarya geri dönüşüm merkezinde yapılan bir çalışma, Li-ion bataryalarda bulunan lityumun %56-61 oranında batarya dışında başka ürünlerde kullanılabilceğini göstermektedir (Hacker ve ark., 2009). Elektrikli araç bataryalarının sayısı ve büyüklüğü dikkate alındığında geri dönüşümün makul ve ekonomik olacağı belirtilmektedir (Hacker ve ark., 2009). Ancak, birçok üretici geri dönüşüm sürecinin maliyeti nedeniyle tümüyle geri dönüşüm ve bertarafın çevresel açıdan uygun olmadığı görüşündedir (Xing ve ark., 2011). Elektrikli araç bataryaları için geri dönüşüm tesislerine bazı örnekler Çizelge 2'de özetlenmiştir. Bu tesislerin birçoğunda elektrikli araç bataryalarının yanı sıra ömrünü tamamlamış diğer bataryaların da geri dönüşümü yapılmaktadır. Ülkemizde ilk atık pil geri kazanım tesisi 2016 yılında açılmış olup 2017 yılının ikinci yarısında deneme işletmesine alınmıştır (TAP, 2018). Tesis kurulmadan önce ise toplanan atık pil ve bataryaların belediyelerin katı atık depolama sahalarında saklandığı belirtilmektedir (TAP, 2018).

Çizelge 2. Elektrikli araç bataryası geri dönüşümü yapan bazı tesisler (Green, 2013)

Firma	Ülke	Batarya tipi	Tesisin durumu
SNAM	Fransa	NiCd, NiMH, Li-ion	Pilot tesis
Umicore	Belçika	Li-ion, Li-polimer, NiMH	Tam kapasite çalışan tesis
Accurec	Almanya	Li içeren bataryalar	Kısmi çalışır durumda, yapım aşamasında
Recupyl	Fransa	Li-ion	Tam kapasite çalışan tesis
Toxco	ABD	Tüm batarya çeşitleri	Tam kapasite çalışan tesis
LithoRec	Almanya	Li içeren bataryalar	Pilot tesis
Valdi	Fransa	-	Yapım aşamasında
Retriev Technologies	ABD	Li-ion, NiMH, Pb-asit	Tam kapasite çalışan tesis
Honda	Japonya	NiMH	Pilot tesis
Axeon	İngiltere	Pb-asit, Li-ion	Yapım aşamasında

Geri Kazanım

Ömrünü tamamlamış bataryalar için farklı geri kazanım işlemleri uygulanmakla birlikte temel olarak uygulananlar pirometalurji (yüksek sıcaklık) ve hidrometalurji (düşük sıcaklık) süreçleridir (Larcher ve Tarascon, 2015). Günümüzde kullanılan bataryaların geri

kazanımı için en yaygın kullanılan yöntem doğrudan eritmedir. Kobalt, nikel, mangan gibi değerli materyaller geri kazanılıp paslanmaz çelik (araçların gövdesinin yapıldığı malzeme) üretiminde kullanılır. Lityum ve eser miktardaki elementler de termal eritme nötralizasyonu işlemi sonucu yol temeli ve kaldırımlarda

kullanılan cüruf haline getirilmektedir. Eser elementlerin bataryalardan geri kazanımı, liçleme yöntemi ile mümkün olmakla birlikte bu süreç için ekonomik bir teşvik bulunmamaktadır (Manzetti ve Mariasiu, 2015). Ömrünü tamamlamış Li-ion bataryaların geri kazanımı üzerine yapılan bir çalışmada oksit, kobalt ve lityum partiküllerinin mekanik olarak ayrılması ve lityum ile kobaltın hidrometalurjik süreç ile geri kazanılması önerilmektedir (Shin ve ark., 2005). Öte yandan, kurşun asit bataryalarda bulunan kurşunun geri kazanılarak hammadde olarak kullanımının birincil üretimden kaynaklanacak kirliliği engelleyeceği belirtilmektedir (Neto ve ark., 2016).

Bertaraf

Batarya bertarafı, atık bataryanın sahip olduğu yüksek voltaj ve yapısındaki soğutma sıvısı nedeniyle tehlike arz eden bir süreçtir (Ahmadi, 2014). Avrupa Birliği'nin atık pil ve akümülatörler üzerine direktifi, kullanım sonrası söz konusu pil ve akümülatörlerin çevreye zarar vermeyecek şekilde bertaraf edilmesini hedeflemektedir (EC, 2006). Elektrikli araç bataryaları da bu direktif kapsamında yer almakta olup düzenli depolama alanlarına atılarak ya da yakılarak bertaraf edilmeleri yasaktır. Söz konusu atık bataryaların çevre sağlığının korunması için ulaşılabilir hedefler çerçevesinde toplanması gerekmektedir (EC, 2006). Hg ve Cd içeren bataryaların kullanımı yasaklanmış olup hâlihazırda bulunanlar için geri dönüşüm teknolojilerinin uygulanması gerekmektedir (EC, 2006). Ancak, neredeyse %99 oranında geri dönüşüm olanağı bulunan Li-ion bataryaların yaklaşık olarak %95'inin düzenli depolama sahalarına gönderildiği belirtilmektedir (Heelan ve ark., 2016). Doğrudan bertaraf yöntemi, ömrünü tamamlamış bataryalarda ikincil değeri olmayan ve geri kazanıma uygun olmayan özellikteki materyaller için tercih edilmelidir (Richa ve ark., 2014). Ülkemizde elektrikli araçlarda kullanılan

bataryalara yönelik bir yasal düzenleme bulunmamaktadır. Bunun yanı sıra, "Atık Pil ve Akümülatörlerin Kontrolü Yönetmeliği" (ÇŞB, 2006) kapsamında elektrikli araç bataryalarına yönelik bir ifade de yer almamaktadır. "Tehlikeli Atıkların Kontrolü Yönetmeliği" kapsamında Pb, Ni ve Hg içeren pillerin "kesinlikle tehlikeli atık" olarak nitelendirildiği dikkate alındığında bu kimyasalları içeren bataryaların da tehlikeli atık olarak değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir (ÇŞB, 2005).

SONUÇ

Çevresel kaynakların korunması ve kirletici emisyonların azaltılması açısından geleceğin teknolojisi olarak görülen elektrikli araçlar, bataryaları verimli şekilde kullanılmadığı takdirde çevresel açıdan öngörülen iyileştirmeyi sağlayamayacaktır. Elektrikli araçların maliyeti ve çevreye olan etkilerine en büyük katkıyı yapan bataryalar, ham madde üretilmesine bağlı olarak su kaynakları, sucul ekosistem ve atık miktarı üzerinde olumsuz etkiye neden olmaktadır. Yeşil teknoloji olarak adlandırılan elektrikli araçların çevresel açıdan daha sürdürülebilir olması için batarya teknolojisinin geliştirilmesi ve enerji üretim kaynaklarının çevre dostu olması gerekmektedir. Batarya teknolojisindeki gelişmeler ile birlikte elektrikli araçların yaygın olarak kullanımının artması sonucunda hava kirliliği, sera gazı emisyonu ve akaryakıt/enerji gibi temel sorunlarda önemli iyileşmeler sağlanması beklenmektedir. Petrol kaynakları bakımından dışa bağımlı olan ülkemiz için çevresel etkileri de dikkate alındığında elektrikli araç kullanımı, yaygınlaştırılması gereken bir olgudur. Ancak, elektrik enerjisinin büyük kısmı konvansiyonel metotlarla elde edildiğinden, batarya teknolojileri üzerine çalışmalar yapılması ve ekonomik ve çevresel açıdan kullanım potansiyeli yüksek olan bataryaların üretilmesi zorunludur. Ülkemizde batarya teknolojisinin mevcut durumu göz önüne alınarak otomotiv

endüstrisinde kullanım potansiyeli yüksek, güvenli ve düşük maliyetli batarya teknolojilerinin geliştirilmesine yönelik proje çağruları yapılmıştır. Bunun bir ileri aşaması olarak bataryaların çevresel etkisi ve kullanım ömrünü tamamlamış bataryalara yönelik atık yönetimi kapsamında çalışmaların da yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- AFDC, 2015. Alternative Fuels Data Center (AFDC). Batteries for Hybrid and Plug-In Electric Vehicles. http://www.afdc.energy.gov/vehicles/electric_batteries.html. (Erişim Tarihi:11.03.2016)
- Ahmadi L, Yip A, Fowler M, Young SB, Frasier RA, 2014. Environmental Feasibility of Re-use of Electric Vehicle Batteries. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 6: 64-74.
- Akbaba İ, 2011. Elektrikli Araç Teknolojisinin Gelişimi. *Deniz Harp Okulu Pusula Dergisi*, http://www.dho.edu.tr/sayfalar/00_anasayfa/11_pusula/70/elektrikli-arac-teknolojisinin-gelisimi.html. (Erişim Tarihi: 30.01.2016)
- Algül İH, 2015. Elektrikli Araç Akü Sistemleri. <http://www.elektrikport.com/teknik-kutuphane/elektrikli-arac-aku-sistemleri/4398#ad-image-0>. (Erişim Tarihi: 25.01.2016)
- bd-oto, 2018. BD Otomotiv (bd-oto). Şarj istasyonları. <http://www.bdoto.com/chargeStations.aspx>. (Erişim Tarihi:03.07.2018)
- Birleştirici A, Şalcı MS, Dikkulak A, Güler F, Turhan E, 2015. Elektrikli Araç Şarj İstasyonları. http://www.emo.org.tr/ekler/e05712f50f36d7c_ek.pdf. (Erişim Tarihi: 29.06.2018)
- BS, 2016. Battery Solutions (BS). End Sites Recycling Processes. <http://www.batteryrecycling.com/Battery+Recycling+Process>. (Erişim Tarihi: 30.01.2016)
- BU, 2016. Battery University (BU). Types of Lithium-ion. http://batteryuniversity.com/learn/article/types_of_lithium_ion. (Erişim Tarihi: 12.03.2016)
- Buekers J, Holderbeke MV, Bierkens J, Panis LI, 2014. Health and Environmental Benefits Related to Electric Vehicle Introduction in EU Countries. *Transportation Research Part D: Transport and Environment*, 33: 26-38.
- Cready E, Lippert J, Pihl J, Weinstock I, Symons P, Jungst RG, 2003. Technical and Economic Feasibility of Applying Used EV Batteries In Stationary Applications, Final Report, SAND2002-4084, Sandia National Laboratories, New Mexico and California.
- ÇŞB, 2005. T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (ÇŞB). Tehlikeli Atıkların Kontrolü Yönetmeliği. Resmi Gazete Tarihi/Sayısı: 14.03.2005/25755.
- ÇŞB, 2006. T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (ÇŞB). Atık Pil ve Akümülatörlerin Kontrolü Yönetmeliği. Resmi Gazete Tarihi/Sayısı: 31.08.2004/25569.
- ÇŞB, 2015. T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (ÇŞB). Atık Yönetimi Yönetmeliği. Resmi Gazete Tarihi/Sayısı: 02.04.2015/29314.
- EC, 2006. European Directive (EC). 66/EC: Directive 2006/66/EC of The European Parliament and of The Council of 6 September 2006 on Batteries and Accumulators and Waste Batteries and Accumulators and Repealing Directive 91/157.
- EC, 2011. European Commission (EC). Environmental Impacts of Electric Vehicle Batteries Weighed Up. http://ec.europa.eu/environment/integration/research/newsalert/pdf/257na2_en.pdf. (Erişim Tarihi:10.02.2016)
- Elker C, 2011. Ulaşım Politikalarının Çevreye Etkisi/The Impact of Transportation Policies on the Environment. acikarsiv.atilim.edu.tr/browse/514/25.pdf. (Erişim Tarihi: 29.06.2018)
- Faria R, Marquesb P, Garciab R, Mouraa P, Freireb F, Delgadoa J, de Almeidaa AT, 2014. Primary and Secondary Use of Electric Mobility Batteries From a Life Cycle Perspective. *Journal of Power Sources*, 262: 169-177.

- Gaines L, Singh M, 1995. Energy and Environmental Impacts of Electric Vehicle Battery Production and Recycling. SAE Technical Paper 951865:1-12.
- Girardi P, Gargiulo A, Brambilla PC, 2015. A Comparative LCA of an Electric Vehicle and an Internal Combustion Engine Vehicle Using The Appropriate Power Mix: The Italian Case Study. The International Journal of Life Cycle Assessment, 20 (8): 1127-1142.
- Green M, 2013. End of Life Electric Vehicle Batteries—A Waste Industry Perspective of the Issues. http://lowcarbonvehicles.s3.amazonaws.com/1_Legislation_Overview_Michael_Green.pdf. (Erişim Tarihi: 02.03.2016)
- Hacker F, Harthan R, Matthes F, Zimmer W, 2009. Environmental Impacts and Impact On The Electricity Market of a Large Scale Introduction of Electric Cars in Europe—Critical Review of Literature. ETC/ACC Technical Paper: 56-90.
- Heelan J, Gratz E, Zheng Z, Wang Q, Chen M, Apelian D, Wang Y, 2016. Current and Prospective Li-Ion Battery Recycling and Recovery Processes. The Journal of The Minerals, Metals & Materials Society, 68 (10): 2632-2638.
- Hendrickson TP, Kavvada O, Shah N, Sathre R, Scown CD, 2015. Life-cycle Implications and Supply Chain Logistics of Electric Vehicle Battery Recycling in California. Environmental Research Letters, 10 (1): 014011.
- Kerem A, 2014. Elektrikli Araç Teknolojisinin Gelişimi ve Gelecek Beklentileri. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 5 (1): 1-13.
- Keskin A, Sağiroğlu S, 2010. Dizel Motorlarından Kaynaklanan Egzoz Emisyonları ve Kontrol Yöntemleri. Mühendis ve Makina, 51 (606): 2-9.
- Larcher D, Tarascon JM, 2015. Towards Greener and More Sustainable Batteries for Electrical Energy Storage. Nature Chemistry, 7 (1): 19-29.
- Lopez BN, Li J, Wilson B, 2015. A Study of the Geographical Shifts in Global Lead Production - A Possible Corresponding Shift in Potential Threats to the Environment. Journal of Cleaner Production, 107: 237-251.
- Manzetti S, Mariasiu F, 2015. Electric Vehicle Battery Technologies: From Present State to Future Systems. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 51: 1004-1012.
- McIntire-Strasburg J, 2015. The Electric Vehicle Battery “Can and Should be Recycled”. <http://cleantechnica.com/2015/07/23/electric-vehicle-battery-can-recycled/>. (Erişim Tarihi: 13.03.2016)
- MEB, 2011. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı (MEB). Motorlu Araçlar Teknolojisi, Egzoz Emisyon Kontrolü. http://content.lms.sabis.sakarya.edu.tr/Uploads/50113/27547/egzoz_emisyon_kontrol%C3%BC.pdf. (Erişim Tarihi: 21.03.2016)
- Message M, Boureima FS, Coosemans T, Macharis C, Mierlo JM, 2014. A Range-Based Vehicle Life Cycle Assessment Incorporating Variability in the Environmental Assessment of Different Vehicle Technologies and Fuels. Energies, 7 (3): 1467-1482.
- Narula CK, Martinez R, Onar O, Starke MR, Andrews G, 2011. Economic Analysis of Deploying Used Batteries In Power Systems, Final Report, ORNL/TM-2011/151, Oak Ridge National Laboratory, Springfield, Virginia.
- Neto JC, Silva MM, Santos SM, 2016. A Time Series Model for Estimating the Generation of Lead Acid Battery Scrap. Clean Technologies and Environmental Policy, 18 (6): 1931-1943.
- Neubauer J, Pesaran A, 2011. The Ability of Battery Second Use Strategies to Impact Plug-In Electric Vehicle Prices and Serve Utility Energy Storage Applications. Journal of Power Sources, 196 (23): 10351-10358.
- Olapiriyakul S, Caudill RJ, 2008. A Framework for Risk Management and End-of-life (EOL) Analysis for Nanotechnology Products: A Case Study in Lithium-ion Batteries. Electronics and the Environment," IEEE International Symposium, May 19-22 2008, San Francisco.

- Philschatz, 2016. Batteries and Fuel Cells. <http://philschatz.com/chemistry-book/contents/m51152.html>. (Erişim Tarihi:10.04.2016)
- Ramoni MO, Zhang HC, 2013. End-of-life (EOL) Issues and Options for Electric Vehicle Batteries. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 15 (6): 881-891.
- Richa K, Babbitt CW, Gaustad G, Wang X, 2014. A Future Perspective on Lithium-ion Battery Waste Flows From Electric Vehicles. *Resources, Conservation and Recycling*, 83: 63-76.
- Samaras C, Meisterling K, 2008. Life Cycle Assessment of Greenhouse Gas Emissions From Plug-in Hybrid Vehicles: Implications For Policy. *Environmental Science&Technology*, 42 (9): 3170-3176.
- Shahi SK, Wang GG, 2010. Plug-In Hybrid Electric Vehicle Battery Selection for Optimum Economic and Environmental Benefits Using Pareto Set Points and PSAT. ASME 2010 International Design Engineering Technical Conferences and Computers and Information in Engineering Conference, August 15–18, 2010, Montreal, Quebec, Canada.
- Shin SM, Kim NH, Sohn JS, Yang DH, Kim YH, 2005. Development of a Metal Recovery Process from Li-ion Battery Wastes. *Hydrometallurgy*, 79: 172-181.
- Sullivan J, Gaines L, 2010. A Review of Battery Life-cycle Analysis: State of Knowledge and Critical Needs, Technical Report, ANL/ESD/10-7, TRN:US201101%%664, Argonne National Laboratory, United States.
- TAP, 2015. Taşınabilir Pil Üreticileri ve İthalatçıları Derneği (TAP). Pil Hakkında/Pil Nedir?. http://www.tap.org.tr/pil_nedir_-88.html. (Erişim Tarihi:10.02.2016)
- TAP, 2018. Taşınabilir Pil Üreticileri ve İthalatçıları Derneği (TAP). Atık Pillerin Bertaraf ve Geri Dönüşümü. <http://www.tap.org.tr/pil-atik-pil/sss/atik-pillerin-bertaraf-ve-geri-donusumu/>. (Erişim Tarihi:05.07.2018)
- TEHAD, 2017. Türkiye Elektrikli ve Hibrid Araçlar Platformu (TEHAD). Türkiye’de Kurulu Elektrikli Araç Şarj İstasyonları. <http://tehad.org/2017/01/16/turkiyede-kurulu-elektrikli-arac-sarj-istasyonlari/>. (Erişim Tarihi: 07.05.2019)
- TEHAD, 2018. Türkiye Elektrikli ve Hibrid Araçlar Platformu (TEHAD). 2017 Yılı Toplam Elektrikli ve Hibrid Araç Satışları. <http://tehad.org/2018/01/08/2017-yili-toplam-elektrikli-ve-hibrid-arac-satislari/>. (Erişim Tarihi: 03.07.2018)
- Tie SF, Tan CW, 2013. A Review of Energy Sources and Energy Management System in Electric Vehicles. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 20: 82-102.
- TÜİK, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). Ulaştırma İstatistikleri, Motorlu Kara Taşıt Sayısı. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=89&locale=tr>. (Erişim Tarihi: 02.07.2018)
- UDHB, 2011. T.C. Ulaştırma, Denizcilik ve Haberleşme Bakanlığı (UDHB), Strateji Geliştirme Başkanlığı. Ulaşımında Enerji Verimliliği. http://www.mmo.org.tr/resimler/dosya_ekler/76115b4c60c5029_ek.pdf. (Erişim Tarihi:11.03.2016)
- ULTRALIFE, 2016. Li-ion vs. Lead Acid. <http://www.beck-elektronik.de/uploads/media/lithium-ion-vs-lead-acid.pdf>. (Erişim Tarihi:12.03.2016)
- Vivanco DF, Freire-Gonzalez J, Kemp R, van der Voet E, 2014. The Remarkable Environmental Rebound Effect of Electric Cars: A Microeconomic Approach. *Environmental Science&Technology*, 48 (20): 12063-12072.
- WMW, 2011. Waste Management World (WMW). The Lithium Battery Recycling Challenge. <https://waste-management-world.com/a/1-the-lithium-battery-recycling-challenge>. (Erişim Tarihi:14.03.2016)
- Xing Y, Ma EWM, Tsui KL, Pecht M, 2011. Battery Management Systems in Electric and Hybrid Vehicles. *Energies*, 4: 1840-1857.

Mezbaha Atıksularının Karakterizasyonu ve Arıtılabilirliğinin Değerlendirilmesi

Dilara ÖZTÜRK¹, Erdiñ ALADAĞ^{1*}, Alper Erdem YILMAZ²,
Recep BONCUKCUOĞLU³, Tuba BAYRAM¹

ÖZET: Bu çalışmada Van ilinde bulunan bir mezbahane tesisine ait atıksuyun karakterizasyonu yapılarak bu atıksu için arıtım alternatifleri değerlendirilmiştir. Atıksu karakterizasyonu için nitrat, kükürt trioksit, fosfat, amonyum azotu, klorür, askıda katı madde (AKM), toplam organik karbon (TOK), toplam karbon (TK), inorganik karbon (İK), toplam azot (TN), elektriksel iletkenlik (Eİ), pH, toplam kimyasal oksijen ihtiyacı (TKOİ), çözülmüş kimyasal oksijen ihtiyacı (ÇKOİ) ve partiküler kimyasal oksijen ihtiyacı (PKOİ) parametreleri incelenmiştir. Sonuçlar; nitrat; 18.5 - 35.9 ppm, kükürt trioksit; 15.3 - 89.3 ppm, fosfat; 72.2 - 190.5 ppm, amonyum azotu; 20 - 38 ppm, klorür; 239.9 - 422.7 ppm, AKM; 475 - 1800 ppm, TOK; 4429 - 10250 ppm, TK; 4535 - 10 494.6 ppm, İK; 105.7 - 244.6 ppm, TN; 800 - 1546 ppm, Eİ; 1.4 - 3.0 ms cm⁻¹, pH; 7.0 - 8.2, TKOİ; 17 626 - 23 268 ppm, ÇKOİ; 13 658 - 18 029 ppm ve PKOİ; 3968 - 5239 ppm olarak bulunmuştur. Aynı zamanda mezbahane atıksuları için literatürde önerilen anaerobik, aerobik, ileri oksidasyon, çözülmüş hava flotasyonu, membran filtrasyonu, elektrokimyasal arıtım prosesleri incelenmiştir. Atıksuyun çoklu (farmasötikler, organik madde, toksik madde vb.) kompozisyonu sebebiyle tekli arıtım proseslerinin yeterli arıtımı sağlamadığı gözlenmiş ve kombine proseslerle daha etkili arıtım yapıldığı sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Mezbaha atıksuyu, atıksu karakterizasyonu, atıksu arıtımı

Characterization of Slaughterhouse Wastewaters and Evaluation of its Treatability

ABSTRACT: In this study, wastewater of a slaughterhouse which is located in Van is characterized and treatment alternatives are evaluated. For characterization; nitrate, sulfur trioxide, phosphate, ammonium nitrogen, chloride, suspended solids (SS), total organic carbon (TOC), total carbon (TC), inorganic carbon (IC), total nitrogen (TN), electrical conductivity (EC), pH, total chemical oxygen demand (TCOD), dissolved chemical oxygen demand (DCOD) and particulate chemical oxygen demand (PCOD) parameters were investigated. According to the results; nitrate; 18.5 - 35.9 ppm, sulfur trioxide; 15.3 - 89.3 ppm, phosphate; 72.2 - 190.5 ppm, ammonium nitrogen; 20 - 38 ppm, chloride; 239.9 - 422.7 ppm, TSS; 475 - 1800 ppm, TOC; 4429 - 10 250 ppm, TC; 4535 - 10 494.6 ppm, IC; 105.7 - 244.6 ppm, TN; 800 - 1546 ppm, EC; 1.4 - 3.0 ms cm⁻¹, pH; 7.0 - 8.2, TCOD; 17 626 - 23 268 ppm, DCOD; 13 658 - 18 029 ppm and PCOD; 3968 - 5239 ppm were found. At the same time, anaerobic, aerobic, advanced oxidation, dissolved air flotation, membrane filtration and electrochemical treatment processes are investigated for slaughterhouse wastewater which is proposed in literature. Due to the multiple composition (pharmaceuticals, organic matter, toxic substances, etc.) of the wastewater, it was observed that the single treatment processes did not provide sufficient treatment and it was concluded that more effective treatment was performed with the combined processes.

Keywords: Slaughterhouse wastewater, characterization of wastewater, wastewater treatment

¹ Dilara ÖZTÜRK (Orcid ID: 0000-0003-2689-560X), Erdiñ ALADAĞ (Orcid ID: 0000-0003-1354-0930), Tuba BAYRAM (Orcid ID: 0000-0003-3282-7099), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Van, Türkiye

² Alper Erdem YILMAZ (Orcid ID: 0000-0002-0666-7653), Atatürk Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

³ Recep BONCUKCUOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-6096-5280), İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Erdiñ ALADAĞ, e-mail: erdinaladag@gmail.com

GİRİŞ

Endüstri ve teknoloji alanındaki hızlı büyüme ve dünya nüfusundaki artış ekosistemdeki alıcı ortam kirliliğini arttırmaktadır. Kirlenen su kaynakları insan ve diğer canlılar üzerinde ekotoksikolojik bir risk yaratmaktadır. Çevre kirliliğine neden olan ana kirleticiler; organik maddeler (aromatik ve alifatik hidrokarbonlar, proteinler, karbonhidratlar, yağ ve gres, fenoller, pestisitler, klorlu bileşikler vb.) ve ağır metal bileşikleri (arsenik, bor, çinko, kurşun, nikel vb.) olarak özetlenebilir. Mezbaha atıksuları çoğunlukla bu kirleticiler arasında yer alan, organik kirleticiler, yağ, protein ve fiberlerin kompleks bir karışımını içermektedir. Organik madde konsantrasyonu orta-yüksek olup, yaklaşık % 45'i çözülmüş formda bulunurken, % 55'i süspanse formda bulunmaktadır (Manjunath ve ark., 2000). Ayrıca; mezbaha atıksuyunun kalitesi, kan tutma verimi, su kullanımı, kesilen hayvan tipi ve et işleme miktarı gibi çok sayıda faktöre bağlıdır (Massé ve Masse, 2000; Satyanarayan ve ark., 2005). Mezbahalardan oluşan atıksuların arıtılmadan direkt deşarj edilmesi sonucu nehirlerin oksijen kazanımı azalmaktadır (Massé ve Masse, 2000). Bu nedenle, mezbaha atıksularının kanalizasyon, nehir, göl gibi alıcı ortamlara deşarj edilmeden önce arıtılması gerekmektedir (Aguilar ve ark., 2002). Bu yöntemlerden bazıları, biyolojik oksidasyon, adsorpsiyon, flotasyon, kimyasal koagülasyon, elektrokimyasal arıtım ve membran filtrasyonu işlemlerdir. Arıtım yöntemine karar verme aşamasında atıksuyun karakterizasyonunu bilmek büyük önem taşımaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Mezbahane Üretim Düzeni

Et endüstrisinde en önemli hususların başında temiz, sağlıklı, kaliteli et ve et mamullerini tüketiciye ulaştırmak gelir. Üretimin doğal bir neticesi olsa da mezbaha

tesislerinin en sık karşılaşılan sorunlardan biri olan kötü kokunun tesis etrafına yayılmaması için değişik önlemler alınmaktadır (Erarslan, 2006). Tesislerde oluşan atıklar mikroorganizma faaliyetleri için uygun ortam oluşturmaktadır. Bu nedenle tesislerde oluşan atıkların bertaraf edilmesinde ve temizlenmesinde bol miktarda su tüketimi olmaktadır. Kesimhanedeki üretim düzeni barındırma ile başlayıp, kesimle elde edilen karkasın ve ortaya çıkan ürünlerin işlendiği bir dizi işlemi kapsamaktadır. Kesimhanenin üretim düzeni Şekil 1'de şematik olarak gösterilmiştir. Bu tür atıksularda her bir üretim prosesi için atıksuyun kirlilik parametreleri değişiklik gösterebilmektedir.

Çizelge 1'de bir et entegre tesisinin üretim proseslerinden kaynaklanan atıksuların karakterizasyonu verilmiştir (Erarslan, 2006).

Atıksuyun Temini

Söz konusu tesiste günlük 300 büyük baş, 50 küçükbaş hayvan kesimi düzenli olarak yapılmaktadır. Öldürme, parçalama, dös açma, iç organ boşaltma ve yıkama suları toplu halde bir boruya bağlanarak deşarj edilmektedir. Atıksu örneği, her ayın ilk günü bütün kesimler yapıldıktan sonra yerinden ve hiçbir arıtıma tabi tutulmadan önce alınmıştır. Atıksu örnekleme işlemi Ocak-Haziran ayları arasında yapılmıştır. pH, sıcaklık ve çözülmüş oksijen ölçümleri deşarj hattında yerinde ölçülmüştür.

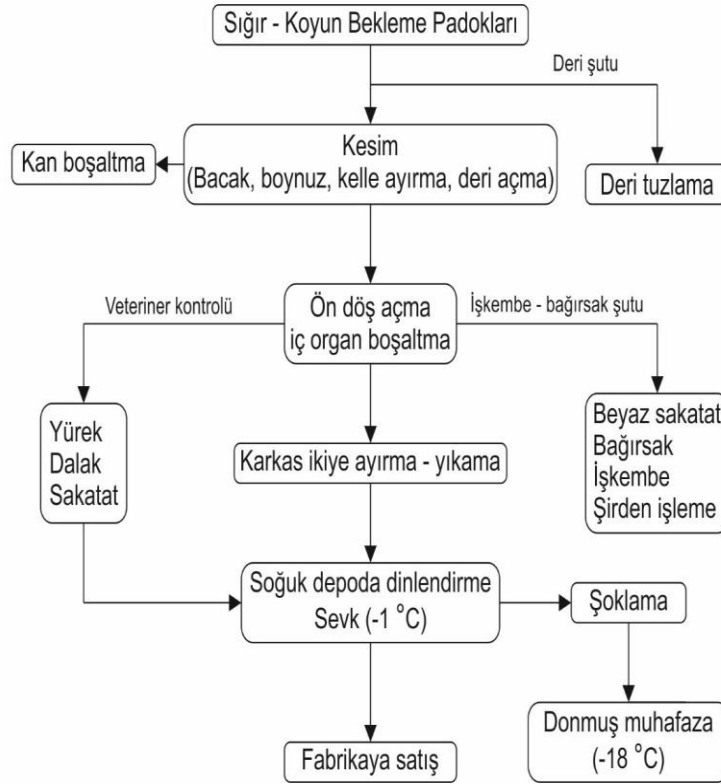
Atıksuyun Karakterizasyonu

Numunelerin ölçümleri yapılmadan çözülmüş madde analizleri için önce santrifüj cihazı kullanılarak 10 dakika boyunca 6000 rpm hızla santrifüj işlemi uygulanmış, daha sonra 0.22 mikronluk filtre kullanılarak katı madde numune içeriğinden uzaklaştırılmıştır. TK, IK, TN ve TOK analizleri Shimadzu marka L serisi TOC-TN analiz cihazı kullanılarak yapılmıştır. Kimyasal oksijen ihtiyacı analizleri standart metotlarda (APHA, 2005) belirtilen kapalı sistem yöntemine göre yapılmıştır. Analizlerde WTW SpectroFlex 6600 VIS marka

spektrofotometre kullanılmıştır. Nitrat (NO_3^-), kükürt trioksit (SO_3^-), fosfat (PO_4^{3-}), klorür (Cl^-) tayinleri Dionex ICS 3000 marka iyon kromatografi cihazı ile yapılmıştır.

Amonyum azotu ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) tayininde 1.14559.0001 numaralı kit ile WTW spectroFlex 6600 VIS marka spektrofotometre kullanılmıştır.

Elektriksel iletkenlik ve pH analizi için WTW 3210 marka multiparametre cihazı kullanılmıştır. Askıda katı madde tayini gravimetrik yöntemle (APHA, 2005) yapılmıştır. Bu çalışmadaki bütün analizler Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Çevre Mühendisliği Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.



Şekil 1. Kesimhanenin üretim düzeni

Çizelge 1. Et entegre tesislerinin üretim proseslerinden kaynaklanan atıksuların karakterizasyonu

Proses	BOİ ₅ (ppm)	AKM (ppm)	TKN ppm)	NH ₃ (ppm)	Yağ-Gres (ppm)
Öldürme (kesme)	825	220-320	140	6	-
Kan ve tank suyu	32 000-44 800	3690-191 200	-	205	-
Kan odası yıkama suyu	1000-23 000	6000-16 500	-	-	-
Sindirim atıkları	28 240	-	-	-	-
Bağırsak yıkama	13 200	15 120	-	43	5220
Yaş sindirim atık. ayık.	-	200-300	-	-	1200-2000
Et parçalama	520	610	36	2.5	-
Tuzlama odası	2040	1800	95	12	-
Tuzlama odası duşu	460	1720	280	25	-
Tuzlanmış et yıkama	1470-1960	900-920	127	17.5	970
Salamura	18 000	-	2790	37	-
Sosis	650-1220	300-2100	140	4	200-370
Yan ürünler	2200	1380	236	50	-
Ağıl yıkama	3900	-	510	380	-
İşkembe haşlama	-	-	1100	-	5220
Yağ ayırma (kondansatör suyu)	1723	60.9	493	-	109

* BOİ₅: 5 günlük biyolojik oksijen ihtiyacı, AKM: Askıda katı madde, TKN: Toplam Kjeldahl azotu

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bir atıksu için arıtım yöntemi seçilmeden önce yapılacak ilk ve en önemli iş o atıksuyu karakterize etmektir. Atıksuyun karakterizasyonu yapılarak hangi yöntem ile arıtılacağı hakkında fikir edinilebilir. Mezbaha atıksuları kesilen hayvan sayısı ve türüne göre

değişiklik göstermekle birlikte konsantrasyonda büyük sapmalar görülmez. Bu çalışmada kullanılan atıksuyun 6 aylık karakterizasyon sonuçlarının maksimum ve minimum değerleri Çizelge 2’de verilmiştir. Çizelge 3’te ise literatürde sunulmuş çeşitli mezbaha atıksularının karakterizasyonu verilmiştir.

Çizelge 2. Çalışılan atıksuyun karakterizasyon sonuçları

Parametre	Sonuç
Nitrat (NO ₃ ⁻)	18.5 – 35.9 ppm
Sülfat (SO ₄ ⁻)	15.3 – 89.3 ppm
Fosfat (PO ₄ ⁻³)	72.2 – 190.5 ppm
Klorür (Cl)	239.9 – 422.7 ppm
Toplam karbon (TK)	4535 – 10 494.6 ppm
Toplam organik karbon (TOK)	4429 – 10 250 ppm
İnorganik karbon (İK)	105.7 – 244.6 ppm
Toplam azot (TN)	800 – 1546 ppm
Amonyum azotu (NH ₄ -N)	20 – 38 ppm
Toplam KOİ	17 626 – 23 268 ppm
Çözünmüş KOİ	13 658 – 18 029 ppm
Partiküler KOİ	3968 – 5239 ppm
Askıda katı madde (AKM)	475 – 1800 ppm
Elektriksel iletkenlik (Eİ)	1.4 – 3.0 mS cm ⁻¹
pH	7.0 – 8.2

Mezbaha atıksuları, kesim prosesinde bulunan yağ, protein ve liflerin kompleks kompozisyonu nedeniyle dünya çapında zararlı sayılır (Johns, 1995; Ruiz ve ark., 1997; Wu ve Mittal, 2012; Bustillo-Lecompte ve ark., 2014). Kirilenmenin büyük bir kısmı kan, mide ve bağırsak mukusundan kaynaklanır (Tritt ve Schuchardt, 1992). Ayrıca bu atıksular, yüksek seviyede organik madde, patojenik ve patojenik olmayan mikroorganizmalar, beslenme şekillerine göre ağır metal, veteriner faaliyetleri sonucu ilaç artıkları ve kesimhanenin temizlik faaliyetlerinde kullanılan deterjanlar ve dezenfektanlar içerir (Tritt ve Schuchardt, 1992; Massé ve Masse, 2000; Debik ve Coskun, 2009). Bu sebeple bu tür atıksular alıcı ortama deşarj edilmeden önce arıtıma tabi tutularak atıksuyun deşarj standartlarına uygunluğu sağlanmalıdır.

Çizelge 4’de Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliğine (SKKY) göre deşarj standartları verilmiştir (Resmi Gazete, 2009).

Bu gibi atıksularda çeşitli arıtım yöntemleri (Lovett ve Travers, 1986; Bohdziewicz ve Sroka, 2005; Chernicharo, 2006; Awang ve ark., 2011; Cao ve Mehrvar, 2011; Davarnejad ve Nasiri, 2017) literatürde araştırılmıştır.

Arıtım Alternatifleri

Anaerobik arıtım prosesi

Anaerobik arıtım, yüksek kirlilikteki atıksuyun işlenmesindeki etkinliği nedeniyle mezbaha atıksularını arıtmada uygulanan ve tercih edilen biyolojik arıtma yöntemidir (Cao ve Mehrvar, 2011). Anaerobik arıtma aerobik sistemlere kıyasla yüksek KOİ giderme, düşük

çamur üretimi (% 5-20) ve potansiyel besin maddesi ve biyogaz geri kazanımıyla daha az enerji gereksinimi gibi pek çok avantaja sahiptir. Chan ve ark., (2009) ve Bustillo-Lecompte ve ark., (2015) çalışmalarında yukarı akışlı anaerobik kolon reaktör kullanarak mezbaha atıksuyunun arıtımını incelemişlerdir. Giriş KOİ konsantrasyonu 3000-4800 ppm arasında olan atıksuyu 10 saatlik hidrolik bekleme süresinde % 90 KOİ giderimi gerçekleştiği gözlenmiştir. Çizelge 5'te görüleceği üzere, anaerobik arıtma

etkili bir işlem olmasına rağmen, mezbaha atıksularındaki yüksek organik içerik, organik bileşiklerin tam stabilizasyonunu zorlaştırmaktadır (Chan ve ark., 2009). Bu nedenle, anaerobik olarak muamele edilen atıksuyun, TN, TP ve patojen organizmalar gibi organik maddenin ve diğer bileşenlerin uzaklaştırılmasının tamamlanacağı ilave arıtım proseslerine ihtiyaç duyulmaktadır (Chernicharo, 2006).

Çizelge 3. Literatürde çalışılan diğer mezbaha atıksularının karakterizasyonu

Parametreler	(Bustillo-Lecompte ve ark., 2014)	(Caixeta ve ark., 2002)	(Al-Mutairi ve ark., 2004)	(Bustillo-Lecompte ve Mehrvar, 2015)
pH	4.8 – 8.1	6.3 – 6.6	6.2 – 7.4	6.0 – 6.9
Bulanıklık	200 – 300	90 – 130	20 – 26	271 – 279
Renk	175 – 400	-	-	178 – 391
Yağ ve gres	-	40 – 600	9 – 27	-
Yoğunluk	-	1.0	-	-
Asidite	-	900 – 1780	-	-
KOİ	500 – 15 900	2000 – 6200	856 – 1344	527 – 15 256
BOİ ₅	150 – 4635	1300 – 2300	-	200 – 8231
TOK	70 – 1200	-	-	72.5 – 1718
TAKM	270 – 6400	850 – 6300	1310 – 1690	0.4 – 9998
UAKM	-	660 – 5250	-	-
SKM	-	340 – 1400	-	-
Toplam N	50 – 841	-	-	60 – 339
Org. N	-	50 – 210	-	-
TKN	-	-	110 – 230	-
NH ₃ -N	-	20 – 30	-	-
Toplam P	25 – 200	15 – 40	-	25.7 – 75.9
PO ₄ -P	20 – 100	-	-	30.1 – 77.3
K ⁺	0.01 – 100	-	-	0.01 – 0.06
Protein	-	-	-	-

Çizelge 4. Hayvan kesimi yan ürünleri işleme ve benzeri tesisler için alıcı ortama deşarj standartları (Resmi Gazete, 2009)

Parametre	Temsili anlık veya 2 saatlik kompozit numune
Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) (ppm)	200
Toplam askıda katı madde (ppm)	100
Yağ ve gres (ppm)	30
pH	6-9

Aerobik arıtım prosesi

Aerobik sistemlerde, gerekli oksijen miktarı ve arıtma süresi mezbaha atıksularının kirletici konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak yükselir. Aerobik arıtım, fizikokimyasal veya anaerobik teknikler kullanıldıktan sonra arıtılmadan kalan nihai arıtım için sıklıkla kullanılır (Chernicharo, 2006). Mezbaha atıksularının aerobik arıtımına yönelik tipik konfigürasyonlar; aktif çamur, döner biyodiskler ve aerobik ardışık kesikli reaktörleri içerir. Fongsatitkul ve ark., (2011) yaptıkları çalışmada mezbaha atıksularını arıtmak için aktif çamur prosesini incelemiştir. 2 adet paralel 10 litrelik sürekli akışlı ve içsel geri devirli reaktör kullanmışlardır. KOİ, toplam Kjeldahlazotu (TKN) ve toplam fosfat (TP) giderim verimini sırasıyla; % 97.6, % 81.5 – % 95.6 ve % 85.9 olarak bulmuşlardır. Buna göre et endüstrisi atıksuları çözünabilir organik madde içeriği sebebiyle aerobik proseslerde arıtım için uygun olabilir. Ancak aerobik ve anaerobik arıtım proseslerinin ayrı ayrı kullanılması bu atıksular için uygun olmayacaktır. Aerobik arıtım tek başına kullanıldığı zaman yüksek organik maddenin parçalanması için uzun hidrolik kalış süresi ve fazla çamur üretimi olacağından Aerobik ve anaerobik arıtım proseslerinin beraber uygulanması organik maddelerin biyogaza dönüşmesi ve böylelikle enerji kaynağı olarak kullanılmasını sağlayacaktır. Ancak, bu atıksular toksik ve biyobozunamaz organik maddelerde içerebileceğinden biyolojik arıtım yetersiz kalabilmektedir. Bu sebeple, biyolojik parçalanabilir forma dönüştürmek için ileri oksidasyon prosesleri (İOP) kullanılabilir.

İleri oksidasyon prosesleri

İOP geleneksel arıtım proseslerine iyi bir alternatif olarak tercih edilmektedir. Dahası, İOP su dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılan klorlama gibi diğer tekniklerle karşılaştırıldığında mezbaha atıksularında bulunan mikroorganizmaları etkisiz hale

getirebilmek için ek kimyasallara ihtiyaç duyulmamakla birlikte tehlikeli yan ürünlerin oluşumunun da önüne geçilmiş olmaktadır (De Sena ve ark., 2009; Bustillo-Lecompte ve ark., 2015). Bu nedenle İOP suların tekrar kullanımı ve kirlilik kontrolü süreçlerinde tamamlayıcı iyi bir arıtım prosesi olarak kabul görmektedir (Mehrvar ve Venhuis, 2005; Venhuis ve Mehrvar, 2005; Mehrvar ve Tabrizi, 2006; Edalatmanesh ve ark., 2008; De Sena ve ark., 2009; Cao ve Mehrvar, 2011; Barrera ve ark., 2012; Mohajerani ve ark., 2012). Ayrıca İOP' de organik ve inorganik maddelerin hidroksil radikalleri ile tepkimeleri sonucu biyolojik olarak parçalanabilir formlara dönüştürülmesi mümkündür. Sonuç olarak İOP' ler mezbaha atıksuları için iyi bir arıtım alternatifi olarak değerlendirilebilir.

Çözünmüş hava flotasyonu prosesi

Çözünmüş hava flotasyonu (CHF) et endüstrisi atıksuları için alternatif bir ön arıtım olarak kullanılabilir. Literatürde bu tür çalışmalar mevcuttur (Lovett ve Travers, 1986; De Nardi ve ark., 2008). CHF prosesinde atıksuya belirli bir basınç altında hava verilerek yağın mikro kabarcıklarla yüzdürülmesi ve otomatik sıyrıcılar vasıtasıyla sıyrılarak sistemden alınması esasına dayanır. CHF üniteleri özellikle yoğun yağ içeren atıksuların arıtılmasında kullanılır. Sistemde yağ gibi yüzen partiküller otomatik sıyrıcılarla sıyrılarak ortamdaki uzaklaştırılırken çöken partiküller ise konik taban yapısında çöktürülerek sistemden uzaklaştırılırlar. Sistem yüksek oranda AKM, KOİ ve BOİ giderimi sağlamaktadır. Genellikle KOİ ve BOİ giderimi için CHF işlem verimliliği sırasıyla % 30 dan % 90'a ve % 70 den % 80'e varmaktadır. Mezbaha atıksularında yoğunlukla kan ürünleri bulunduğu için, CHF de demir klorür ve alüminyum sülfat gibi koagülantlar eklenerek protein çöktürmesi mümkün olmaktadır buna ek olarak yağ ve gres de sistemden flotasyon ile uzaklaştırılabilmektedir

(Johns, 1995; Al-Mutairi ve ark., 2004; De Nardi ve ark., 2008; Wu ve Mittal, 2012). CHF mezbaha atıksularında yağ ve AKM gideriminde ön arıtım prosesi olarak kullanılabilir.

Elektrokimyasal prosesler

Et endüstrisi atıksularının arıtımı için elektrokimyasal arıtım teknikleride literatürde yer almıştır (Awang ve ark., 2011; Coskun ve ark., 2016; Davarnejad ve Nasiri, 2017). Elektrokoagülasyon (EK) işlemi son zamanlar sıklıkla mezbaha atıksularının arıtımı için kullanılmaktadır. Bu yöntemde organik besin maddeleri, ağır metaller hatta patojen organizmaların herhangi bir kimyasal ilavesi olmadan giderimi sağlanabilmektedir (Koby ve ark., 2006; Emamjomeh ve Sivakumar, 2009). Sıklıkla Al, Fe, Pt, SnO₂, TiO₂, elektrotlar kullanılmaktadır. Bu elektrotlardan çözünen metal iyonları ortam koşullarına göre metal-polimer kompleksleri oluşturmakta ve kirleticileri adsorblayarak koagüle olmaktadır. Mezbaha atıksuları genellikle iyi bir elektriksel iletkenliğe sahiptir, bu yönüyle EK' na uygulanabilirliği için büyük bir avantaj sağlasa da elektrotların çözünmesi ve yenilenmesi gerekmektedir, ayrıca elektrik kullanımı söz konusu olduğu için çok ekonomik bir yöntem değildir (Khennoussi ve ark., 2013; Bayar ve ark., 2014). Elektrokimyasal oksidasyon (EO) tekniği birçok endüstride sıklıkla kullanılırken mezbaha atıksularında son zamanlarda ön arıtım ve ileri arıtım olarak kullanılmaya başlanmıştır (Awang ve ark., 2011). EK da yükseltgenmenin bir sonucu olarak anot çözünür ve düzenli aralıklarla yenisi ile değiştirilmesi gerekir ayrıca katot yüzeyinde, geçirimsiz bir oksit tabakasının oluşumu EK prosesinin verimini kaybetmesine neden olabilir (Ihara ve ark., 2006). Elektrokimyaya dayalı yeni bir ileri oksidasyon yöntemi olan elektro fentonda (EF) oksijenle doyurulmuş ve elektrokimyasal işlem sürecinde katottan sürekli oksijen geçirilen ve Fe²⁺ içeren sulu çözeltide H₂O₂ ve takiben •OH radikalleri üretimi anında gerçekleşir (Fil ve ark., 2014). EF

mezbaha atıksularında literatürde çalışılmıştır (Paramo-Vargas ve ark., 2015; Vidal ve ark., 2016). Vidal ve ark., (2016) yaptıkları çalışmada elektrokoksidasyon göreceli oksidatif kapasitesi, 180 dakika reaksiyondan sonra EO-H₂O<EF<SPEF (solar foto elektro fenton) sırasıyla artarken, KOİ giderimi sırasıyla % 63, % 79 ve > % 95 olarak bulunmuştur. Bu metotlar arasından en iyi giderimi sağlandığı SPEF çevre dostu olması ile de son zamanlarda oldukça ilgi görmektedir ve mezbaha atıksularında başarı ile kullanılabilir.

Membran prosesler

Membran teknolojileri mezbaha atıksularını arıtmada iyi bir alternatiftir ve literatürde çokça çalışılmıştır (Ruiz ve ark., 1997; Yordanov, 2010; Jensen ve ark., 2015). Ters ozmos (TO), nanofiltrasyon (NF), ultrafiltrasyon (UF) ve mikrofiltrasyon (MF) prosesleri, gözenek büyüklüğüne bağlı olarak kolloidler ve makromolekülleri uzaklaştırmada etkindir. Bohdziewicz ve Sroka (2005) çalışmalarında ilk arıtım olarak aktif çamur ikincil arıtım olarak ise ters ozmos prosesini mezbaha atıksuyu için uygulamışlardır. İkincil arıtıma tabi tutulacak suyun KOİ, BOİ, TP ve TN değerleri sırasıyla 76.0, 10.0, 3.6 ve 13.0 ppm iken arıtım sonrası giderim verimi sırasıyla % 85.8, % 50.0, % 97.5 ve % 90.0 olarak gözlenmiştir. Membran teknolojileri uygulanmasıyla yüksek organik madde giderimi sağlanabilmesine rağmen ortamda hala giderilemeyen organikler bulunabilmektedir (Gürel ve Büyükgüngör, 2011). Ayrıca, membran proseslerde membranın tıkanması büyük sorunlara yol açtığından bu prosesinin kullanılabilirliğini kısıtlamaktadır (Almandoz ve ark., 2015).

Kombine prosesler

Organik içeriğin yüksek oluşu farmasötik, yüzey aktif madde gibi kompleks içerikli bir atıksu olması sebebiyle münferit arıtım prosesleri bu tür atıksuları tamamıyla arıtmada

yetersiz kalmaktadır. Uygulanabilirlik, ekonomi ve arıtım açısından kombine proseslerin bu tür atıksulara uygulanması farklı teknolojilerin avantajlarını birleştirdiği için faydalıdır (Kuşçu ve Sponza, 2006; Ahn ve ark., 2007). Literatürde mezbaha atıksularının arıtımı için farklı ve yenilikçi birçok arıtım prosesi kombine edilmiştir. Aerobik proses-ultra filtrasyon, Anaerobik-aerobik proses, elektrokoagülasyon-kimyasal koagülasyon, aktif çamur-ters ozmos, koagülasyon-adsorpsiyon, biyolojik oksidasyon-ileri oksidasyon prosesi bu kombinasyonlardan bazılarıdır. Del Pozo ve Diez (2005), 25 °C sıcaklıkta kombine bir anaerobik-aerobik sabit film reaktör kullanarak mezbaha atıksuyunun arıtımını incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre günlük atıksu giriş konsantrasyonu 0.77 kg m⁻³ olduğu denemelerde KOİ giderim verimi % 93 iken günlük 0.0084 kg-N m⁻³ azot yükünde toplam azot giderimleri % 67 olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada, kombine edilmiş koagülasyon/adsorpsiyon prosesi mezbaha atıksuyu arıtımı için çalışılmıştır (Mahtab ve ark., 2009). Çalışmalarında alum, demir sülfat, demir klorür ve kireç gibi çeşitli koagülantların etkinliği araştırılmıştır. Elde

edilen sonuçlara göre alumun koagülant olarak kullanıldığı denemede % 92 oranında KOİ giderimi elde edilmiştir. Ancak bu kombine prosesin mezbaha atıksularından KOİ giderimi için yeterli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bazrafshan ve ark., (2012) mezbaha atıksuyu arıtımında kimyasal koagülasyon/elektrokoagülasyon kombinasyonunu araştırmışlardır. BOİ ve KOİ giderim oranlarının kullanılan koagülant dozu ve uygulanan voltajla doğru orantılı arttığını ve giderim oranlarında % 99'a kadar ulaşılabildiğini ve elektrokoagülasyonun tek başına kullanımından çok daha efektif olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Aktif çamur-ters ozmos kombinasyonunun arıtım aktivitesi Bohdziewicz ve Sroka, 2005 tarafından bir mezbaha atıksuyu için incelenmiştir. Ham atıksu ön arıtım olarak aktif çamur prosesine tabi tutulmuştur ardından ters ozmos prosesine uygulanmıştır. Giderim verimleri KOİ, BOİ, TP ve TN için sırasıyla % 99.8, % 99.8, % 99.8 ve % 99.8 olarak bulunmuştur. Mezbaha atıksularının arıtımı için literatürde çalışılmış farklı teknolojilerin bireysel ve kombine kullanımının karşılaştırılması Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Literatürde çalışılmış mezbaha atıksu arıtımında farklı teknolojilerin ve kombine proseslerin karşılaştırılması

Proses	HKS (saat)	TOK (ppm)	KOİ (ppm)	BOİ (ppm)	TN (ppm)	TOK (% Verim)	KOİ (% Verim)	BOİ (% Verim)	TN (% Verim)	Referans
AeP	12-3360	1435	6057-6193	4214-4240	547-576	-	97.8-98.2	-	97.7	(Pan ve ark., 2014)
MF	-	183	480	-	115	44.8	90.6	-	45.2	(Almandoz ve ark., 2015)
AnaP	24	-	49-137	30-76	6.1-27	-	13.9	11.3	42.3-77.2	(Manh ve ark., 2014)
KK	3.0	-	6970	5820	-	-	85.5-92.0	85.4	-	(Tariqa ve ark., 2012)
AeP-UF	48	-	1764-2244	1529-1705	435-665	91.0	98.0	-	-	(Keskes ve ark., 2012)
EK	1.0	-	2171	1123	148	-	69.0-83.0	-	-	(Bayar ve ark., 2014)
AnaP-AeP	249	-	3000	-	-	-	90-92	-	-	(Kuşçu ve Sponza, 2006)
AnaP-AeP	23-91	-	1190-2800	610-1150	150-260	-	93.0	97.0	69.0	(Del Pozo ve Diez, 2005)
EK-KK	25	-	4159-5817	2204-2543	92-137	-	80-98	75-9	75-8	(Bazrafshan ve ark., 2012)
İOP	0.4	2240	-	-	290	-	92.6	-	76.2	(Khennoussi ve ark., 2013)
UF	-	-	3610-4180	1900-2200	-	-	94.5-94.7	97.8-97.9	-	(Yordanov, 2010)

AeP; Aerobik proses, AnaP; Anaerobik proses, İOP; İleri oksidasyon prosesi, UF; Ultra Filtrasyon, KK; Kimyasal koagülasyon, EK; Elektrokoagülasyon, MF; Mikrofiltrasyon, HKS; Hidrolik kalış süresi. TOK; KOİ; BOİ; TN, Sırasıyla giriş suyu: Toplam organik karbon, Kimyasal oksijen ihtiyacı, Biyokimyasal oksijen ihtiyacı ve Toplam azot konsantrasyonu.

SONUÇ

Mezbaha atıksularında genellikle ön arıtım olarak kan ve yağ içeriğinin ayrılması için ÇHF, koagülasyon/flokülasyon vb. gibi fizikokimyasal arıtıma tabii tutulduktan sonra ikincil arıtım olarak biyolojik arıtımın uygulanabilir olduğu görülmektedir. Her ne kadar ön arıtımla organik madde giderimi belirli oranlarda etkili bir şekilde gerçekleşse de kalan organik ve diğer inorganik maddelerin giderimi için ikincil arıtım (ileri oksidasyon prosesleri, membran prosesler vb.) prosesleri ayrı ya da birbirlerinin kombinasyonları şeklinde uygulanmalıdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından FHD-2016-5333 no'lu Hızlı Destek Projesi ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aguilar M, Saez J, Llorens M, Soler A, Ortuno, J, 2002. Nutrient Removal and Sludge Production in the Coagulation-Flocculation Process, *Water Research*, 36(11): 2910-2919.
- Ahn Y, Kang S, Chae S, Lee C, Bae B, Shin H, 2007. Simultaneous High-Strength Organic and Nitrogen Removal With Combined Anaerobic Upflow Bed Filter and Aerobic Membrane Bioreactor, *Desalination*, 202(1-3): 114-121.
- Al-Mutairi N, Hamoda M, Al-Ghusain I, 2004. Coagulant Selection and Sludge Conditioning in a Slaughterhouse Wastewater Treatment Plant, *Bioresource Technology*, 95(2): 115-119.
- Almandoz M, Pagliero C, Ochoa N, Marchese J, 2015. Composite Ceramic Membranes From Natural Aluminosilicates for Microfiltration Applications, *Ceramics International*, 41(4): 5621-5633.
- Awang Z, Bashir M, Kutty S, Isa M, 2011. Post-Treatment Of Slaughterhouse Wastewater Using Electrochemical Oxidation, *Research Journal of Chemistry and Environment*, 15(2): 229-237.
- Barrera M, Mehrvar M, Gilbride KA, McCarthy LH, Laursen AE, Bostan V, Pushchak R, 2012. Photolytic Treatment of Organic Constituents and Bacterial Pathogens in Secondary Effluent of Synthetic Slaughterhouse Wastewater, *Chemical Engineering Research and Design*, 90(9): 1335-1350.
- Bayar S, Yıldız Y, Yılmaz A, Koparal AS, 2014. The Effect of Initial Ph on Treatment of Poultry Slaughterhouse Wastewater by Electrocoagulation Method, *Desalination and Water Treatment*, 52(16-18): 3047-3053.
- Bazrafshan E, Mostafapour FK, Farzadkia M, Ownagh KA, Mahvi AH, 2012. Slaughterhouse Wastewater Treatment by Combined Chemical Coagulation and Electrocoagulation Process, *PloS one*, 7(6), e40108.
- Bohdziewicz J, Sroka E, 2005. Integrated System of Activated Sludge–Reverse Osmosis In the Treatment of the Wastewater From the Meat Industry, *Process Biochemistry*, 40(5): 1517-1523.
- Bustillo-Lecompte CF, Mehrvar M, 2015. Slaughterhouse Wastewater Characteristics, Treatment, and Management In the Meat Processing Industry: A Review on Trends and Advances, *Journal of Environmental Management*, 161: 287-302.
- Bustillo-Lecompte CF, Mehrvar M, Quiñones-Bolaños E, 2014. Cost-Effectiveness Analysis of TOC Removal From Slaughterhouse Wastewater Using Combined Anaerobic–Aerobic and UV/H₂O₂ processes, *Journal of Environmental Management*, 134: 145-152.
- Bustillo-Lecompte CF, Knight M, Mehrvar M, 2015. Assessing The Performance of UV/H₂O₂ as A Pretreatment Process In TOC Removal of an Actual Petroleum Refinery Wastewater and Its Inhibitory Effects on Activated Sludge, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93(5): 798-807.
- Caixeta CE, Cammarota MC, Xavier AM, 2002. Slaughterhouse Wastewater Treatment: Evaluation of A New Three-Phase Separation System In A UASB Reactor, *Bioresource Technology*, 81(1): 61-69.
- Cao W, Mehrvar M, 2011. Slaughterhouse Wastewater Treatment By Combined Anaerobic Baffled Reactor and UV/H₂O₂ processes, *Chemical Engineering Research and Design*, 89(7): 1136-1143.

- Chan YJ, Chong MF, Law CL, Hassell D, 2009. A Review on Anaerobic–Aerobic Treatment of Industrial and Municipal Wastewater, *Chemical Engineering Journal*, 155(1-2): 1-18.
- Chernicharo CD, 2006. Post-Treatment Options For the Anaerobic Treatment of Domestic Wastewater, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 5(1): 73-92.
- Coskun T, Debik E, Kabuk HA, Manav Demir N, Basturk I, Yildirim B, Temizel D, Kucuk S, 2016. Treatment of Poultry Slaughterhouse Wastewater Using A Membrane Process, Water Reuse, And Economic Analysis, *Desalination and Water Treatment*, 57(11): 4944-4951.
- Davarnejad R, Nasiri S, 2017. Slaughterhouse Wastewater Treatment Using An Advanced Oxidation Process: Optimization Study, *Environmental Pollution*, 223: 1-10.
- De Nardi I, Fuzi T, Del Nery V, 2008. Performance Evaluation and Operating Strategies of Dissolved-Air Flotation System Treating Poultry Slaughterhouse Wastewater, *Resources, Conservation and Recycling*, 52(3): 533-544.
- De Sena RF, Tambosi JL, Genena AK, de FPM Moreira R, Schröder HF, José HJ, 2009. Treatment of Meat Industry Wastewater Using Dissolved Air Flotation and Advanced Oxidation Processes Monitored by GC–MS and LC–MS, *Chemical Engineering Journal*, 152(1): 151-157.
- Debik E, Coskun T, 2009. Use Of The Static Granular Bed Reactor (SGBR) With Anaerobic Sludge to Treat Poultry Slaughterhouse Wastewater and Kinetic Modeling, *Bioresource Technology*, 100(11): 2777-2782.
- Del Pozo R, Diez V, 2005. Integrated Anaerobic–Aerobic Fixed-Film Reactor For Slaughterhouse Wastewater Treatment, *Water Research*, 39(6): 1114-1122.
- Edalatmanesh M, Mehrvar M, Dhib R, 2008. Optimization of Phenol Degradation In A Combined Photochemical–Biological Wastewater Treatment System, *Chemical Engineering Research and Design*, 86(11): 1243-1252.
- Emamjomeh MM, Sivakumar M, 2009. Review of Pollutants Removed by Electrocoagulation and Electrocoagulation/Flotation Processes, *Journal of Environmental Management*, 90(5): 1663-1679.
- Erarslan S, 2006. Et entegre endüstrisi arıtılmış atıksularının deşarj kriterlerinin araştırılması, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- APHA, 2005. Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Fil BA, Boncukcuoğlu R, Yilmaz AE, Bayar S, 2014. Electro-Oxidation of Pistachio Processing Industry Wastewater Using Graphite Anode, *CLEAN–Soil, Air, Water*, 42(9): 1232-1238.
- Fongsatitkul P, Wareham D, Elefsiniotis P, Charoensuk P, 2011. Treatment of A Slaughterhouse Wastewater: Effect of Internal Recycle Rate On Chemical Oxygen Demand, Total Kjeldahl Nitrogen and Total Phosphorus Removal, *Environmental Technology*, 32(15): 1755-1759.
- Resmi Gazete, 2009. Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. TC Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Karar No: 8289.
- Gürel L, Büyüküngör H, 2011. Treatment of Slaughterhouse Plant Wastewater By Using A Membrane Bioreactor, *Water Science and Technology*, 64(1): 214-219.
- Ihara I, Umetsu K, Kanamura K, Watanabe T, 2006. Electrochemical Oxidation of The Effluent From Anaerobic Digestion Of Dairy Manure, *Bioresource Technology*, 97(12): 1360-1364.
- Jensen P, Yap S, Boyle-Gotla A, Janoschka J, Carney C, Pidou M, Batstone, D, 2015. Anaerobic Membrane Bioreactors Enable High Rate Treatment of Slaughterhouse Wastewater, *Biochemical Engineering Journal*, 97: 132-141.
- Johns M, 1995. Developments In Wastewater Treatment In The Meat Processing Industry: A review, *Bioresource Technology*, 54(3): 203-216.
- Keskes S, Hmaied F, Gannoun H, Bouallagui H, Godon JJ, Hamdi M, 2012. Performance of A Submerged Membrane Bioreactor For The Aerobic Treatment of Abattoir Wastewater, *Bioresource Technology*, 103(1): 28-34.
- Khenoussi A, Chaouch M, Chahlaoui A, 2013. Traitement Des Effluents D’abattoir De Viande Rouge Par Électrocoagulation-Flottation Avec Des Électrodes En Fer, *Revue des sciences de l’eau/Journal of Water Science*, 26(2): 135-150.

- Koby M, Senturk E, Bayramoglu M, 2006. Treatment of Poultry Slaughterhouse Wastewaters By Electrocoagulation, *Journal of Hazardous Materials*, 133(1-3): 172-176.
- Kuşçu ÖS, Sponza DT, 2006. Treatment Efficiencies of A Sequential Anaerobic Baffled Reactor (ABR)/completely stirred tank reactor (CSTR) System At Increasing P-Nitrophenol and COD Loading Rates, *Process Biochemistry*, 41(7): 1484-1492.
- Lovett D, Travers S, 1986. Dissolved Air Flotation For Abattoir Wastewater, *Water Research*, 20(4): 421-426.
- Mahtab A, Tariq M, Shafiq T, Nasir A, 2009. Coagulation/Adsorption Combined Treatment of Slaughterhouse Wastewater, *Desalination and Water Treatment*, 12(1-3): 270-275.
- Manh LH, Dung NNX, Am LV, Minh BTL, 2014. Treatment Of Wastewater From Slaughterhouse By Biodigester and *Vetiveria Zizanioides*, *Livestock Research for Rural Development*, 26(4).
- Manjunath N, Mehrotra I, Mathur R, 2000. Treatment of Wastewater From Slaughterhouse By DAF-UASB System, *Water Research*, 34(6): 1930-1936.
- Massé D, Masse L, 2000. Characterization of Wastewater, *Canadian Agricultural Engineering*, 42(3): 139-146.
- Mehrvar M, Tabrizi GB, 2006. Combined Photochemical and Biological Processes For The Treatment of Linear Alkylbenzene Sulfonate In Water, *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 41(4): 581-597.
- Mehrvar M, Venhuis SH, 2005. Photocatalytic Treatment of Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) In Water, *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 40(5): 1003-1012.
- Mohajerani M, Mehrvar M, Ein-Mozaffari F, 2012. Photoreactor Design and CFD Modelling of a UV/H₂O₂ Process For Distillery Wastewater Treatment, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 90(3): 719-729.
- Pan M, Henry LG, Liu R, Huang X, Zhan X, 2014. Nitrogen Removal From Slaughterhouse Wastewater Through Partial Nitrification Followed By Denitrification In Intermittently Aerated Sequencing Batch Reactors At 11 C, *Environmental Technology*, 35(4): 470-477.
- Paramo-Vargas J, Camargo AME, Gutierrez-Granados S, Godinez LA, Peralta-Hernandez JM, 2015. Applying Electro-Fenton Process As An Alternative To A Slaughterhouse Effluent Treatment, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 754: 80-86.
- Ruiz I, Veiga MC, De Santiago P, Blazquez R, 1997. Treatment of Slaughterhouse Wastewater In A UASB Reactor And An Anaerobic Filter, *Bioresource Technology*, 60(3): 251-258.
- Satyanarayan S, Ramakant, Vanerkar AP, 2005. Conventional Approach For Abattoir Wastewater Treatment, *Environmental Technology*, 26(4): 441-448.
- Tariqa M, Ahmada M, Siddiqueb S, Waheedb A, Shafiq T, Khana MH, 2012. Optimization of Coagulation Process For The Treatment of The Characterized Slaughterhouse Wastewater, *Series A: Physical Sciences*, 55(1): 43-48.
- Tritt W, Schuchardt F, 1992. Materials Flow And Possibilities Of Treating Liquid And Solid Wastes From Slaughterhouses In Germany. A review, *Bioresource Technology*, 41(3): 235-245.
- Venhuis SH, Mehrvar M, 2005. Photolytic Treatment Of Aqueous Linear Alkylbenzene Sulfonate, *Journal of Environmental Science and Health*, 40(9): 1731-1739.
- Vidal J, Huiliñir C, Salazar R, 2016. Removal of Organic Matter Contained In Slaughterhouse Wastewater Using A Combination of Anaerobic Digestion And Solar Photoelectro-Fenton Processes, *Electrochimica Acta*, 210, 163-170.
- Wu PF, Mittal GS, 2012. Characterization of Provincially Inspected Slaughterhouse Wastewater In Ontario, Canada, *Canadian Biosystems Engineering*, 54.
- Yordanov D, 2010. Preliminary Study of The Efficiency of Ultrafiltration Treatment of Poultry Slaughterhouse Wastewater, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 16(6): 700-704.

The Investigation of Thermodynamics Parameters and Adsorption Kinetic of The Maxilon Blue 5G Dye on Turkey Green Clay

Mehmet Salih NAS^{1*}

ABSTRACT: Maxilon Blue 5G dye and Turkey green clay minerals used in adsorption experiments are of great importance recently due to their biological and physicochemical properties. Therefore, kinetic parameters of the adsorption of maxilon blue 5G dye on green clay were investigated. Studies were performed under adsorption conditions such as pH (5-11), maxilon blue 5G dye concentration ($0.5 \cdot 10^{-6}$ - $2 \cdot 10^{-5}$ M) and temperature (298-328 K). Turkey green clay and maxilon blue 5G dye were characterized by BET, SEM and XRF. The most favorable conditions for the dye adsorption of clay mineral, which is the support substance, were found to be pH 11 and the temperature was 328 K. The kinetic datas obtained from experimental studies were investigated on three different kinetic models such as pseudo-first-order, pseudo-second-order and intraparticle diffusion and it was determined that the adsorption event was carried out more compatible with the second order equation. Thermodynamic functions such as activation energy (E_a), enthalpy (ΔH), Gibbs free mechanism (ΔG) and entropy (ΔS) were calculated. According to the results obtained from the experimental datas, the interaction between green clay and maxilon blue 5G are a physical interaction and experimental processes of adsorption are endothermic. These results indicated that green clay can be used as an adsorbent for the adsorption of the maxilon blue 5G (MB-5G).

Keywords: Maxilon blue 5G, thermodynamics, green clay, adsorption

¹ Mehmet Salih NAS (**Orcid ID:** 0000-0003-1092-5237), Iğdır Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Iğdır, Türkiye

*Corresponding Author: Mehmet Salih NAS, e-mail: msnas34@gmail.com

INTRODUCTION

There is a significant amount of synthetic dyestuff in the wastewater of industrial enterprises such as paint, leather, plastic and paper (Chiou et al., 2004). Due to the nature of the paints, it is difficult to remove from waste water. Because the organic acids of the dyes are extremely resistant to heat, light conditions and oxidizing agents (Crini, 2006). Such fluids include a number of contaminating agents, including dissolved solids, toxic, acid or caustic substances and color (Yener et al., 2006). In the case of both volumetric and waste incineration, water pollution caused by the textile industry is more than the whole industry (Singh et al., 2003). Due to the nature of the colors, a very small amount of wastewater is noticeable and undesirable. Therefore it is defined as the first pollutant (Banat et al., 1996). Many methods are used to remove dyestuffs from wastewater, such as chemical oxidation applications, adsorption process, membrane filtration, biodegradation and separation method (Choy et al., 1999). The presence and intensity of the functional groups on the support material surface and the support material in adsorption studies are extremely important for the adsorption capacity (Yenisoy et al., 2004). In order to remove basic and acidic character dyes, alternative materials such as activated carbon, unburned carbon (Choy et al., 1999; Basibuyuk and Forster, 2003; Yenisoy et al., 2004; Wang and Li, 2005), silica material and montmorillonite clay (McKay et al., 1980; Wang et al., 2004), and other adsorbents such as orange fruit shells (Namasivayam et al., 1996), fruit bundle of palm tree (Ho and Mckay, 1998), bark of teak wood, cotton residues, sugar cane powder (McKay et al., 1999; Khattri and Singh, 1999), diatomite (Çalimli et al., 2018), krill clay (Nas et al., 2017), polymer composite Films (Şen et al., 2018), Graphene Oxide-Chitosan (Savk et al., 2018a), Novel Chitosan-Based Nanocomposites (Savk et al., 2018b), Turkish

Green Clay (Demirbaş et al., 2016) were utilized in many studies.

The characteristic of support material used in the process is extremely important (Ali, 2012; Ali et al., 2012) for the efficiency of adsorption studies. Due to its high surface area and adsorption capacity, activated carbon is the most preferred support material for adsorption studies (Ali, 2010; Auta and Hameed, 2011; Ali et al., 2012). But activated carbon is a very expensive support material despite its excellent adsorption capacity (Auta and Hameed, 2012). Clay minerals are inexpensive, suitable for ecosystems, and have simple-to-use properties (Rehman et al., 2013). In adsorption processes, the graphene-carbon nanotube composite is used extensively to remove methylene blue from the wastewater (Wang et al., 2014). In this study, the clay which is considered as a support agent for dye removing is really green. In the literature studies, green clay is an organic composite mineral composed of decomposed plant based wastes as seaweed and iron compounds and the illite, known as the French green clay for centuries, took this name from the rock quarries on the southern slopes of France. It has been evaluated in different areas such as medicine cleaning and detox. Recently, it has been found that green clay mineral has a curative effect on patients with ulcers (Williams et al., 2008; Anonymous, 2016). Williams et al. (2008) have found that clay minerals can provide an inexpensive treatment for skin infections due to the antibacterial properties of clay minerals. The green clay used in this study was obtained from the mineral rock beds in the Gürpınar district of Van. For this reason, the name was considered as Turkish green clay. The aim of this study was to investigate the adsorption kinetics of maxilon blue 5G on the Turkish green clay (TGC) under a series of physicochemical conditions. For adsorption characterization, it was detected with SEM (Scanning Electron Microscope) and BET (Brunauer, Emmet ve Teller) devices. In this

study, important parameters such as contact time, pH and temperature were investigated during the experiment. In addition, thermodynamic functions such as entropy, enthalpy and Gibbs free energy were examined.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Clay mineral used in this study was obtained from the Gürpınar districts of Van and the characterization of the samples was evaluated. To determine the surface area and

pore volume of TGC clay mineral, BET (micromeritics FlowSorb II-2300) apparatus was used. The surface morphology of the samples used for the adsorption was determined with the SEM apparatus. MB-5G was obtained from Setas, Textile Co. (Bursa, Turkey). The chemical used in the study was analytical grade and the water used was evaluated by precision distillation in millimetric quality. The chemical composition and specific surface area of the Turkey green clay are shown in Table 1 and Table 2.

Table 1. Chemical composition of Turkey Green Clay

Constituent	Percentage present (%)
Mg	20,74
Al	9,20
Si	44,79
Fe	12,48
Ca	10,02
Others	2,77

Table 2. Some properties of Green Clay

Constituent	Values
Particle size (mesh)	325
pH	9.23
Specific surface areas m ² /g	
Single point specific surface area	1.484e+01 m ² /g
Multipoint specific surface areas	1.547e+01 m ² /g

Experimental procedure

Adsorption studies were performed using mechanical mixer in the balloon glass. All colorant solution was prepared with ultra-pure water. The kinetic assays were carried out at a constant agitation rate of 600 rpm, at a concentration of $1 \cdot 10^{-5}$ M dyestuff, under conditions of pH 7 and 298 K. As a result of preliminary studies, the dye concentration was $5 \cdot 10^{-6}$ mol / L, $1 \cdot 10^{-5}$ M and $2 \cdot 10^{-5}$ M, and the effect of pH on the Turkey green clay of the dyestuff was analyzed from pH 5 to 11. The pH of the dyestuff solutions was adjusted by pH electrode from 0.05 N NaOH and 0.05 N HCl

solutions. The effect of temperature on the adsorption studies was carried out at, 298 K, 308 K, 318 K and 328 K. 5 milliliters of sample were taken at a certain time interval and the samples were centrifuged at 3500 rpm for 6 minutes, and the UV-Vis spectrophotometer (Cary 1E UV-Vis spectrophotometer, Varian) was used to monitor the maximum absorbance wavelength changes of the obtained supernatant. The adsorbed amount of dyestuff at any time t, q_t , was calculated from the mass balance equation 1.

$$q_t = (C_0 - C_t)V/m \quad (1)$$

In the equation given herein, C_0 and C_t expressions indicate the concentration value at first and at any time. V and m denote the volume of the dye used and the mass of the green clay mineral (Alkan et al., 2008).

RESULTS AND DISCUSSION

The effect of contact and equilibrium times and dye concentration factor

Adsorption effect on TGC of maxilon blue 5G was studied at constant conditions such as a stirring time of 600 rpm, a specific contact time and pH 7. From Table 3, it was found that the amount of adsorbed maxilon blue 5G increased from 0.195 to 0.752 mmol g⁻¹ for an increase of 0.5×10^{-5} M to 2.0×10^{-5} M at the initial maxilon blue 5G concentration. The time required to reach this concentration is about 60 minutes.

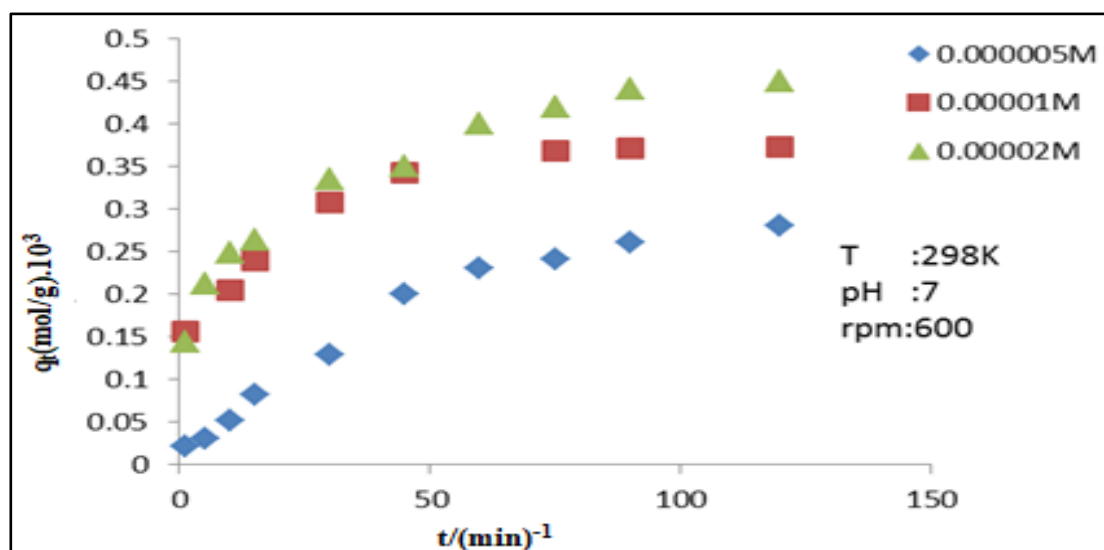


Figure.1. The effect of dyestuff concentration

Effect of solution pH and temperature

The adsorbent surfaces used in the adsorption studies have generally a negative and positive charge. The ions on these surfaces are affected because they are very sensitive to pH changes. In some cases, the net surface charge of the support material is zero. The pH value of the adsorbent considered for the support material is shown as pH_{pzc} (the point of zero charge) where the net surface charge is zero (neutral) (Wang et al., 2014). Figure 2a shows the effect of changing the pH of 5 to 11 in MB-5G aqueous solutions under constant conditions such as temperature, initial dye concentration and clay amount. When Figure 2 is examined, the adsorbent (g) adsorbed per unit mass (mmol) is increased when the pH is increased from 5 to 11.

This can be explained by the electrostatic attraction between the positively charged MB-5G and the negatively charged clay surface. One of the most important factors in adsorption studies is the temperature factor. In this study, adsorption kinetics of MB-5G on TGC clay mineral at 298, 308, 318 and 328 K temperature were investigated under initial MB-5G concentration conditions at 2.0×10^{-5} M at pH 7. The results showed that the increase in temperature showed that MB-5G increased the amount of adsorption on the clay mineral (Alkan et al., 2008; Nandi et al., 2009; Ghaedi et al., 2011) and the maximum adsorption capacity of MB-5G adsorbed onto the surface of TGC was determined at 328 K. In the results, we can say that the adsorption process is endothermic.

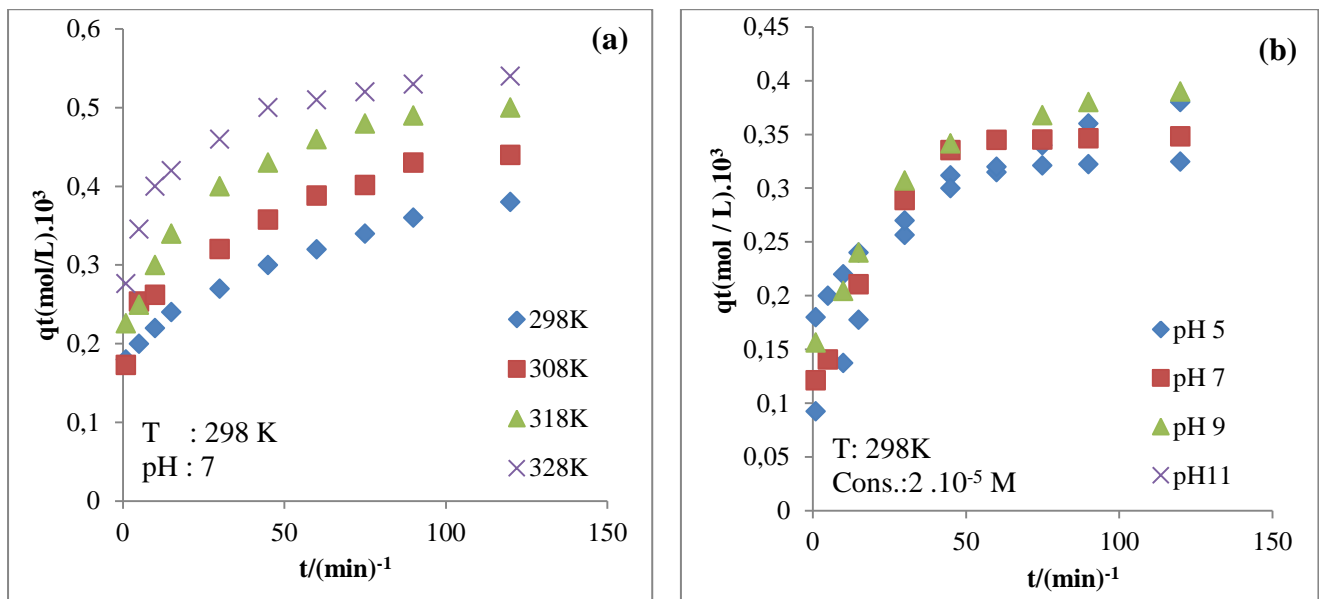


Figure 2. The effect of solution of pH(a) and temperature(b) to the adsorption rate of MB-5G on TGC

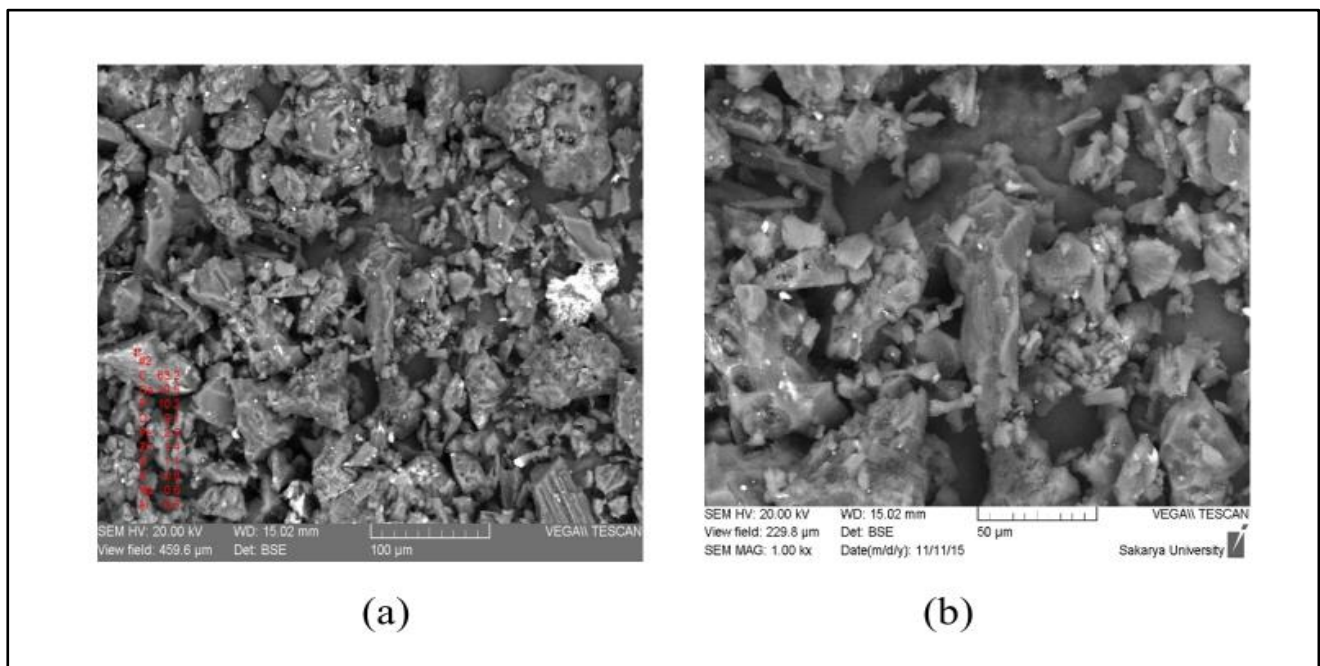


Figure 3. SEM microphotographs of (a) TGC, (b) MB-5G adsorbed by TGC after 120 min

Investigation of figures SEM

SEM images of Turkey green clay material (TGC) and the composite (TGC/MB-5G) consisted of pure maxilon blue 5G - green clay are given in Figure 3. Figure 3a shows SEM image of TGC. Some pores which have been formed because of air are seen on the surface.

Figure 3b shows surface of composite (TGC/MB-5G). Bright and dark dots are seen on the surface of composite (TGC/MB-5G). These dots show both MB-5G and green clay. The surface of the adsorption agent appears brighter and smoother. This indicates that the material considered as support is coated with MB-5G.

Table 3. Kinetic datas calculated for adsorption

Parameters					Pseudo-second-order					
T/K	Con. mol. L ⁻¹ 10 ⁻⁵	pH	Stir. Speed rpm	Pseudo order R ²	q _e (cal.) first-g ⁻¹	q _e (exp.) mg. g ⁻¹	k ₂ (g) mg. min ⁻¹	R ²	h(mol) min. g ⁻¹	t
298	0.2	7	600	0.92	0.39	0.40	0.362	0.99	0.140	6.06
308	0.2	7	600	0.9	0.42	0.44	0.420	0.99	0.160	5.03
318	0.2	7	600	0.94	0.49	0.50	0.491	0.99	0.195	4.12
328	0.2	7	600	0.98	0.50	0.49	0.637	0.99	0.383	2.41
298	0.05	7	600	0.94	0.19	0.20	0.322	0.98	0.068	9.7
298	0.1	7	600	0.96	0.39	0.40	0.362	0.99	0.140	6.06
298	0.2	7	600	0.85	0.54	0.57	0.106	0.96	0.066	12.5
298	0.2	5	600	0.97	0.36	0.38	0.423	0.98	0.156	5.46
298	0.2	7	600	0.93	0.38	0.39	0.916	0.99	0.335	3.14
298	0.2	9	600	0.98	0.39	0.40	0.362	0.99	0.140	6.06
298	0.2	11	600	0.97	0.39	0.41	0.368	0.99	0.144	6.13

Adsorption study kinetics

In order to understand the control mechanism in sorption studies. It is stated with experimental model which model is carried out with experimental datas. The pseudo first-order equation is generally expressed as follows (Lagergren, 1898; Weber et al., 1963; Hunter, 1999).

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (2)$$

herein, the pseudo-first-order velocity constant is k_1 . The datas are indicated in Table 3.

Pseudo - second - order equation

If the adsorption process is carried out by a second order mechanism, The so-called-second equation 3 is indicated below (Ho and McKay, 1998)

$$\frac{t}{q_e} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (3)$$

The initial adsorption rate (h) is expressed by equation 4.

$$h = k_2 q_e \quad (4)$$

herein, when we look k_2 and k_1 values in Table 3, it is understood that the adsorption mechanism is carried out by second order kinetic equations.

The initial ratio of intra-particle diffusion was obtained by the following equation 5 (Doğan et al., 2006).

$$q_t = k_{int} t_{1/2} + C \quad (5)$$

Herein, k_{int} is the intraparticle diffusion rate constant ($\text{mg}(\text{g min}^{-1/2})^{-1}$) and is given in Table 4.

Thermodynamic parameters

In order to calculate the activation energy of the adsorbed MB-5G dyestuff on the support material in the study, arrhenius equation 6 was used.

$$\ln k_2 = \ln A - \frac{E_a}{Rg.T} \quad (6)$$

In the aforementioned equation, E_a , k_2 and A expressions respectively indicate the activation energy (J / mol), the rate constant (g / mol s) of the sorption and the Arrhenius factor. In order to calculate the E_a value, the E_a value of $\ln k$ versus $1 / T$ was found to be 11.8. From the activation energy, we can say that the working process is carried out under the conditions of physical adsorption (Laidler and Meiser, 1999). In the Eyring equation 7, the most important function values of thermodynamics such as entropy (ΔS), enthalpy (ΔH) and free Gibbs energy (ΔG) were obtained (Singh, 2000).

Table 4. Intra - particle diffusion data from adsorption studies

Mass transfer				Intra – particle diffusion			
T/K	Conc. mol. L ⁻¹ . 10 ⁻⁵	pH	Stirring Speed (rpm)	kint ₁ mg.g ⁻¹ min ^{-1/2}	R ₁ ²	kint ₂ mg.g ⁻¹ min ^{-1/2}	R ₂ ²
298	0.2	7	600	0.003	0.95	0.012	0.98
308	0.2	7	600	0.023	0.98	0.093	0.94
318	0.2	7	600	0.044	0.97	0.0016	0.97
328	0.2	7	600	0.064	0.98	0.0056	0.78
298	0.05	7	600	0.024	0.96	0.004	0.92
298	0.1	7	600	0.003	0.95	0.012	0.98
298	0.2	7	600	0.041	0.98	0.0045	0.69
298	0.2	5	600	0.033	0.94	0.0011	0.99
298	0.2	9	600	0.035	0.98	0.0016	0.96
298	0.2	7	600	0.003	0.95	0.0012	0.98
298	0.2	11	600	0.0024	0.97	0.0027	0.95

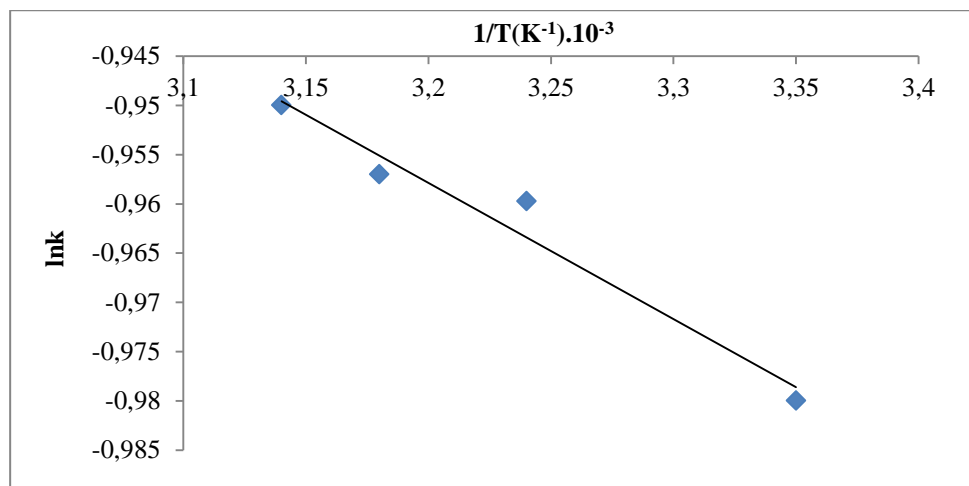


Figure 4. Arrhenius graph for adsorption of MB-5G in TGC.

$$\ln(k_2/T) = \ln(kb/h) + \frac{\Delta S}{Rg} - \frac{\Delta H}{RgT} \dots\dots\dots (7)$$

In the above equation, the expressions kb and h denote Boltzmann (1.3807.10⁻²³ J/K and Planck (6.6261.10⁻³⁴ J s) constants. The value of Standard enthalpy change was also found to be 15.2 kJ/mol. This indicates that the event is

endothermic. The small amount of enthalpy change indicates a loose bond between the adsorbate molecules and the support surface (Mall and Upadhyay, 1995).

Table 5. Thermodynamic function datas obtained by adsorption of TGC surface with MB-5G

Parameter				
T/K	ΔG (kJ/mol)	Ea (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (j/K.mol)
298	64.96			
308	66.63	11.8	15.2	-167.3
318	68.3			
328	69.97			

CONCLUSION

Herein, we showed that Turkey green clay (TGC) can be used as a good support material for the adsorption of MB-5G. MB-5G concentration, temperature, pH and contact time were taken as kinetic parameters in the adsorption process. The amount of adsorption increased with the increase pH and temperature values. The experiments results showed the adsorption process are compatible with the second order kinetic model. The positive value of Gibbs energy showed the adsorption process are not spontaneous, and the adsorption process are endothermic due to the small and positive value of enthalpy. The small enthalpy change indicates forming of a loose bond between the MB-5G molecules and the support surface. The selected Turkey Green Clay as a carrier for the adsorption process has a high adsorption potential because of an effective adsorption effect in aqueous medium.

REFERENCES

- Ali I, 2010. The quest for active carbon adsorbent substitutes: Inexpensive adsorbents for toxic metal ions removal from wastewater. *Separation and Purification Reviews* 39(3):95-171.
- Ali I, Asim M, Khan TA, 2012. Low cost adsorbents for removal of organic pollutants from wastewater. *Journal of Environmental Management* 113C:170-183.
- Ali I, 2012. New generation adsorbents for water treatment. *Chemical Reviews* 112(10):5073-5091.
- Alkan M, Doğan M, Turhan Y, Demirbaş Ö, Turan P, 2008. Adsorption kinetics and mechanism of maxilon Blue 5G dye on sepiolite from aqueous solutions. *The Chemical Engineering Journal* 139(2):213-223.
- Auta M, Hameed BH, 2012. Acid modified local clay beads as effective low-cost adsorbent for dynamic adsorption of methylene blue. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 19(4):1153-1161.
- Auta M, Hameed BH, 2011. Preparation of waste tea activated carbon using potassium acetate as an activating agent for adsorption of acid blue 25 dye. *The Chemical Engineering Journal* 171(2):502-509.
- Auta V, Hameed BH, 2012. Modified mesoporous clay adsorbent for adsorption isotherm and kinetics of methylene blue. *The Chemical Engineering Journal* 198-199:219-227.
- Anonymous, 2016. <https://www.leaf.tv/articles/greenclay-benefits/>. (07.12.2016)
- Banat IM, Nigam P, Singh D, Marchant R, 1996. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: A review. *Bioresource Technology* 58(3):217-227.
- Basibuyuk M, Forster CF, 2003. An examination of the adsorption characteristics of a basic dye (Maxilon Red BL-N) on to live activated sludge system. *Process Biochem*, (38): 1311-1316.
- Chiou MS, Ho PY, Li HY, 2004. Adsorption of anionic dyes in acid solutions using chemically cross-linked chitosan beads. *Dyes and Pigments* 60(1):69-84.
- Choy KKH, McKay G, Porter JF, 1999. Sorption of acid dyes from effluents using activated carbon. *Resource Conservation Research*, 27, 57-71.
- Crini G, 2006. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresource Technology* 97(9):1061-1085.
- Çalimli MH, Demirbaş Ö, Aygün A, Alma MH, Nas MS, Şen F, 2018. Immobilization kinetics and mechanism of bovine serum albumin on diatomite clay from aqueous solutions. *Applied Water Science*, 8:209. Doi: 10.1007/s13201-018-0858-8.

- Demirbaş Ö, Nas MS, 2016. Kinetics and mechanism of the adsorption of methylene blue from aqueous solution onto turkish green clay. *Archives of Current Research International*, 6(3): 1-10.
- Doğan M, Alkan M, Demirbaş Ö, Özdemir Y, Özmetin C, 2006. Adsorption kinetics of Maxilon Blue GRL onto sepiolite from aqueous solutions. *The Chemical Engineering Journal* 124(1-3):89-101.
- Ghaedi M, Hossainian H, Montazerzohori M, Shokrollahi A, Shojaipour F, Soylak M, Purkait MK, 2011. A novel acorn based adsorbent for the removal of brilliant green. *Desalination* 281:226–233.
- Ho YS, McKay G. 1998. Sorption of dye from aqueous solution by peat. *Chem. Eng. J.* 70(2):115–124.
- Hunter RJ, 1999. *Introduction to modern colloid science*. Oxford University Press. New York. USA.
- Khattri SD, Singh MK, 1999. Colour removal from dye wastewater using sugar cane dust as an adsorbent. *Adsorption Science & Technology*, 17(4):269–282.
- Lagergren S, 1898. About the theory of so called adsorption of soluble substances. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 24, 1-39, 1898.
- Laidler KJ, Meiser JM, 1999. *Physical Chemistry*. Houghton Mifflin. p.852. New York-ABD
- Mall ID, Upadhyay SN, 1995. Treatment of methyl violet bearing wastewater from paper mill effluent using low cost adsorbents. *J.Indian Pulp Paper Technol. Assoc.* 7(1): 51-57.
- McKay G, Otterburn MS, Sweeney AG, 1980. The removal of colour from effluent using various adsorbents–III. Silica: Rate processes. *Water Research* (14): 15–20.
- McKay G, Porter JF, Prasad GR, 1999. The removal of dye colours from aqueous solutions by adsorption on low-cost materials. *Water, Air and Soil Pollution*, 114(3-4): 423–438.
- Namasivayam C, Muniasamy N, Gayatri K, Rani M, Ranganathan K, 1996. Removal of dyes from aqueous solutions by cellulosic waste orange peel. *Bioresource Technology* 57(1):37–43.
- Nandi BK, Goswami A, Purkait MK, 2009. Adsorption characteristics of brilliant green dye on kaolin. *Journal of Hazardous Materials*, (161):387–395.
- Nas MS, Gür A, Gür T, Yönten V, 2017. Exploring thermodynamics and kinetic parameters of immobilized catalase enzyme via adsorption on krill clay. *Desalination and Water Treatment* (67): 178-186.
- Rehman MSU, Munir M, Ashfaq M, Rashid N, Nazar MF, Danish M, Han JI, 2013. Adsorption of brilliant green dye from aqueous solution onto red clay. *Chemical Engineering Journal* (228): 54–62.
- Savk A, Sen B, Demirkan B. Kuyuldar E, Aygun A, Nas MS, Sen F, 2018a. Graphene oxide-chitosan furnished monodisperse platinum nanoparticles as importantly competent and reusable nanosorbents for methylene blue removal. *Chitosan-Based Adsorbents for Wastewater Treatment*. Materials Research Forum LLC. USA. 24 pages. DOI: <http://dx.doi.org/10.21741/9781945291753-11>.
- Savk A, Sen B, Demirkan B, Kuyuldar E, Aygun A, Nas MS, Sen F, 2018b. Novel Chitosan-Based Nanocomposites for Dye Removal Applications. *Chitosan-based adsorbents for wastewater treatment*. Materials Research Forum LLC. USA. 24 DOI: <http://dx.doi.org/10.21741/9781945291753-3>.
- Singh D, 2000. Studies of the adsorption thermodynamics of oxamyl on fly ash. *Adsorption Science&Technology* 18(8): 741-748.

- Singh KP, Mohan D, Sinha. S, Tondon GS, Gosh D, 2003. Color removal from wastewater using low-cost activated carbon derived from agricultural waste material. *Ind. Eng. Chem. Res* (42):1965–1976.
- Şen F, Demirbaş Ö. Çalıklı MH, Aygün A, Alma MH, Nas MS, 2018. Dye removal from aqueous solution using polymer composite films. *Applied Water Science* 8:206.
- Wang CC, Juang LC, Hsu TC, Lee CK, Lee JF, Huang FC, 2004. Adsorption of basic dyes onto montmorillonite. *Journal of Colloid and Interface Science* (273): 80–86.
- Wang P, Cao M, Wang C, Ao Y, Hou J, Qian J, 2014. Kinetics and thermodynamics of adsorption of methylene blue by a magnetic graphene–carbon nanotube composite. *Applied Surface Science* (290): 116-124.
- Wang S, Li H. 2005. Dye adsorption on unburned carbon: Kinetics and equilibrium. *Journal of Hazardous Materials*, 126(1–3): 71–77.
- Weber WJ, Morris JC, 1963. Kinetics of adsorption on carbon from solution. *Journal of Sanitary Engineering Division ASCE*, (18): 31-42.
- Williams LB, Haydel SE, Giese Jr RF, Eberl DD, 2008. Chemical and mineralogical characteristics of French green clays used for healing. *Clays Clay Miner*, 56(4):437–452.
- Yener J, Kopac T, Dogu G, Dogu T, 2006. Adsorption of Basic Yellow 28 from aqueous solutions with clinoptilolite and amberlite. *Journal of Colloid and Interface Science* (294): 255–264.
- Yenisoy-Karakaş S, Aygün A, Güneş M, Tahtasakal E, 2004. Physical and chemical characteristics of polymer-based spherical activated carbon and its ability to adsorb organics, *Carbon* (42): 477–484.

BHR Metamateryal Lens Tasarımı

Bilal TÜTÜNCÜ^{1*}

Bülent URUL²

ÖZET: Bu çalışmada Ku band mikroşerit yama anten yönlendirici kazanç iyileştirmesi için Bölünmüş Halka Rezonatör (BHR) metamateryal (MM) lens kullanımı gösterildi. Ku bandında odaklama elde edebilmek için aynı bantta negatif kırılma indisli bir BHR metamateryal lens tasarlanıp referans antenin ışınma doğrultusunda yarım dalga boyu uzaklığına yerleştirilerek benzetim ve ölçüm sonuçları ayrı ayrı elde edildi. Bu şekilde referans antenin yönlendirici kazancında ölçüm sonuçlarına göre 1.52 dBi'lık bir artış olduğu tespit edildi. Bu çalışmada, alt tabaka ve üst tabaka için aynı dielektrik malzemeler kullanılmış ve böylece MM lens tabakasının kazanç artırımına yararlı etkisi daha net olarak gösterilmiştir. Ayrıca düşük anten boyutu için MM lens katmanının toplam boyutu, referans antenin yama boyutuyla hemen hemen aynıdır. Bu çalışmayı literatürdeki benzer diğer çalışmalardan avantajlı kılan bir diğer husus, daha az sayıda metamateryal birim hücreden oluşan lens katmanı kullanılmasıdır.

Anahtar Kelimeler: Metamateryal, BHR, Mikroşerit anten, Anten yönlendirici kazancı

SRR Metamaterial Lens Design

ABSTRACT: In this study, the use of Split Ring Resonator SRR metamaterial (MM) lens for Ku band micro-strip patch antenna directivity gain improvement is shown. In order to obtain the focus in the Ku band, a SRR metamaterial lens with a negative refractive index in the same band is designed and placed in the half-wavelength distance of the reference antenna in the radial direction, and the simulation and measurement results are obtained separately. Thus, a 1.52 dBi increase in the directivity gain of the reference antenna is shown according to measurement results. In this study, the same dielectric materials are used for the substrate and superstrate, so that the beneficial effect of the lens layer on the directivity gain improvement is shown more clearly. Moreover, for the low antenna profile, the total size of the MM lens layer is almost the same as the patch size of the reference antenna. Another advantage of this study over other similar studies in the literature is the use of a lens layer consisting of a smaller number of metamaterial unit cells.

Keywords: Metamaterial, SRR, Microstrip antenna, Antenna directivity gain

¹ Bilal TÜTÜNCÜ (Orcid ID: 0000-0002-7439-268X), İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü, İstanbul, Türkiye

² Bülent URUL (Orcid ID: 0000-0003-2656-2450), Süleyman Demirel Üniversitesi, Teknik Bilimler MYO, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, Isparta, Türkiye

*Sorumlu yazar/Corresponding Author: Bilal TÜTÜNCÜ, e-mail: bilal1334@gmail.com

* Bu çalışma Bilal TÜTÜNCÜ'nün Doktora tezinin bir bölümüdür.

GİRİŞ

İlk olarak eşzamanlı negatif ϵ ve negatif μ 'nn bir malzemede bulunma olasılığı Rus bilim adamı Vesalago tarafından teorik olarak 1967'de ortaya atılmıştır (Veselago, 1968). Fakat bu fikir gizli bir define gibi yaklaşık kırk yıl sadece bir hayal olarak kalmıştır. 90'lı yıllarda Pendry ve arkadaşları tarafından negatif dielektrik geçirgenliğin ince metal tellerle (Pendry ve ark.,1996), negatif manyetik geçirgenliğin ise Bölünmüş Halka Rezonatör (BHR-SRR) adı verilen bir yapı ile suni olarak mümkün olduğu gösterilmiştir (Pendry ve ark.,1999).

2000 yılında D. R. Smith, Pendry'nin yaptığı çalışmalardan esinlenerek, daha önce Pendry tarafından gerçeklenmiş olan ince metaller ve dairesel halka rezonatörler ile elde ettiği yapıları tek boyutlu birleştirmiştir. Smith bu çalışmada çembersel halka rezonatörlerinin önüne ince metaller yerleştirmiş ve daha sonra bu yapıyı boyutlandırarak eş zamanlı bir şekilde belirli frekans aralıklarında negatif dielektrik sabiti ve negatif manyetik geçirgenliğin sağlanabileceğini söylemiştir (Smith, 2000). Shelby ve arkadaşları 2001 yılında, iki boyutlu olarak metamateryal (MM) yapısını ortaya çıkarılmıştır ve negatif $-\epsilon$ ve negatif $-\mu$ olayını yani negatif kırılmayı deneysel olarak ta kanıtlamıştır (Shelby, 2001). Daha sonraki yıllarda MM'lerin bu sıra dışı özelliklerinden faydalanılarak birçok alanda kullanılmaya başlanmıştır. MM'lerin geometrik olarak ölçeklendirilebilir olması geniş bir çalışma frekans aralığı da sunmaktadır, bundan dolayı çok geniş bir alanda çok farklı boyutlardaki yapılarla çalışmalar süregelmiştir (Bilal ve ark., 2018, Cui, 2010).

Bu alışmada MM'lerin odaklama özelliğinin Mikroşerit Yama Anteninin (MYA) yönlendirici kazancını artırmadaki etkisini inceledik. Bilindiği üzere elektromanyetik dalgalar yayılarak ilerlemekte ve bu olay dalganın alınmasında kazanç kaybına yol

açmaktadır. Elektromanyetik dalga yayılarak ilerlemek yerine, odaklanarak iletirse dalganın yönlülük noktasında artış sağlanacak ve dolayısıyla bu şekilde kazanç yönlülüğe bağlı olarak artacaktır. Bu çalışmada ise Ku bant (12GHz) için tasarladığımız referans MYA nın yönlendirici kazancını artırmak için yine Ku bantta MM karakteristiği gösterecek şekilde ayarlanan birim hücre BHR MM yapısı periyodik bir düz katman haline dönüştürülerek kullanıldı. Bu çalışmada daha önceki çalışmamıza (Bilal ve ark., 2018) ek olarak BHR lens katmanının iki kat olarak kullanımının etkisi, birim hücrelerin lens katmanı üzerindeki dağılım kombinasyonunun ayarlanması, lens katmanının referans MYA e optimum uzaklığının tesbiti ve BHR lens katmanının farklı aırlarla kullanımının benzetim ve ölçüm sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.

Benzetim ve modellemeler CST programında, fabrikasyon ve ölçümler ise yıldız teknik niversitesi RF ve Mikrodalga laboratuvarında gerçekleştirildi. Referans anten yönlendirici kazancında ölçüm sonuçlarına göre 1.52 dB'lik bir artış gözlendi ve ayrıca Yarı Huzme Bant Genişliğinde (YHGB) ise 21° derecelik bir daralma tespit edildi.

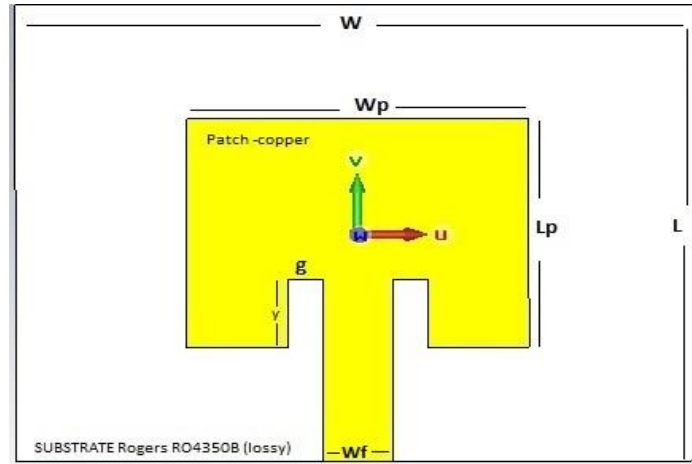
MATERYAL VE YÖNTEM

Ku Band Referans MYA Tasarım ve lmleri

MYA'ların rezonans frekanslarının ayarlanması için literatürde sunulan birçok çalışma ve algoritma vardır. Biz bu çalışmada klasik formülleri tercih ederek (Balanis, 2011) CST'de birçok deney ile sonuca ulaştık. Dielektrik alttaş olarak, Rogers RO4350B (www.rogerscorp.com) tercih edildi. Bağlı dielektrik sabiti $\epsilon_r=3.48$, kayıp tanjantı ($\tan\delta$) $=0.0037$ ve kalınlığı $h=0.762$ mm'dir. Alttaş kalınlığı $h = 0.762$ mm ve rezonans frekansı $f_r = 12$ GHz için; yama genişliği $W_p= 8.35$ mm ve yama uzunluğu $L_p= 6.38$ mm olarak hesaplandı. Alttaş dielektrik tabakanın genişliği $W=2.W_p$ ve

uzunluğu $L=2.L_p$ olarak alındı. Besleme hattı genişliği "wf" ise giriş empedans değerini yaklaşık olarak 50Ω 'a ayarlamak için CST programının "makrolar" menüsündeki "empedans hesapla" özelliği ile 1.7 mm olarak hesaplandı. MYA empedans eşleştirmesi için iki paralel yarık metodu kullanıldı ve bu yarık

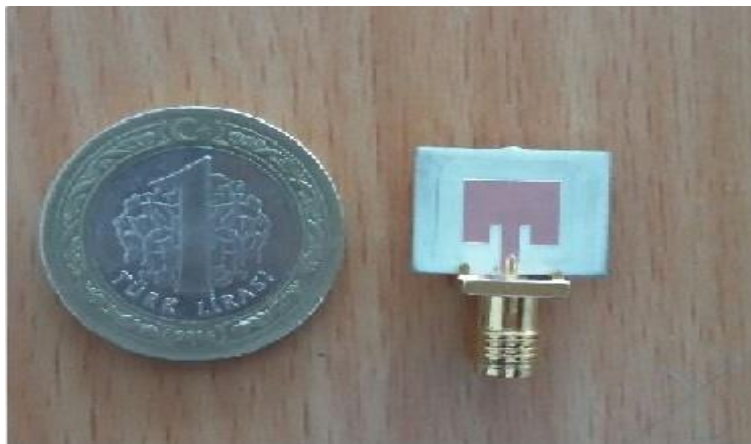
uzunluğu $y= 1.91$ mm olarak hesaplandı ve paralel yarık boşluğu g ise, wf'nin yarısı olarak alındı ($g = wf / 2 = 0.85$ mm) (Balanis, 2011). Referans MYA anten şekli şekil 1'de gösterilmektedir. Referans MYA'yı uyarmak için besleme hattının hemen altına yerleştirilen bir dalga kılavuzu portu kullanılmıştır.



Şekil 1. Referans MYA modeli

CST'de modellenmesi yapılan ve iletim bandı Ku bant için ayarlanan MYA elde edilen ölçülerde baskı devre tekniği kullanılarak Yıldız Teknik Üniversitesi Elektronik ve Haberleşme Bölümü RF ve Mikrodalga Laboratuvarında retildi (Şekil 2). Baskı devre makinası olarak LPKF ProtoMat S103 kullanıldı. Uyarım portu

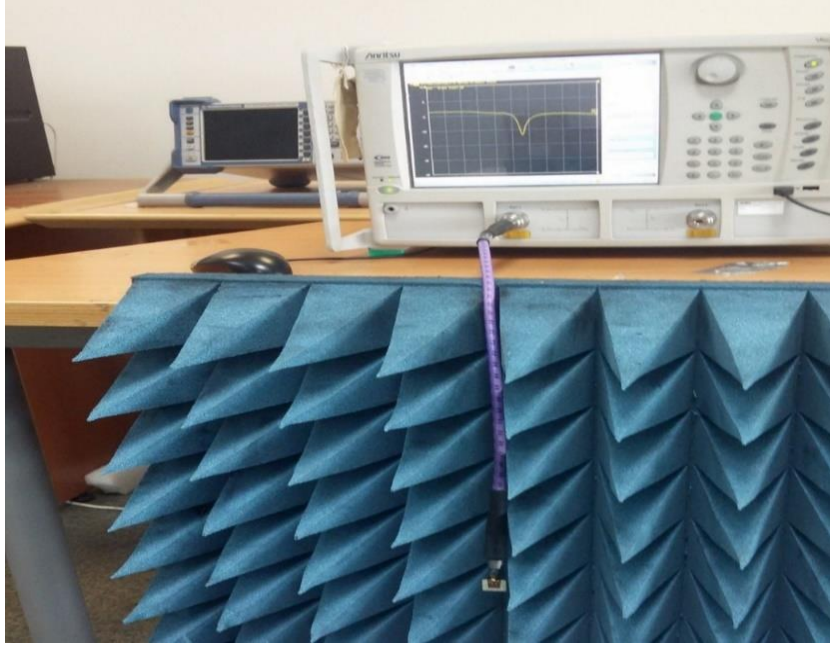
olarak SMA (SubMiniature version A) konektör kullanıldı. SMA konektörler, yarı hassas eş eksenli RF konektrleridir ve vidalı kuplaj mekanizmasına sahip eş-eksenli kablo için minimal bir konektör arabirimi olarak geliştirilmiştir.



Şekil 2. MYA prototipi (Bilal ve ark.,2018)

Laboratuvar ölçümleri ise RF ve Mikrodalga Laboratuvarında iki eş horn anten (A-INFO LB-8180- NF) ve 10 MHz ile 40 GHz arası ölçüm yapabilen Anritsu MS4644A vektör

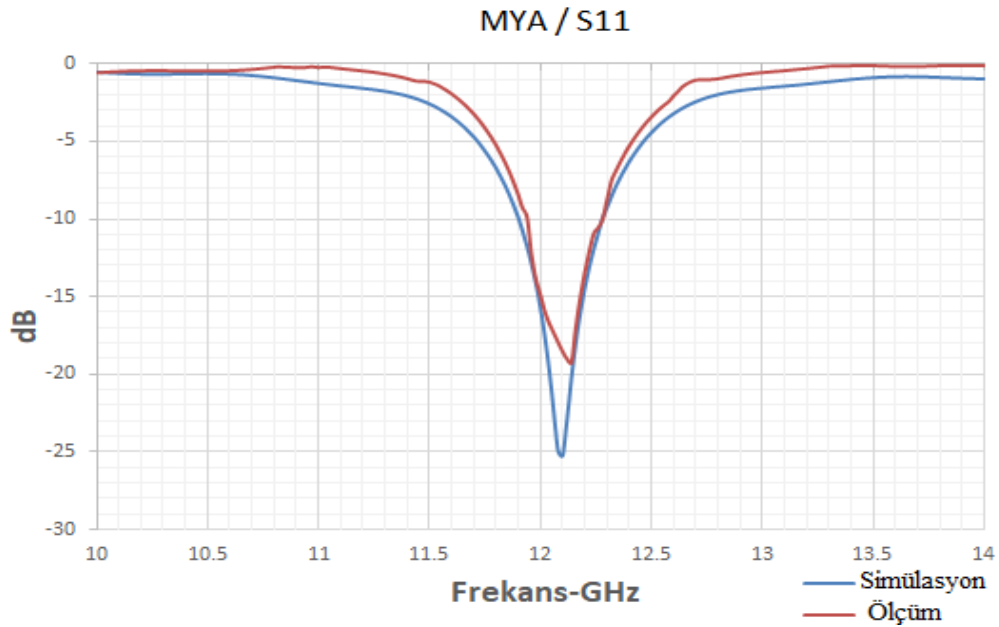
network analizör kullanılarak gerçekleştirildi. S11 için ölçüm düzeneği şekil 3'de görülmektedir.



Şekil 3. MYA için ölçüm düzeneği

S₁₁ geri dönüş kaybı eğrisi Şekil 4'te gösterildiği gibi benzetim ve ölçüm değerleri ayrı ayrı elde edilerek çizdirildi. Ölçüm

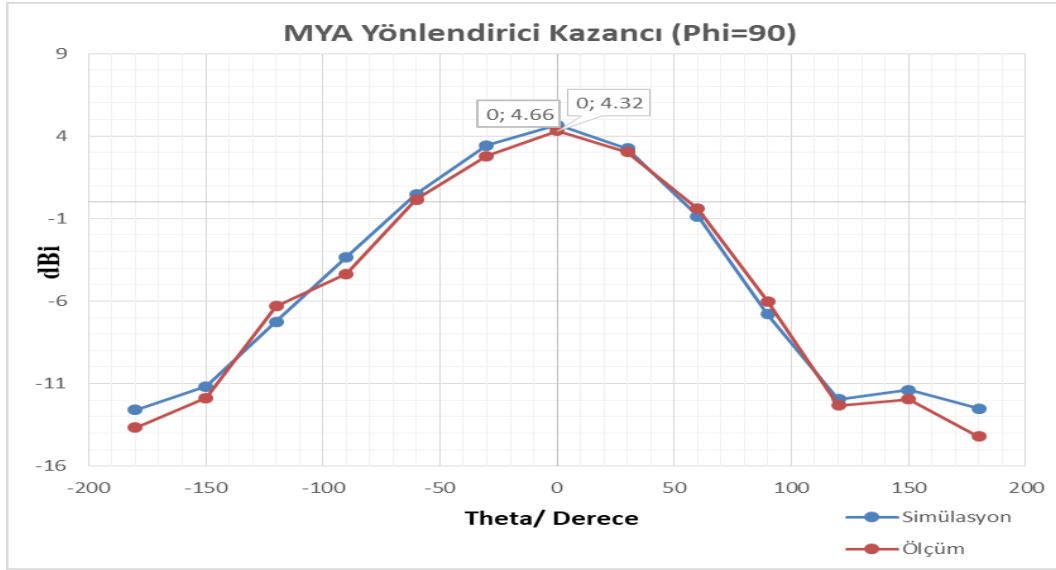
sonuçları benzetim sonuçlarından biraz farklıdır. Bu farkın ortam kaybı ve imalat hatalarına bağlı olduğu tahmin edilmektedir.



Şekil 4. Referans MYA S₁₁ eğrisi

Daha sonra MYA'nın 12 GHz'de uzak alan yönlendirici kazanç örüntüsü benzetim ve ölçüm

olarak ayrı ayrı elde edilip ortak bir grafikte Şekil 5.'te görüldüğü gibi çizdirildi.

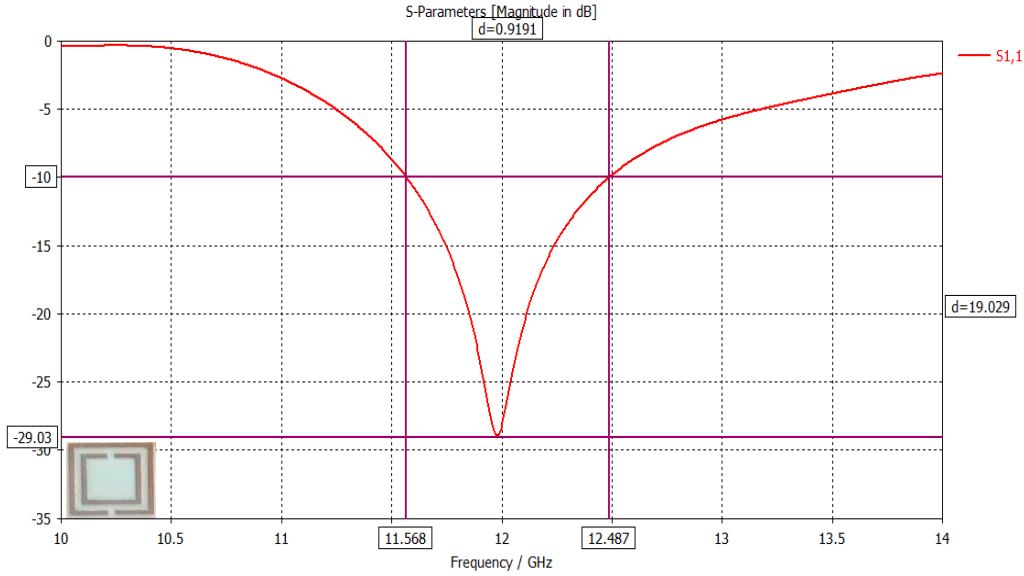
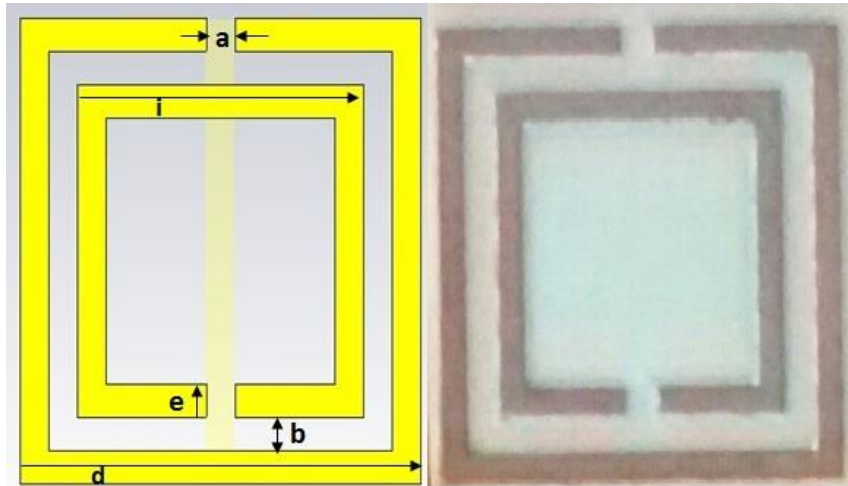


Şekil 5. Referans MYA'nın uzak alan yönlendirici kazanç örüntüsü (12 GHz)

Ku Band Birim Hücre BHR Tasarım ve Optimizasyonu

Bölünmüş Halka Rezonatör (BHR) yapıları güçlü manyetik rezonatörlerdir ve uyarılan elektromanyetik dalganın belirli bant genişliklerinde hem elektriksel hem de manyetik tepki verirler (Seetharaman ve ark., 2017). Bu yapının ön yüzünde, negatif μ elde etmek için birbirine simetrik boşluklar olan iki adet iç içe geçmiş kare halka vardır ve arka tarafta ise negatif ϵ elde etmek için bir bakır şerit bulunur. Bu yapıların manyetik rezonans karakteristikleri çok dar bantta geçerlidir ve ancak uygun polarizasyon ile uyarıldıklarında gelen dalganın manyetik bileşenine cevap vermektedirler. Ayrıca, periyodik olarak düzenlenmiş BHR dizisinin, BHR birim hücre yapısının manyetik rezonans frekansına (ω_m) yakın frekanslar için negatif manyetik geçirgenliği ($-\mu$) sergilediği gösterilmiştir. BHR'lerin manyetik ve elektriksel rezonanslarını inceleyen literatürde çeşitli analitik modeller bulunmaktadır. Tek bir BHR'yi bir L-C devresi sistemi olarak modellemek mümkündür. BHR sisteminin toplam kapasitansı esasen iki temel unsurdan kaynaklıdır; biri, yarıklar ve diğeri konsantrik halkalar arasındaki boşluklar. Endüktans ise iletken halkalar ve iç ve dış halkalar arasındaki boşluktan kaynaklanır

Bu çalışmada lens olarak kullanılacak BHR yapının fabrikasyonundan önce istenilen frekans bandında MM karakteristiğine ölçeklendirilmesi önem arz etmektedir. Çünkü MM'lerin ortam parametreleri frekansa göre değiştiğinden hangi frekans aralığında MM özellik gösterdiğinin tespiti için birçok deneme gereklidir ve bu denemelerin yapının fiziksel baskısı yapılarak gerçekleştirilmesi çok zor ve maliyetli olacağından bunun bir benzetim ve modelleme programı ile önceden yapılması gerekir. Modelleme, ölçeklendirme ve benzetim CST programı ile yapıldı. Benzetimin kurulumu, Z-ekseninde yayılım yapan bir dalga kılavuzu ortamında yerleştirilen materyale benzer şekildedir. Programın sınır koşulları ayarları X-ekseni boyunca mükemmel elektrik iletken (PEC) sınırı ve Y-ekseni boyunca mükemmel manyetik iletken (PMC) sınırı olacak şekilde ayarlandı. Bu sınır şartları nedeniyle malzemeye TEM dalgası uyarılmış oldu. Daha sonra BHR birim hücrenin S_{11} grafiği çizdirildi. Şekil 6'da görüldüğü gibi iletim bandı 11.568 MHz ile 12.487 GHz arasındadır. BHR birim hücrenin şekli ve prototipi ise Şekil 7'de görülmektedir. Burada $a=0.4$ mm, $b=0.3$ mm, $d=5.4$ mm, $e=0.4$ mm ve $i=4$ mm'dir. Yapının sırt tarafındaki iletken şeridin uzunluğu 5.6 mm ve genişliği ise 0.4 mm olarak alındı.

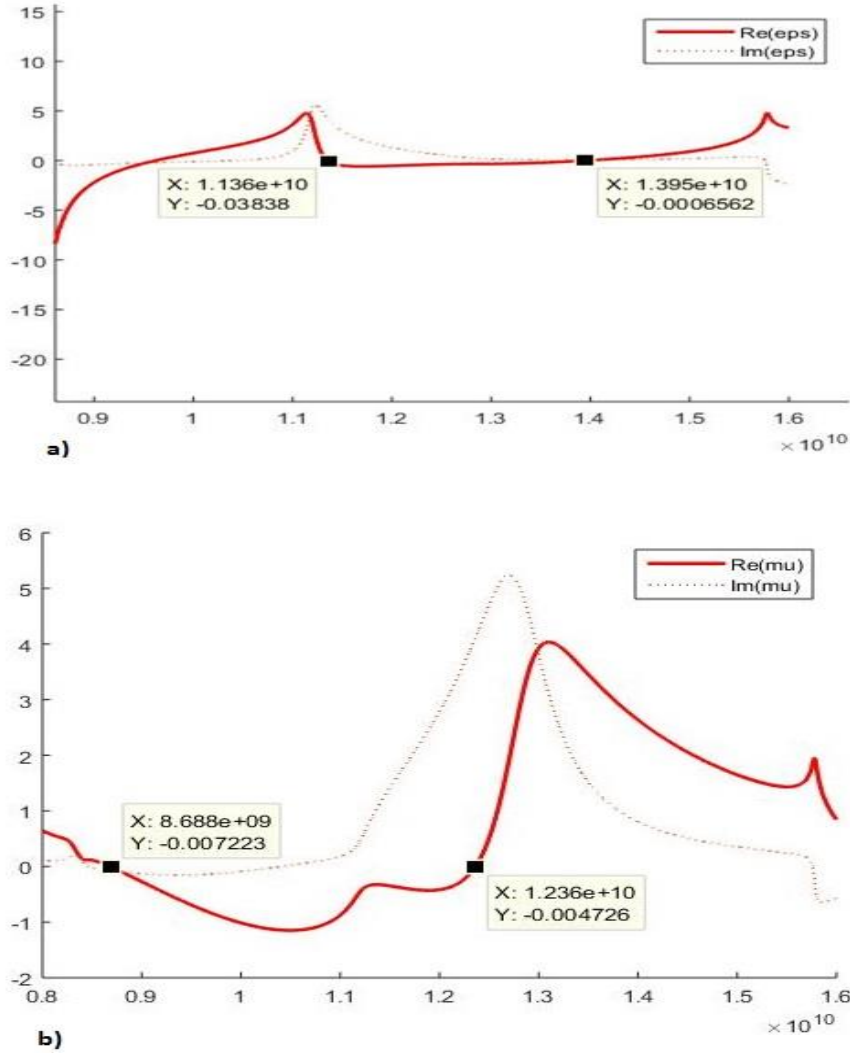
Şekil 6. BHR yapının S_{11} grafiği

Şekil 7. BHR birim hücrenin Şekli ve prototipi (Bilal ve ark., 2018)

Birim Hücrenin Ortam Parametrelerinin Elde Edilmesi

Ortam parametrelerini (ϵ ve μ) hesaplamada bugüne kadar bilinen yöntemler, bir MM birim hücre katmanına uygulanan dalganın “s” saçılma parametrelerinden hesaplanan kırılma indisi “n” ve ortam empedansı “z”i kullanır. Saçılma parametrelerinden ortam parametrelerini (ϵ ve μ) elde etmek için Nicholson-Ross-Weir (NRW) (Shi ve ark., 2016) ve Robust Metodu (Shi ve

ark., 2016) gibi birkaç farklı yöntem vardır. Bu çalışmada daha hızlı olmasa da daha güvenilir olmasından dolayı Robust Metodunu tercih ettik (Ttnc ve Torpi, 2017) ve bu metotta verilen formüller vasıtasıyla sonuçları MATLAB’da izdirdik. Şekil 8’de BHR birim hücrenin ortam parametreleri ayrı ayrı verildi. Görüldüğü gibi 12 GHz’de hem ϵ ve hem de μ negatiftir dolayısıyla bu frekansta MM karakteristiği gösterdiği görülmektedir.

Şekil 8. BHR yapının a) ϵ , b) μ grafiği

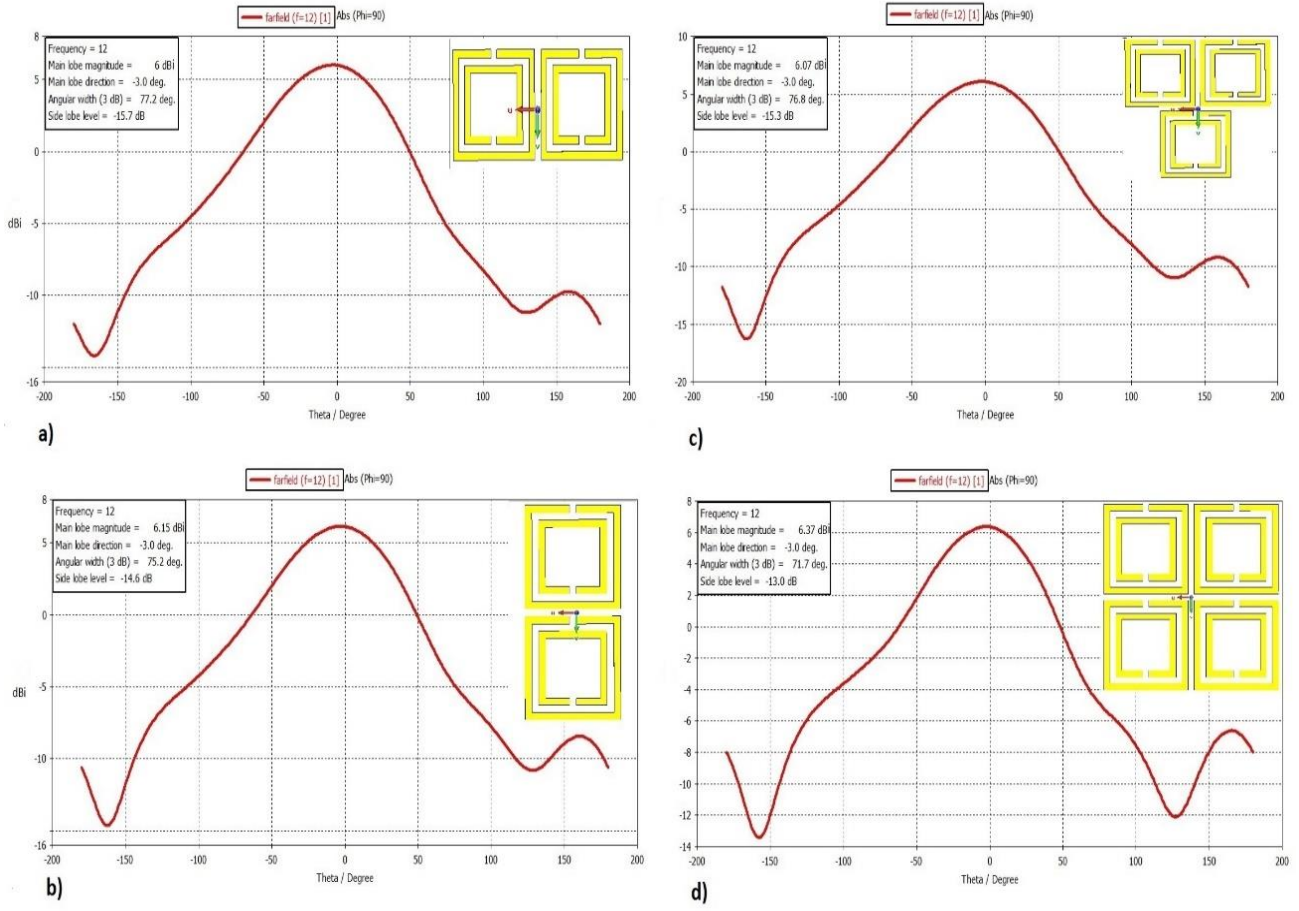
BULGULAR VE TARTIŞMA

BHR Yapının Lens Katmanı Olarak Tasarım ve Kullanımı

BHR' periyodik yapıya dönüştürürken kullanacağımız lens katman boyutunun MYA'nın zemin plaka boyutu ile yama boyutları arasında kalmasına dikkat edildi ve böylelikle birim hücre sayısını belirli sınırlarda tuttuk. Bu koşullarda birim hücre sayısı için ihtimaller 2,3 ve 4'dr. Bununla beraber MM'lerin lens katmanı üzerinde dağılım kombinasyonu da ayrı bir etkindir. Tüm bu olası durumlar BHR yapıda denenip en optimum sonuç elde edildi. Referans MYA ile lens katmanı arası mesafe yarım dalga boyu $\lambda_0/2 = 12.5$ mm alınıp birim hücre sayısı ve dağılımını 4 farklı durum için tek katman

kullanılarak CST'de analiz edildi ve sonuçlar Şekil 9 ve Çizelge 1'de verildi. En uygun sonuç 4 adet birim hücrenin 2x2 şeklinde dağılımıyla elde edildiği görülmektedir. Ayrıca yönlülüğün arttığına bir kanıt yarı huzme bant genişliğinin (YHBG) daralmasıdır. Çizelge 1'de de görüldüğü gibi en dar YHBG 71.7° aı ile yine 2x2 dağılımındadır.

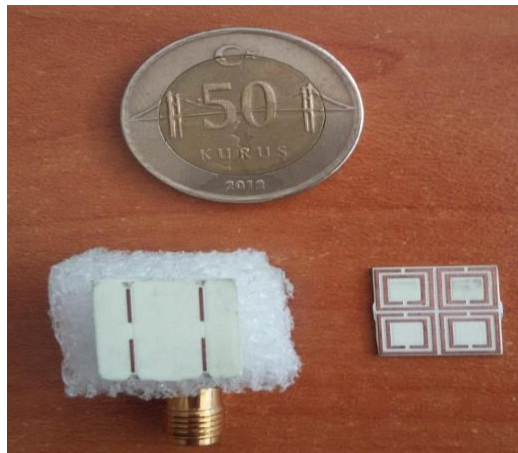
Bu sonuçlardan yola çıkararak tasarladığımız Ku band referans MYA için lens katmanında en uygun birim hücre MM dağılımının 2x2 olduğu görüldü. Dolayısıyla kullanacağımız 5 farklı MM lens katmanlarının üretimi de bu dağılıma göre yapıldı. retimler baskı devre tekniği kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 10) ve baskı devre makinası olarak LPKF ProtoMat S103 kullanıldı.



Şekil 9. BHR birim hücre dağılımına göre MYA ışınma örüntüleri

Çizelge 1. BHR birim hücre dağılımının MYA yönlendirici kazancına etkisi

BHR dağılımı	MYA Yönlendirici kazancı	Ana Lob Açısı	YHBG
1x1 X- düzlemi	6 dBi	-3°	77.2°
1x1 Y- düzlemi	6.15 dBi	-3°	75.2°
2x1	6.07 dBi	-3°	76.8°
2x2	6.37 dBi	-3°	71.7°



Şekil 10. BHR lens katmanının önden ve arkadan görünümü

Lens Katmanının Referans MYA ya Optimum Uzaklığının Tespiti

Kullanılacak BHR lens katmanının referans antene uzaklığı çeyrek dalga boyu $\lambda_0/4=6.25$ mm, yarım dalga boyu $\lambda_0/2=12.5$ mm, tam dalga boyu $\lambda_0=25$ mm ve 1.5 dalga

boyu $1.5*\lambda_0=37.5$ mm olmak üzere dört farklı durum için analiz edildi ve benzetim sonuçları izelge 2’de karşılaştırmalı olarak verildi. Yönlendirici kazancının iyileştirilmesinde en optimum sonucun yarım dalga boyu ($\lambda_0/2=12.5$ mm) mesafede olduğu görülmektedir.

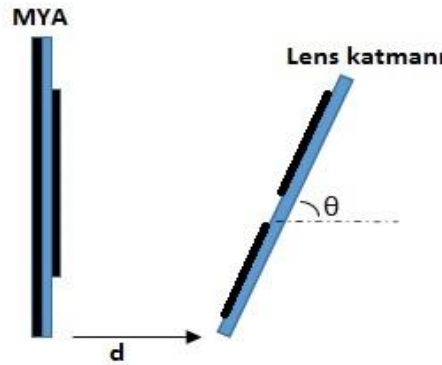
Çizelge 2. BHR Lens katmanının MYA ya uzaklığının etkisi

Uzaklık	MYA Yönlendirici kazancı	Ana Huzme Aı	YHBG
$\lambda_0/4$	5.66 dBi	-6°	70.1°
$\lambda_0/2$	6.37 dBi	-3°	71.7°
λ_0	5.94 dBi	-2°	64.3°
$1.5*\lambda_0$	5.92 dBi	-2°	61.9°

BHR Lens Katmanının Farklı Aılarla Kullanımı

şekil 11’de gözüken ölçüm düzeneğinde $d= \lambda_0/2=12.5$ mm’de sabit tutularak lens katmanının merkez noktasının gelen dalga ile

yatayda yaptığı 4 farklı aı (θ) için 12 GHz’de işıma örüntüleri elde edildi ve izelge 3’de grldğu gibi en optimum değer yine 6.36 dBi ile $\theta=90^\circ$ ’de olduğu görüldü. Ayrıca YHBG için en uygun değer 71.7° ile yine $\theta=90^\circ$ ’dedir.



şekil 11. BHR lens katmanının açıya göre ölçüm düzeneği

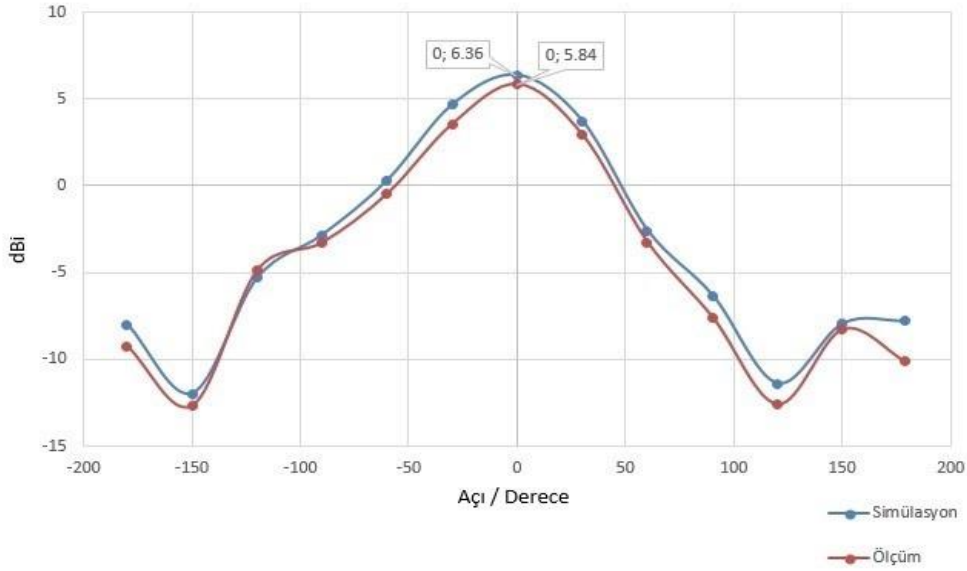
Çizelge 3. MYA+BHR lens katmanının gelen dalga ile yaptığı 4 farklı aı için sonuçlar

d-uzaklık	Yatay düzlemde yaptığı açı- θ	MYA+BHR Yönlendirici kazancı tepe değeri	YHBG
$\lambda_0/2=12.5$ mm	0°	4.96 dBi	87.1°
$\lambda_0/2=12.5$ mm	30°	5.55 dBi	82.8°
$\lambda_0/2=12.5$ mm	60°	5.97 dBi	77.4°
$\lambda_0/2=12.5$ mm	90°	6.36 dBi	71.7°

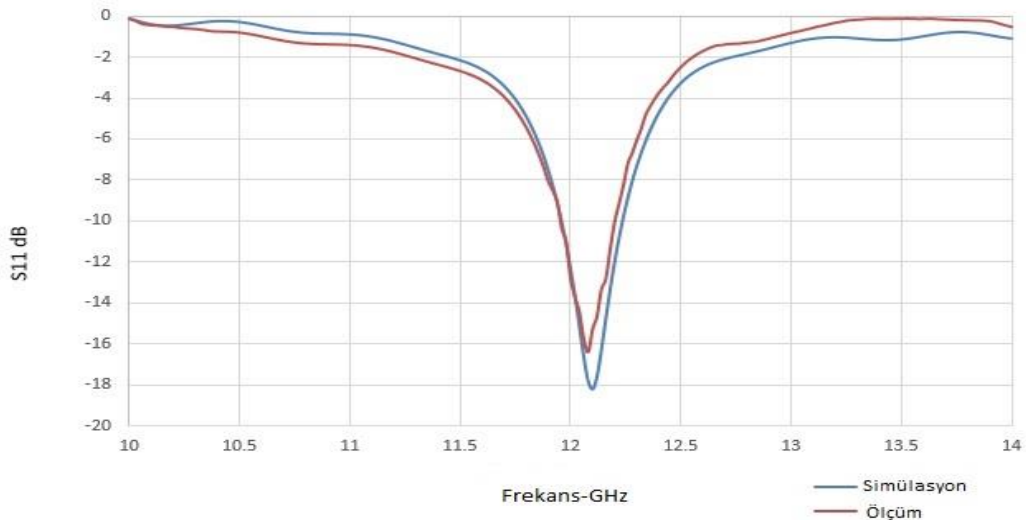
Optimum Değerler İçin BHR Lens Katmanı Benzetim ve limleri

CST programında benzetimler ile elde edilen bu optimum değerler baz alınarak laboratuvar ortamında limler yapıldı. lm için iki eş horn anten (A-INFO LB-8180- NF) ve 10 MHz ile 40 GHz arası ölçüm yapabilen Anritsu MS4644A vektör network analizör kullanıldı. 12 GHz'de yönlendirici kazanç ışıma rnts Şekil 12'de görüldüğü gibi benzetim ve ölçüm sonuçlarına göre çizdirildi ve Şekil 13'de ise S_{11} eğrisi verildi. Çizelge 4'de ise BHR lens

katmanını kullanarak elde edilen sonuçlar ile daha önce lens katmanını kullanmadan MYA ile elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak verildi. Yönlendirici kazancında iyileşme görüldüğü gibi bant genişliğinde ise beklendiği gibi düşme olmuştur. Aynı zamanda YHBG deki daralma yönlendirici kazancındaki iyileşmenin de bir kanıtıdır. lm sonuçları benzetim sonuçlarından azda olsa biraz farklıdır. Bu farkın ortam kaybı ve imalat hatalarına bağlı olduğu tahmin edilmektedir.



Şekil 12. MYA+ BHR lens katmanının $\lambda/2=12.5$ mm ve $\theta=90^\circ$ için 12 GHz'de ışıma rntleri



Şekil 13. MYA+ BHR lens katmanının S_{11} eğrisi

Çizelge 4. MYA nın yönlendirici kazancı, YHBG ve bant genişliğindeki değişimi

	İsim	Yönlendirici Kazancı (dBi)	Bant Genişliği MHz	YHBG
MYA	Benzetim	4.66	340	93 °
	lçm	4.32	320	
MYA+BHR	Benzetim	6.36	260	72 °
	lçm	5.84	240	
Değişim	Benzetim	+1.7 dB	-80	-21
	ölçüm	+1.52 dB	-80	

İki Kat BHR Lens Katmanı Kullanımı

Bu bölümde, referans antene en optimum uzaklık yarım dalga boyu $\lambda_0/2=12.5$ mm ve en uygun birim hücre dağılımı ise 2x2 olarak tespit edilen lens katmanının iki kat olarak kullanmanın etkisini inceledik. İkinci lens katmanı, birinci katmana sırasıyla; $\lambda_0/4=6.25$ mm, $\lambda_0/2=12.5$ mm, $\lambda_0=25$ mm uzaklığa yerleştirilip üç ayrı durum için ölçüm ve benzetim sonuçları elde edildi. Çizelge 5’de

yönlendirici kazançlarının tepe değerleri karşılaştırılmalı olarak verildi ve görüldüğü gibi ikinci katmanın birinci katmana en uygun mesafesi çeyrek dalga boyundadır ($\lambda_0/4=6$ mm). MYA nın yönlendirici kazancı iki veya daha fazla lens tabakası kullanarak daha da artırılabilen görülmektedir, ancak bu durumda anten sisteminin boyutu artacağından bu durum istenmemektedir.

Çizelge 5. İki katman BHR lens kullanım sonuçları

d_1 MYA ile ilk lens katmanı arası uzaklık	d_2 İki lens katmanı arası uzaklık	MYA+2 tane BHR lens	
		Yönlendirici kazancı tepe değeri Benzetim	lçm
$\lambda_0/2=12.5$ mm	$\lambda_0=25$ mm	6.85 dBi	6.32 dBi
$\lambda_0/2=12.5$ mm	$\lambda_0/2=12.5$ mm	6.64 dBi	6.08 dBi
$\lambda_0/2=12.5$ mm	$\lambda_0/4=\sim 6$ mm	7.68 dBi	7.42 dBi

SONUÇ

Bu çalışmanın amacı, metamateryal olgusunu, mikrodalga frekanslarındaki mikroşerit anten uygulamaları ile anlamaktır. Nümerik yöntemler kullanılarak BHR MM’in 12 GHz’de negatif manyetik geçirgenlik ve negatif dielektrik sabitinin doğrulanması gerçekteştirildi. Bu her iki parametrenin aynı frekansta negatif olmasıyla gerçekteşen odaklama olayı aynı rezonans frekansındaki mikroşerit antenin yönlendirici kazancını artırarak doğrulandı. Bunun için ilk olarak bir Ku band MYA tasarlanıp aynı bantta MM karakteristiği gösterecek şekilde bir BHR birim hücre yapısı modellendi. MM yapı CST Studio’da tasarlanıp

parametre tarayıcı kullanılarak Ku band için en ideal birim hücre yapı elde edilmeye çalışıldı ve S_{11} eğrisi çizdirildi. Daha sonra bu BHR birim hücre periyodik yapıya dönüştürüldü ve kullanacağımız lens katman boyutunun MYA nın zemin plaka boyutu ile yama boyutları arasında kalmasına dikkat edildi ve böylelikle birim hücre sayısı belirli sınırlarda tutuldu. Ayrıca referans antene olan uzaklık ve gelen dalganın lens katmanı ile yaptığı açıda bu şekilde BHR yapı için denenip elde edilen sonuçlar tablo halinde verildi. Ölçüm sonuçlarına göre en yüksek kazanç artımı (+3.1 dB) referans antene yarım dalga boyu uzaklıkta iki kat BHR lens katmanı kullanarak gözlemlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Balanis CA, 2011. Modern Antenna Handbook, John Wiley & Sons publication, Newyork-A.B.D.
- Cui TJ, 2010. Metamaterials, Springer, Boston-A.B.D.
- Pendry JB, Holden AJ, Robbins D J, 1996. Extremely low frequency plasmons in metallic mesostructures. Physical Review Letters, 76 (25): 4773-4776.
- Pendry JB, Holden AJ, Robbins DJ, 1999. Magnetism from conductors and enhanced nonlinear phenomena. IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, 47(11): 2075-2084.
- Seetharaman S, King G, Hooper IR, Barnes WL, 2017. Electromagnetic interactions in a pair of coupled split-ring resonators. Physical Review B, 96 (8): 1-8.
- Shelby RA, 2001. Experimental verification of a negative index of refraction. Science, 292 (5514): 77-79.
- Shi Y, Hao T, Li L, Liang CH, 2016. An improved NRW method to extract electromagnetic parameters of metamaterials. Microwave Optical Technology Letters, 58 (3): 647-652.
- Shi Y, Li Z-Y, Li L, Liang C-H, 2016. An electromagnetic parameters extraction method for metamaterials based on phase unwrapping technique. Waves Random Complex Medium, 26 (4): 417-433.
- Smith DR, 2000. Composite medium with simultaneously negative permeability and permittivity. Physical Review Letters, 84 (18): 4184-4187.
- Ttnc B, Torpi H, Urul B, 2018. A comparative study on different types of metamaterials for enhancement of microstrip patch antenna directivity at the Ku-band (12 GHz). Turkish Journal of Electrical Engineering and Computer Sciences, 26 (3): 1171-1179.
- Ttnc B, Torpi H, 2017. Omega-shaped metamaterial lens design for microstrip patch antenna performance optimization at 12 GHz. 10th International Conference on Electrical and Electronics Engineering (ELECO), 1-2 Aralık 2017, Bursa
- Veselago VG, 1968. The electrodynamics of substances with simultaneously negative values of ϵ and μ . Soviet physics uspekhi, 10 (4): 509-514.

Bazı Seçilen Ferrit Seramikler İçin Radyasyon Soğurma Parametrelerinin Hesaplanması

Mehmet Fatih TURHAN¹ Fatma AKDEMİR² Ferdi AKMAN³ Aslı ARAZ⁴ Rıdvan DURAK⁴

ÖZET: Ferrit seramikleri nispeten düşük maliyetli, üretilmesi kolay, mükemmel korozyon ve demanyetizasyon direnci özelliklerinden dolayı en yaygın kullanılan kalıcı mıknatıs malzemeleridir. Ferrit seramikler tıbbi cihazlarda, manyetik terapide, manyetik oyuncaklarda, hoparlörlerde, mikrofonlarda, ses sistemlerinde, kalıcı manyetik aktüatörlerde, watt-saat metrelerde, sensörlerde, cep telefonlarında, elektrik motorlarında, vb. kullanılırlar. Bu çalışmada 1 keV ile 100 GeV enerji aralığında BaFe₁₂O₁₉, SrFe₁₂O₁₉, Y₃Fe₅O₁₂, LiFeO₂ için kütle soğurma katsayıları, moleküler tesir kesitleri, atomik tesir kesitleri, elektronik tesir kesitleri, etkin atom numaraları ve etkin elektron yoğunlukları incelenmiştir. Soğurma parametrelerinin değişimi fotoelektrik etki, Compton saçılması ve çift oluşum süreçleriyle yorumlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ferrit seramik, Kütle soğurma katsayısı, Tesir kesiti, Etkin atom numarası, Etkin elektron yoğunluğu

Calculation of Radiation Absorption Parameters for Some Selected Ferrite Ceramics

ABSTRACT: Ferrite ceramics are the most commonly used permanent magnet materials because comparatively low-cost, easy to produce, excellent corrosion and demagnetization resistance properties. Ferrite ceramics are utilized in the medical devices, magnetic therapy, magnetic toys, speakers, microphones, audio systems, permanent magnetic actuators, watt-hour meters, sensors, cell phones, electric motors, etc. In this study, mass attenuation coefficients, molecular cross sections, atomic cross sections, electronic cross sections, effective atomic numbers and effective electron densities were investigated in the energy range from 1 keV to 100 GeV for BaFe₁₂O₁₉, SrFe₁₂O₁₉, Y₃Fe₅O₁₂, LiFeO₂. The changes in the absorption parameters were interpreted with the photoelectric effect, Compton scattering and pair production processes.

Keywords: Ferrite ceramic, Mass attenuation coefficient, Cross section, Effective atomic number, Effective electron density

¹ Mehmet Fatih TURHAN (Orcid ID: 0000-0002-0676-9481), Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Görüntüleme ve Teknikleri Programı, Afyonkarahisar, Türkiye

² Fatma AKDEMİR (Orcid ID: 0000-0003-1934-6979), Giresun Üniversitesi, Tirebolu Mehmet Bayrak Meslek Yüksekokulu, Elektrik ve Enerji Bölümü, Giresun, Türkiye

³ Ferdi AKMAN (Orcid ID: 0000-0002-8838-1762), Bingöl Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Elektronik Haberleşme Teknolojisi Programı, Bingöl, Türkiye

⁴ Aslı ARAZ (Orcid ID: 0000-0002-2443-8731), Rıdvan Durak (Orcid ID: 0000-0002-3935-176X), Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Erzurum, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mehmet Fatih TURHAN, e-mail: m.f.turhan@hotmail.com

GİRİŞ

Fotonun madde ile etkileşimi temelde inkoherent saçılma, koherent saçılma, fotoelektrik soğurma ve çift oluşumu süreçleriyle meydana gelir. Birim alan başına birim kütlede soğurmanın ölçüsü olan kütle soğurma katsayısı, maddenin atomik ve moleküler enerji seviyelerinin esas özellikleri hakkında geniş bir bilgi edinmemizin yanı sıra sağlıkta, endüstriyel uygulamalarda, nükleer fiziğin temel çalışmalarında ve tarım gibi pek çok alanda oldukça büyük bir öneme sahiptir. Kütle soğurma katsayıları kullanılarak kütle enerji soğurma katsayıları, toplam etkileşim tesir kesitleri, molar yok olma katsayıları, moleküler, atomik, elektronik tesir kesitleri, etkin atom numaraları, elektron yoğunlukları gibi bir dizi ilişkili parametreler hesaplanabilir.

Literatürde soğurma parametreleri ile ilgili deneysel ve teorik çalışmalar mevcuttur. Bu doğrultuda, Hubbell (1982) 1 keV ile 20 MeV enerji aralığında bazı bileşik ve karışımlar için gama ışını kütle soğurma katsayısı verilerini yayınlamıştır. 1987 yılında, herhangi bir element, bileşik veya karışım için tesir kesitlerini ve kütle soğurma katsayılarını belirleyen Dos tabanlı bilgisayar programı olan XCOM geliştirilmiştir (Berger ve Hubbell, 1987). Hubbell ve Seltzer (1995) atom numarası $1 < Z < 92$ arasındaki elementler için X-ışını soğurma katsayılarını ve kütle enerji soğurma katsayılarını literatüre sunmuşlardır. Gerward ve ark. (2001) iyi bilinen ve çok kullanılan XCOM programını Windows versiyonu olan WinXCOM'a dönüştürmüşlerdir. Bazı çelik örnekleri için farklı enerjilerde etkin atom numaraları ve etkin elektron yoğunlukları Akkurt (2009) tarafından belirlenmiştir. Kaçal ve ark. (2017) bazı enzim inhibitörleri için kütle soğurma katsayılarını, moleküler, atomik, elektronik tesir kesitlerini, etkin atom numaralarını ve etkin elektron yoğunluklarını 1 keV ile 100

GeV aralığındaki farklı enerjiler için teorik olarak hesaplamışlardır. Singh ve ark. (1995) bazı inorganik bileşikler için kütle soğurma katsayılarını ve etkin atom numaralarını farklı enerjilerde (10^{-2} MeV - 10^5 MeV) deneysel ve teorik olarak belirlemişlerdir. Kadam ve ark. (2007) $MgFe_2O_4$ ferrit malzeme için lineer soğurma katsayılarını, kütle soğurma katsayılarını, azaltma tesir kesitlerini, elektronik tesir kesitlerini, etkin atom numaralarını $0.36 \leq E \leq 1.28$ MeV enerji aralığındaki 5 farklı enerjide deneysel olarak belirlemiş ve hesapladıkları teorik değerlerle birlikte literatüre sunmuşlardır. Vejdani-Noghreyyan ve ark. (2016) bazı kurşun temelli seramikler için kütle soğurma katsayılarını deneysel ve teorik olarak belirlemişlerdir. $BaAl_2Ti_6O_{16}$, $CaTiO_3$, $CaZrTi_2O_7$, $Pb_{10}(VO_4)_{4.8}(PO_4)_{1.2}I_2$, $ZrSiO_4$ için kütle soğurma katsayıları Singh ve ark. (2018) tarafından belirlenmiştir. Baltaş ve Çevik (2008) $YBa_2Cu_3O_{7-8}$ süper iletkeni için 59.5, 65.2, 77.1, 94.6, 122 ve 136 keV enerjilerde ölçtükleri kütle soğurma katsayılarından yararlanarak etkin atom numaralarını ve etkin elektron yoğunluklarını belirlemişlerdir. Ti, Ni, Co, Cu elementleri SiO_2 , $KAlSi_3O_8$, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$, FeS_2 ve $Mg_2Si_2O_6$ bileşikleri ve $Ti_{0.7-0.3}Ni_{0.3-0.7}$, $Ti_{0.8-0.2}Co_{0.2-0.8}$, $Co_{0.8-0.2}Cu_{0.2-0.8}$ alaşımları için kütle soğurma katsayıları 22.1, 25.0, 59.5 ve 88.0 keV enerjilerde rezülasyonu 5.9 keV'de 160 eV olan bir Si(Li) dedektör kullanılarak deneysel bir şekilde ölçülmüş ve elde edilen soğurma katsayıları kullanılarak etkin atom numaraları ve elektron yoğunlukları hesaplanmıştır (Han ve ark., 2009a, b, c). Pawar ve Bichile (2013), Kore ve Pawar (2014) Glisine ($C_2H_5NO_2$), DL-Alanin ($C_3H_7NO_2$), Prolin ($C_5H_9NO_2$), L-Lösin ($C_6H_{13}NO_2$), L-Arjinin ($C_6H_{14}N_4O_2$), L-Arjinin Monohidroklorür ($C_6H_{15}ClN_4O_2$), DL-aspartik asit LR($C_4H_7NO_4$), L-glutamin ($C_4H_{10}N_2O_3$), kreatin monohidrat LR($C_4H_9N_3O_2H_2O$),

kreatinin hidroklorür ($C_4H_7N_3O.HCl$), L-asparajin monohidrat ($C_4H_9N_3O_2H_2O$), L-metiyonin $LR(C_5H_{11}NO_2S)$ amino asitleri için 122, 356, 511, 662, 1170, 1275 ve 1330 keV enerjilerde $NaI(Tl)$ dedektör kullanılarak kütle soğurma katsayılarını, etkin atom numaralarını ve etkin elektron yoğunluklarını deneysel bir şekilde ölçmüşlerdir. Akman ve ark. (2015) bazı samaryum bileşikleri için K tabakası soğurma kıyısı civarında kütle soğurma katsayılarını, etkin atom numaralarını ve etkin elektron yoğunluklarını $36.847 \leq E \leq 57.142$ keV enerji aralığında farklı elementlerin karakteristik X-ışınlarını kullanarak deneysel olarak tayin etmişlerdir. Singh ve ark. (2015) lantanit oksitler ve Akça ve Erzeneoğlu (2014) biyomedikal öneme sahip elementler için 100 mCi'lik Am-241 kaynaktan yayımlanan 59.54 keV'lik gama fotonlarını kullanarak kütle soğurma katsayılarını, etkin atom numaralarını ve elektron yoğunluklarını deneysel olarak belirlemiş ve teorik olarak hesaplanmış değerlerle birlikte tablolar ve grafikler halinde literatüre sunmuşlardır. Akman ve ark. (2017) Gd, Dy, Er, Yb elementleri ve bu elementlerin bazı bileşikleri için $13.92 \leq E \leq 59.54$ keV enerji aralığındaki bazı enerjilerde $Si(Li)$ dedektör kullanarak kütle soğurma katsayılarını belirlemiş ve elde edilen kütle soğurma katsayılarını kullanarak etkin atom numaralarını ve etkin elektron yoğunluklarını hesaplamışlardır. Manjunatha (2017) polimetil metakrilat ve kapton için kütle soğurma katsayılarını, etkin atom numaralarını ve etkin elektron yoğunluklarını $NaI(Tl)$ dedektör kullanarak $84 \leq E \leq 1330$ keV enerji aralığında olan 11 farklı enerjide ölçmüştür. Ayrıca araştırmacı polimetil metakrilat ve kapton polimerleri için enerji soğurma ve maruz kalma yığılma (build-up) faktörlerini $0.015 \leq E \leq 15$ MeV enerji aralığındaki farklı enerjiler için teorik olarak hesaplamıştır.

Literatürde çeşitli malzemeler için soğurma parametreleri çalışmalarına oldukça sık rastlanmasına rağmen ferrit seramikler için bu çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada $BaFe_{12}O_{19}$, $SrFe_{12}O_{19}$, $Y_3Fe_5O_{12}$, $LiFeO_2$ ferrit seramikler için kütle soğurma katsayıları, moleküler tesir kesitleri, atomik tesir kesitleri, elektronik tesir kesitleri, etkin atom numaraları, etkin elektron yoğunlukları 1 keV ile 100 GeV aralığındaki farklı enerjiler için teorik olarak hesaplanmıştır.

Teorik Hesaplamalar

Çalışmada X veya γ ışını azaltma tekniği esas alınmıştır. Bu teknikte soğuruculu ve soğurucusuz ortamlarda farklı enerjilerde X veya γ ışını sayımı yapılarak kütle soğurma katsayıları belirlenebilir.

Toplam kütle soğurma katsayısı,

$$I = I_0 e^{-(\mu/\rho)\rho x} \quad (1)$$

eşitliği ile bulunur ve burada, μ lineer soğurma katsayısı (cm^{-1}), ρ numunenin yoğunluğu (g/cm^3), x numunenin kalınlığı (cm), I_0 soğurucusuz alınan sayım değeri ve I radyasyonun numune kalınlığı boyunca nüfuz ettiği sayım değeridir. Çalışmada kütle soğurma katsayılarının belirlenmesi için WinXCOM (Gerward ve ark., 2001) programı kullanılmıştır.

W_A, W_B, W_C, \dots ağırlık kesrindeki A, B, C, \dots elementlerinden oluşmuş bir bileşiğin, çözeltinin ya da karışımın kütle soğurma katsayısı aşağıdaki eşitlik ile bulunur.

$$\left(\frac{\mu}{\rho}\right)_{A,B,C} = \sum W_i \left(\frac{\mu}{\rho}\right)_{A,B,C} = W_A \left(\frac{\mu}{\rho}\right)_A + W_B \left(\frac{\mu}{\rho}\right)_B + W_C \left(\frac{\mu}{\rho}\right)_C + \dots \quad (2)$$

Moleküler tesir kesitlerinin hesaplanması için aşağıdaki eşitlik kullanılır.

$$\sigma_{i,m} = \frac{1}{N} (\mu/\rho)_{bil.} \sum (n_i A_i) \quad (3)$$

Burada, N Avogadro sayısı, n_i bileşikteki i. elementin atom sayısı, A_i i. elementin atomik

ağırlığı, $(\mu/\rho)_{bil}$ bileşiğin kütle soğurma katsayısıdır.

Toplam atomik tesir kesiti eşitlik 3 ile ifade edilen moleküler tesir kesitleri kullanılarak aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanır.

$$\sigma_{t,a} = \sigma_{t,m} \frac{1}{\sum_i n_i} \quad (4)$$

Bir element için toplam elektronik tesir kesiti;

$$\sigma_{t,e} = \frac{1}{N} \sum \frac{f_i A_i}{Z_i} \left(\frac{\mu}{\rho} \right)_i \quad (5)$$

ile ifade edilir. Burada, f_i bileşikteki i elementin atom sayısının bütün elementlerin toplam atom sayısına oranı, $(\mu/\rho)_i$ bileşikteki i elementin toplam kütle soğurma katsayısıdır.

Atomik ve elektronik tesir kesiti etkin atom numarasına aşağıdaki eşitle bağlıdır.

$$Z_{et} = \frac{\sigma_{t,a}}{\sigma_{t,e}} \quad (6)$$

Elektron yoğunluğunu ise etkin atom numarasına aşağıdaki eşitlik ile bağlıdır;

$$N_{et} = \frac{Z_{et}}{A_{top.}} (N n_{top.}) \quad (7)$$

burada, $A_{top.}$ bileşik içindeki elementlerin toplam atomik ağırlığıdır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

BaFe₁₂O₁₉ (baryum hekzaferrit), SrFe₁₂O₁₉ (stronsiyum hekzaferrit), Y₃Fe₅O₁₂ (itriyum demir granat), LiFeO₂ (lityum ferrit) ferrit seramikler 1 keV ile 100 GeV aralığındaki farklı enerjilerde toplam kütle soğurma katsayıları, moleküler tesir kesitleri, atomik tesir kesitleri, elektronik tesir kesitleri, etkin atom numaraları ve etkin elektron yoğunlukları teorik olarak hesaplanmıştır. Seramiklerin 1 keV ile 100 GeV aralığındaki farklı enerjilerdeki kütle soğurma katsayılarını belirlemek için WinXCOM (Gerward ve ark., 2001) programı kullanılmıştır. Bazı

radyoizotop kaynaklardan yayımlanan fotonların karakteristik enerjileri için kütle soğurma kaynakları Tablo 1 de verilmiştir. Hesaplanan kütle soğurma katsayıları Eşitlik 3. de kullanılarak moleküler tesir kesitleri belirlenmiştir. Atomik ve elektronik tesir kesitleri Eşitlik 4. ve Eşitlik 5. yardımıyla hesaplanmıştır. Etkin elektron yoğunlukları ise Eşitlik 6. dan elde edilen etkin atom numarası değerlerinin Eşitlik 7. de kullanılmasıyla elde edilmiştir.

BaFe₁₂O₁₉, SrFe₁₂O₁₉, Y₃Fe₅O₁₂, LiFeO₂ ferrit seramikler için kütle soğurma katsayıları, moleküler, atomik ve elektronik tesir kesitlerinin teorik değerleri enerjinin fonksiyonu olarak Şekil 1 de verilmiştir. Şekil 1 den de görüldüğü üzere, BaFe₁₂O₁₉, SrFe₁₂O₁₉, Y₃Fe₅O₁₂, LiFeO₂ ferrit seramikler için kütle soğurma katsayıları, moleküler, atomik, elektronik tesir kesitlerinin teorik değerlerinin enerjiye ve seramiğin kimyasal yapıya bağlılığı açıkça gözlemlenmiştir. Ayrıca artan enerjiye bağlı olarak kütle soğurma katsayılarının, moleküler, atomik ve elektronik tesir kesitlerinin azaldığı ve literatürdeki farklı materyaller için yapılan çalışmalarla benzer özellikler gösterdiği (Singh ve ark. 2018, Akman ve ark. 2018) gözlemlenmiştir.

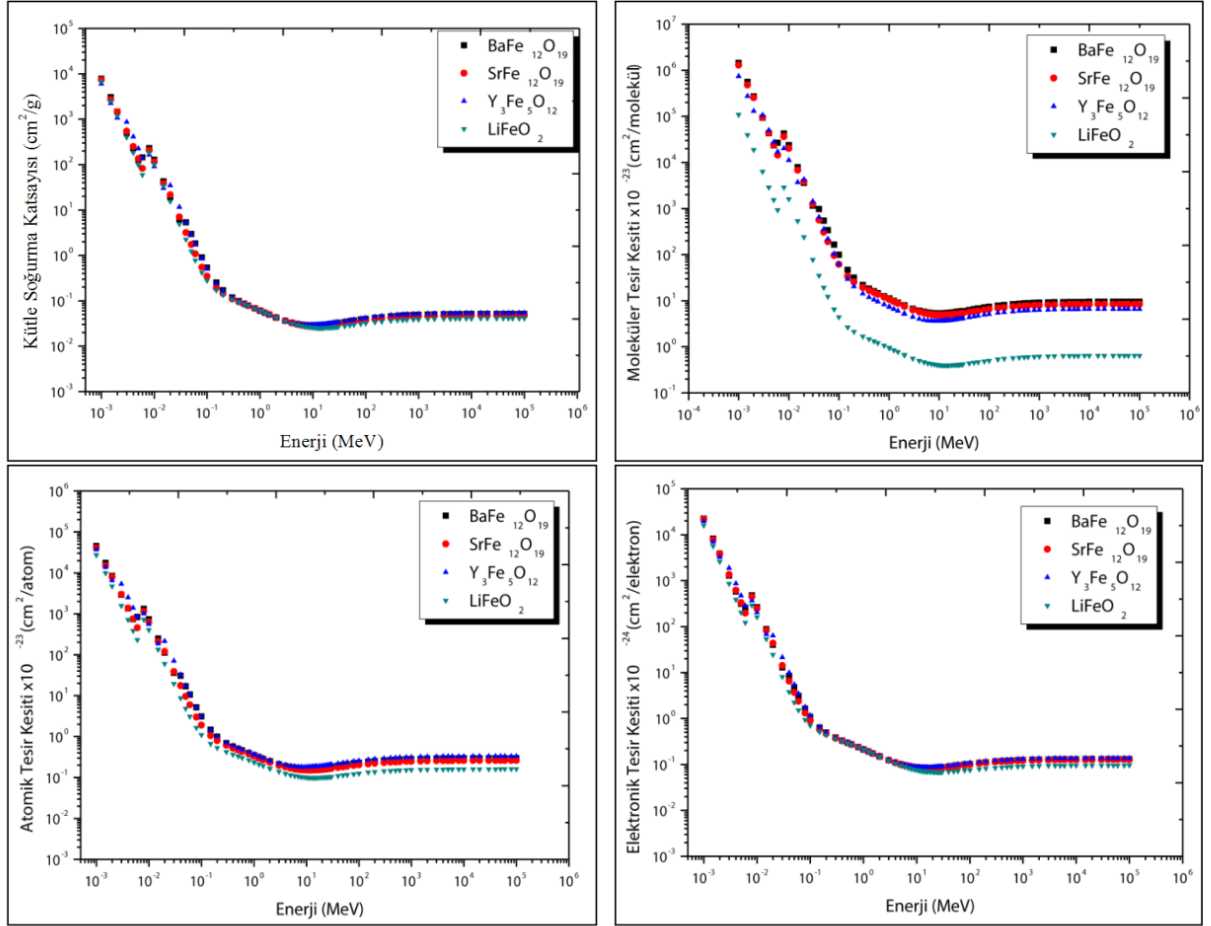
1 keV ile 100 GeV aralığındaki farklı enerjilerdeki BaFe₁₂O₁₉, SrFe₁₂O₁₉, Y₃Fe₅O₁₂, LiFeO₂ ferrit seramiklerin etkin atom numaraları ve etkin elektron yoğunlukları enerjinin fonksiyonu olarak Şekil 2 ve Şekil 3 verilmiştir. Ayrıca Şekil 4 de, etkin elektron yoğunluğu değerleri etkin atom numarasın fonksiyonu olarak çizilmiştir. Farklı materyaller için yapılan benzer çalışmalar (Kaur ve ark. 2017, Kaçal ve ark. 2017, Issa ve ark. 2018) ve Şekil 2-3 den de görüldüğü gibi, etkin atom numaraları etkin elektron yoğunlukları ile benzer eğilimler göstermektedir. Etkin atom numarası ve etkin

elektron yoğunluk değerleri enerjiye bağlı olarak karakteristik özellikler göstermiştir. Ayrıca etkin atom numaraları ve etkin elektron yoğunlukları düşük enerji bölgesinde artan enerjiyle neredeyse eksponansiyel bir şekilde azalma göstermektedir. Bunun nedeni fotoelektrik etkileşimin bu enerji bölgesinde baskın olmasıdır. Genellikle fotoelektrik etkileşim düşük enerji bölgesinde Z^4 , yüksek enerji bölgesinde Z^5 ile değişir. Bu etki $E^{3.5}$ ile ters orantılı olarak değişir. Şekil 2 ve Şekil 3 den görüldüğü gibi, orta enerji bölgesinde etkin atom numaraları ve etkin elektron yoğunlukları Compton saçılmasından dolayı en küçük değerlerini alır. Değerler bu enerji bölgesinde

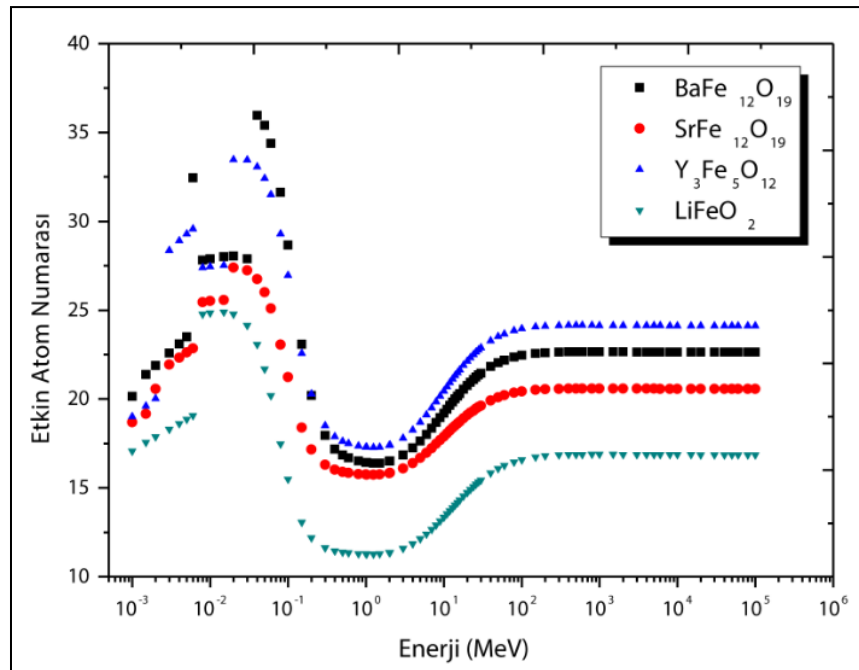
neredeyse sabittir. Bunun nedeni, Compton saçılmasının orta enerji bölgesinde Z ile değişmesidir. Ayrıca saçılma etkisi E ile ters orantılı olarak değişir. Yüksek enerji bölgesinde ise, etkin atom numarası ve etkin elektron yoğunluk değerleri enerjinin bir fonksiyonu olarak tekrar yükselmektedir. Şekil 2 ve Şekil 3 den görüldüğü gibi, yüksek enerji bölgesinde çift oluşum etkileşimi baskındır. Çift oluşum ise Z^2 ile ve E ile doğru orantılıdır (Kadam ve ark. 2007, Issa ve ark. 2018). Şekil 4 den de görüldüğü üzere etkin elektron yoğunluğunun artan etkin elektron numarasıysa lineer bir artışa sahip olduğu söylenebilir.

Tablo 1. Bazı radyoizotop kaynaklar için kütle soğurma katsayıları (cm^2/g)

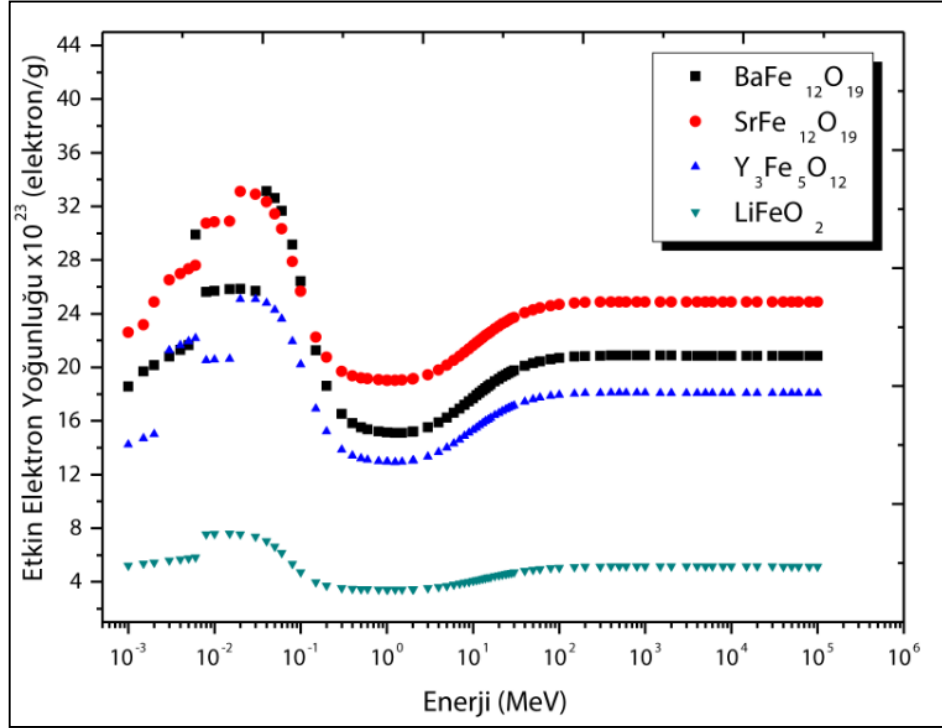
Kaynak	Enerji (keV)	BaFe ₁₂ O ₁₉	SrFe ₁₂ O ₁₉	Y ₃ Fe ₅ O ₁₂ ,	LiFeO ₂
⁵⁷ Co	14.41	47.697	42.717	33.823	38.251
¹³³ Ba	53.16	2.506	1.475	2.441	1.057
²⁴¹ Am	59.54	1.867	1.102	1.804	0.799
¹³³ Ba	79.61	0.905	0.552	0.860	0.421
¹³³ Ba	80.99	0.869	0.532	0.825	0.407
⁵⁷ Co	122.06	0.359	0.250	0.340	0.212
⁵⁷ Co	136.47	0.294	0.214	0.279	0.187
¹³³ Ba	276.39	0.127	0.116	0.123	0.112
¹³³ Ba	302.85	0.118	0.110	0.115	0.107
¹³³ Ba	356.01	0.106	0.101	0.104	0.099
¹³³ Ba	383.85	0.101	0.097	0.099	0.096
¹³⁷ Cs	661.65	0.075	0.074	0.074	0.074



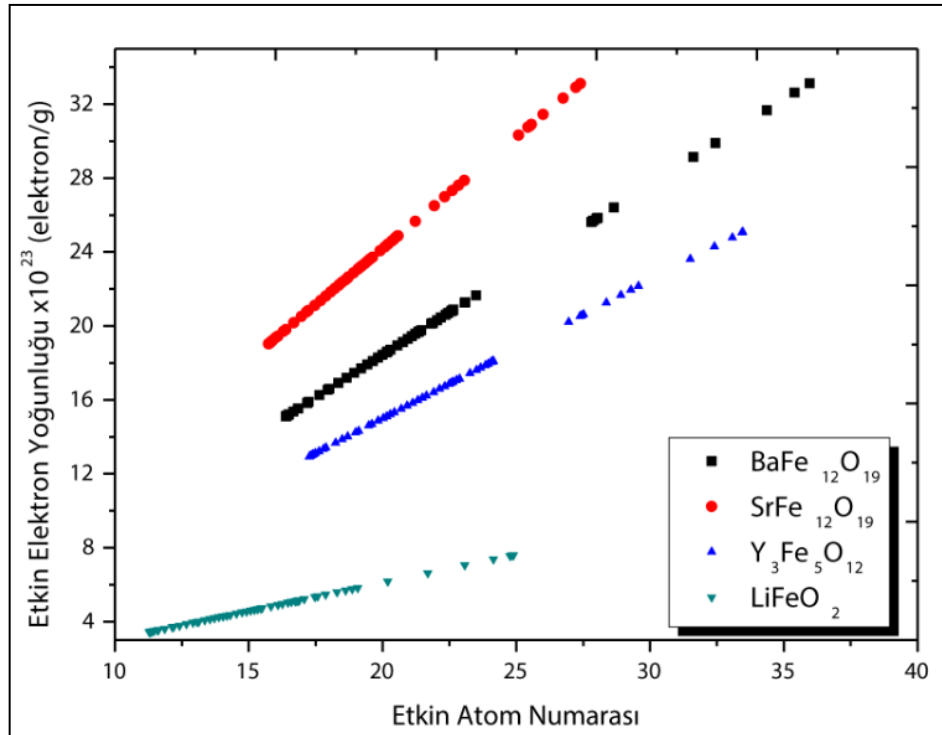
Şekil 1. Kütle Soğurma Katsayıları, Moleküler, Atomik, Elektronik Tesir Kesitlerinin enerjiye göre değişimi



Şekil 2. Etkin atom numarasının enerjiye göre değişimi



Şekil 3. Etkin elektron yoğunluğunun enerjiye göre değişimi



Şekil 4. Etkin elektron yoğunluğunun etkin atom numarasına göre değişimi

SONUÇ

Bu çalışmada $BaFe_{12}O_{19}$, $SrFe_{12}O_{19}$, $Y_3Fe_5O_{12}$, $LiFeO_2$ ferrit seramikler için kütle soğurma katsayıları, moleküler tesir kesitleri, atomik tesir kesitleri, elektronik tesir kesitleri, etkin atom numaraları, etkin elektron yoğunlukları 1 keV ile 100 GeV aralığındaki farklı enerjiler için teorik olarak hesaplanmıştır. Literatürde ferrit seramiklerin foton etkileşim parametreleri ile ilgili oldukça sınırlı sayıda çalışma vardır. Ferrit seramiklerin foton etkileşim parametrelerinin incelenmesi atom ve molekül fiziği, sağlık fiziği, otomotiv endüstrisi, ses sistemleri endüstrisi gibi pek çok alan için yararlı bilgiler içerdiğine inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

- Akça B. and Erzeneoğlu SZ, 2014. The Mass Attenuation Coefficients, Electronic, Atomic, and Molecular Cross Sections, Effective Atomic Numbers, and Electron Densities for Compounds of Some Biomedically Important Elements at 59.5 keV. *Science and Technology of Nuclear Installations*, 901465:1-8.
- Akkurt I, 2009. Effective atomic and electron numbers of some steels at different energies. *Annals of Nuclear Energy*, 36:1702-1705.
- Akman F, Durak R, Turhan MF, Kaçal MR, 2015. Studies on effective atomic numbers, electron densities from mass attenuation coefficients near the K edge in some samarium compounds. *Applied Radiation and Isotopes*, 101:107-113.
- Akman F, Kaçal MR, Akman F, Soylu MS, 2017. Determination of effective atomic numbers and electron densities from mass attenuation coefficients for some selected complexes containing lanthanides. *Canadian Journal of Physics*, 95:1005-1011.
- Akman F, Geçibesler IH, Sayyed, MI, Tijani SA, Tufekci AR, Demirtas I, 2018. Determination of some useful radiation interaction parameters for waste foods. *Nuclear Engineering and Technology*, 50: 944-949.
- Baltaş H, Çevik U, 2008. Determination of the effective atomic numbers and electron densities for YBaCuO superconductor in the range 59.5–136 keV. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 266:1127–1131.
- Berger MJ and Hubbell JH, 1987. XCOM photon cross sections on a personal computer. NBSIR 87-3597. National Bureau of Standards (former name of NIST). Gaithersburg, MD. Available from: <<http://physics.nist.gov/xcom>>.
- Gerward L, Guilbert N, Jensen KB, Levring H, 2001. X-ray absorption in matter, reengineering XCom. *Radiation Physics and Chemistry*, 60:23-24.
- Han I, Demir L, Şahin M, 2009a. Determination of mass attenuation coefficients, effective atomic and electron numbers for some natural minerals. *Radiation Physics and Chemistry*, 78:760–764.
- Han I and Demir L, 2009b. Mass attenuation coefficients, effective atomic and electron numbers of Ti and Ni alloys. *Radiation Measurements*, 44:289–294.
- Han I and Demir L, 2009c. Studies on effective atomic numbers, electron densities from mass attenuation coefficients in Ti_xCo_{1-x} and Co_xCu_{1-x} alloys. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 267:3505–3510.
- Hubbell JH, 1982. Photon mass attenuation and energy absorption coefficients from 1 keV to 20 MeV. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, 33:1269–1290.
- Hubbell JH and Seltzer SM, 1995. Tables of X-ray attenuation coefficients and mass energy-absorption coefficients from 1 keV–20 MeV for elements Z-1 to 92 and 48 additional substances of dosimetry interest. NISTIR 5632.

- Issa SAM, Sayyed MI, Zaid MHM, Matori KA, 2018. Photon parameters for gamma rays sensing properties of some oxide of lanthanides. *Results in Physics*, 9:206-210.
- Kadam RH, Alone ST, Bichile GK, Jadhav KM, 2007. Measurement of atomic number and mass attenuation coefficient in magnesium ferrite. *Pramana - Journal of Physics*, 68(5):869-874.
- Kaçal MR, Karataş HA, Akman F, 2017. Photon Absorption characteristics of some selected Enzyme Inhibitors used in Cancer Research in the Energy range 1 keV-100 GeV. *Journal of Radiology and Oncology*, 1:60-68.
- Kaur P, Singh T, Singh D, 2017. Photon Interaction Parameters for Some ZnO–Al₂O₃–Fe₂O₃–P₂O₅ Glasses. *Glass Physics and Chemistry*, 43(3):227-232.
- Kore PS, Pawar PP, 2014. Measurements of mass attenuation coefficient, effective atomic number and electron density of some amino acids. *Radiation Physics and Chemistry*, 98:86–91.
- Manjunatha HC, 2017. A study of gamma attenuation parameters in poly methyl methacrylate and Kapton. *Radiation Physics and Chemistry*, 137:254–259.
- Pawar PP, Bichile GK, 2013. Studies on mass attenuation coefficient, effective atomic number and electron density of some amino acids in the energy range 0.122–1.330 MeV. *Radiation Physics and Chemistry*, 92:22–27.
- Singh G, Gupta MK, Dhaliwal AS, Kahlon KS, 2015. Measurement of attenuation coefficient, effective atomic number and electron density of oxides of lanthanides by using simplified ATM-method. *Journal of Alloys and Compounds*, 619:356–360.
- Singh K, Kaur R, Vandana, Kumar V, 1995. Study of effective Atomic Numbers and Mass Attenuation Coefficients in Some Compounds. *Radiation Physics and Chemistry*, 47:535-541.
- Singh VP, Badiger NM, Korkut T, 2018. Gamma exposure buildup factors and neutron total cross section of ceramic hosts for high level radioactive wastes. *Progress in Nuclear Energy*, 104:1-7.
- Vejdani-Noghreiyani A, Aliakbari E, Ebrahimi-Khankook A, Ghasemifard M, 2016. Theoretical and experimental determination of mass attenuation coefficients of lead-based ceramics and their comparison with simulation. *Nuclear Technology & Radiation Protection*, 31(2):142-149.

Electronic and Thermodynamic Properties of a Derivative of Dithiophosphonates

Alpaslan BAYRAKDAR¹

ABSTRACT: In this work, thermodynamic properties (Heat capacity, Entropies, Enthalpy, Gibbs free and Thermal energy) and frontier (HOMO, LUMO) molecular orbitals of a derivative dithiophosphonates molecule which is $[^+HN(C_2H_5)_3][CH_3CHOC_6H_3(CF_3)_2](CH_3OC_6H_4)PS_2^-]$ in the ground state were calculated by using the quantum chemical calculation method such as density functional theory (DFT) employing B3LYP and HF levels with the 6-31G(d) basis set. In addition, the frontier molecular orbitals analysis of the molecule were researched using computational methods. Properties about the charge density distribution of the title compound and its chemical reactivity has been investigated with mapping molecular electrostatic potential surface.

Keywords: DFT, dithiophosphonates, HF, homo, lumo

Ditiyofosfatların Bir Türevinin Elektronik ve Termodinamik Özellikleri

ÖZET: Bu çalışmada, ditiyofosfat moleküllerinin bir türevi olan $[^+HN(C_2H_5)_3][CH_3CHOC_6H_3(CF_3)_2](CH_3OC_6H_4)PS_2^-]$ molekülünün taban durumu termodinamik özellikleri (Isı kapasitesi, Entropi, Entalpi Gibbs ve Thermal enerji) ve öncü moleküler orbitalleri kuantum kimyasal hesaplama tekniklerinden olan yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) B3LYP ve Hartree-Fock (HF) metodlarıyla, 6-31G(d) baz seti kullanılarak incelenmiştir. Bunlara ek olarak bileşiğin öncü moleküler orbitalleri analiz edilmiştir. Bileşiğe ait elektrostatik potansiyel yüzey haritası kullanılarak, bileşiğin aktivitesi ve yük yoğunluğu incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: DFT, ditiyofosfat, HF, homo, lumo

¹ Alpaslan BAYRAKDAR (Orcid ID: 0000-0001-7967-2245), Asmalievler mahallesi, Denizli, Türkiye

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Alpaslan BAYRAKDAR, e-mail: alpbay@gmail.com

Geliş tarihi / *Received*: 12.07.2018
Kabul tarihi / *Accepted*: 19.11.2018

INTRODUCTION

Dithiophosphonate and derivative molecules are widely used in agriculture and industry. For example, they are used to combat weeds in agriculture and to prevent oxidation of motor oils in industry. Therefore, in recent years, studies for the synthesis of dithiophosphonate and its different derivatives have increased considerably (Solak, 2011). A series of diethylphosphonate derivatized molecules have been synthesized by investigators in the last thirty years (Aragoni et al., 2000; Aragoni et al., 2001; Thomas et al., 2001; van Zyl et al., 2002; Gray et al., 2003; Maspero et al., 2003; Gray et al., 2004; Alberti et al., 2007; Gataulina et al., 2008; Liu et al., 2010; Karakus, 2011; Karakus et al., 2011; Aydemir et al., 2015; ASIF, 2018; Karakus et al., 2018). In some of our prior works (Karakus et al., 2004; Karakus, 2011; Karakus et al., 2011; Karakus et al., 2014), we have synthesized dithiophosphonates and their derivatives and then examined their properties. A derivative of dithiophosphonates compound which is $[^+HN(C_2H_5)_3][CH_3CHOC_6H_3(CF_3)_2(CH_3OC_6H_4)PS_2^-]$ was synthesized in the presence of the 2,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetane-2,4-disulfide and (R)-1-[3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl]ethanol in toluene reaction. The spectroscopic techniques such as IR, 1H , ^{13}C , ^{31}P NMR and structural examination techniques such as X-ray crystallography were used to characterize the compound in our previous study. The available paper is a progress of our previous studies on dithiophosphonates derivatives (Karakus et al., 2014).

Both experimental and theoretical studies on the constructional features of dithiophosphonates are seldom found in literature. For interpret experimental work, there is a need for theoretical studies on the

electronic and thermodynamic properties of the molecule. Ab initio calculation technique of quantum chemical calculation methods is widely used in studying both physical and chemical properties of molecules (Chermette, 1998; Corminboeuf et al., 2006; Karabacak et al., 2008; Sundaraganesan et al., 2008a; Sundaraganesan et al., 2008b; Bayrakdar et al., 2015; Şener et al., 2017).

In this paper, thermodynamic properties and frontier molecular orbitals of the molecules were theoretically calculated for the title compound. The charge density dispersion and chemical reactivity of said title compound were investigated by means of molecular electrostatic potential surface mapping.

The article is arranged as follows; computational details are given in Part 2. Thermodynamic analysis and electronic simulation results for the compound considered in this paper are given and debated in Part 3. Finally, the evaluation of the obtained data is given in the last section.

MATERIAL AND METHODS

Computational details

In this paper, the atomic coordinates of the structure obtained from the X-ray analysis (Karakus et al., 2014) are used as the initial to determine the ground state structure of the molecule. In order to get complete information regarding to the electronic structure properties such as Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO) and Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO) energy levels and Molecular Electrostatic Potential surface (MEPs) calculations to be studied in this work we have carried out quantum chemical computation in the frameworks of the Density Functional Theory (DFT/B3LYP) and Hatree-Fock (HF) methods by utilizing 6-31G(d) basis set. The Gaussian 09 package program (Foresman; Frish, 1996; Frisch et al., 2009) is used for theoretical

studies. DFT method which contains hybrid functions have been generally preferred because of they are express and highly accurate calculation techniques for theoretical calculations.

Molecular structure has been optimized in

order to achieve most stable conformation of the molecule at the level of ab initio methods both DFT/B3LYP and HF levels, using the basis set of 6-31G(d) with considering C1-symmetry group. The ground state structure scheme of our title molecule is given in Figure 1.

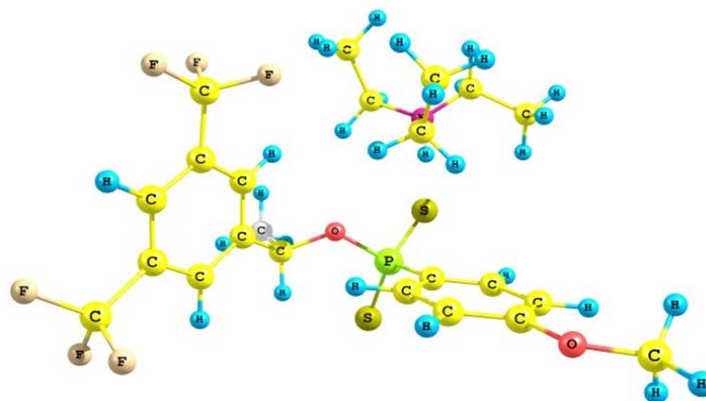


Figure 1. Optimized geometry of the title molecule with B3LYP/6-31G(d) level.

Analysis of the frontier molecular orbitals (HOMO-LUMO) provides us with a powerful way to understand the transfer of charge between levels of molecular energy of the molecule. HOMO and LUMO energy levels are calculated by DFT/B3LYP and HF methods with the basis set of 6-31G(d). Thermodynamic parameters of the molecule are determined by means of vibration frequency analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

The chemical structure of the title compound has been determined by X-ray analysis in our previous work. (Karakus et al., 2014). The molecular structure of the title compound is illustrated in Figure 1. A dithiophosphonate bridged methoxyphenyl and bis(trifluorophenylethyl) groups and a triethylammonium moiety connected by N-H...S and C-H...F hydrogen bonds are included in this compound, where the bond lengths between atoms in the molecules are highly compatible with standard values (Allen et al., 1987), and usually quite compatible with those in the formerly reported molecule. (Solak et al., 2011).

Thermodynamic Analysis

The temperature addition of the thermodynamic parameters such as heat capacity at constant pressure ($C_{p,m}^0$), entropy ($S_{p,m}^0$), enthalpy ($H_{p,m}^0$), Gibbs's free energy (ΔG) and thermal energy (E) for the compound are determined by both DFT/B3LYP/6-31G(d) and HF/6-31G(d) methods. The temperature dependence of them for the compound is listed in Table 1, Figure 2(a), (b), (c), (d) and (e), demonstrate the correlation of heat capacity at constant pressure ($C_{p,m}^0$), entropy ($S_{p,m}^0$), enthalpy ($H_{p,m}^0$), Gibbs's free energy (ΔG) and thermal energy (E), respectively, for the methods of DFT and HF levels. Table 1 reveals that the entropy, heat capacities, and enthalpy changes are increasing with temperature between 100 K and 700 K due to the fact that the intramolecular vibration intensities increases with temperature (Bellamy, 1964). The thermodynamics functions for the title compound as a function of temperatures by utilizing DFT/B3LYP and HF methods with 6-31G(d) levels are given as follows,

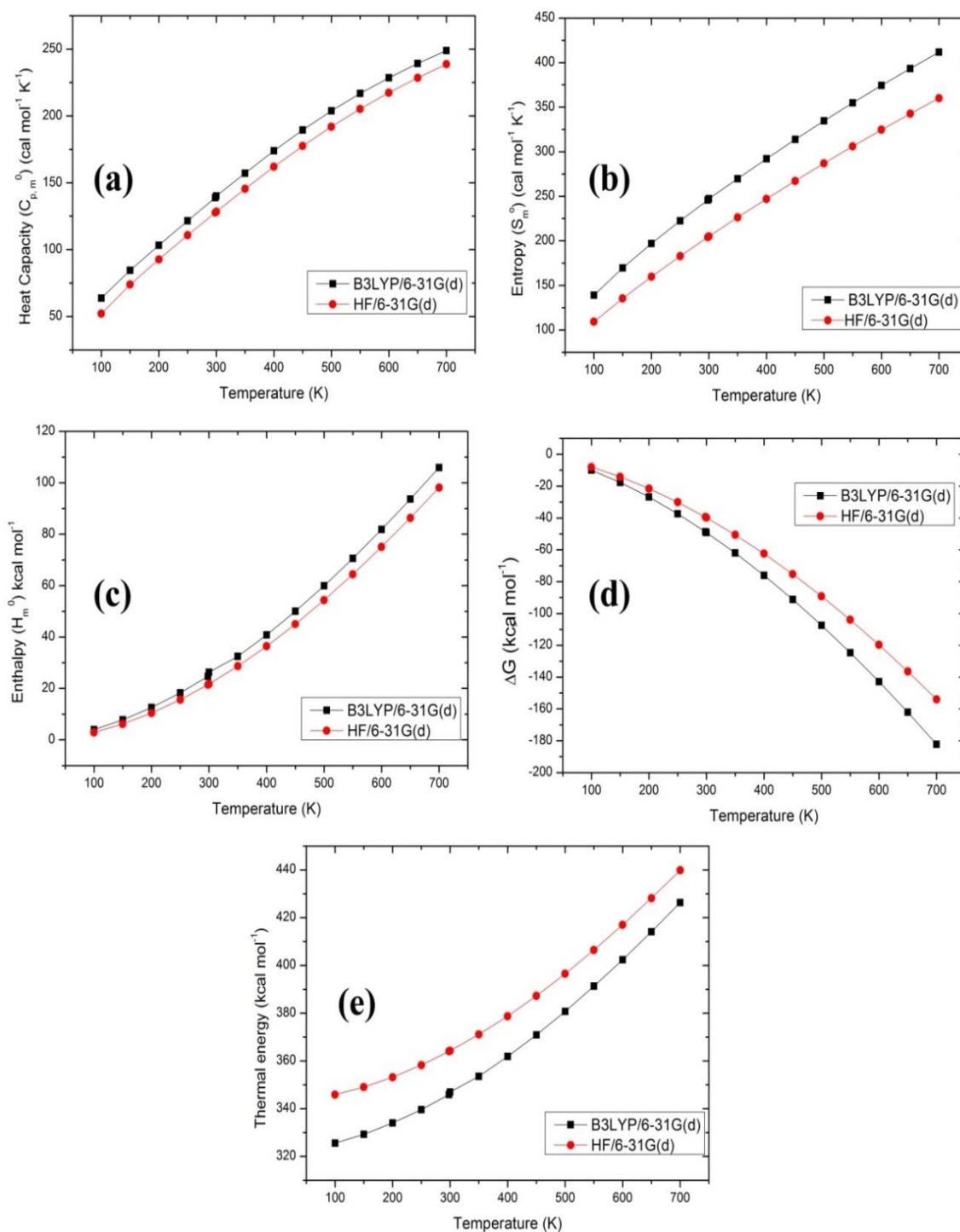


Figure 2. The correlation graphs between various temperature versus (a) Heat capacity, (b) Entropy, (c) Enthalpy, (d) Gibbs free energy and (e) Thermal energy of the title compound for B3LYP/6-31G(d) and HF/6-31G(d) levels.

Table 1. Thermodynamic features at elevated temperatures with using DFT/B3LYP/6-31G(d) and HF/6-31G(d) levels, respectively.

T (K)	C (cal mol ⁻¹ K ⁻¹)		S (cal mol ⁻¹ K ⁻¹)		ΔH (kcal mol ⁻¹)		Gibbs		Total energy	
	B3LYP	HF	B3LYP	HF	B3LYP	HF	B3LYP	HF	B3LYP	HF
100	63.78	52.08	138.94	109.29	3.97	2.91	-9.92	-8.02	325.54	345.84
150	84.48	73.85	169.62	135.35	7.79	6.16	-17.65	-14.14	329.26	348.99
200	103.24	92.68	197.04	159.73	12.59	10.42	-26.83	-21.52	333.96	353.15
250	121.48	110.75	222.54	182.81	18.31	15.61	-37.33	-30.09	339.58	358.24
298.15	138.91	127.72	245.78	204.13	24.67	21.45	-48.61	-39.41	345.85	363.98
300	140.21	128.36	247.25	204.93	26.25	21.69	-49.10	-39.79	346.96	364.22
350	157.21	145.53	269.81	226.32	32.45	28.64	-61.98	-50.57	353.53	371.07
400	173.99	162.01	292.17	247.10	40.84	36.43	-76.03	-62.41	361.81	378.76
450	189.58	177.55	313.81	267.33	50.03	45.02	-91.18	-75.27	370.91	387.26
500	203.86	191.98	334.74	287.00	59.97	54.37	-107.40	-89.13	380.75	396.50
550	216.83	205.27	354.98	306.12	70.60	64.40	-124.65	-103.96	391.27	406.44
600	228.58	217.43	374.53	324.68	81.83	75.07	-142.89	-119.74	402.41	417.01
650	239.22	228.56	393.42	342.69	93.63	86.33	-162.09	-136.42	414.11	428.16
700	248.88	238.73	411.65	360.15	105.94	98.11	-182.22	-154.00	426.32	439.85

$$B3LYP/ \quad C_{p,m}^0 = 6.289 + 0.516T - 2.429 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9998) \quad (1)$$

$$HF/ \quad C_{p,m}^0 = 8.519 + 0.456T - 1.799 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9999) \quad (2)$$

$$B3LYP/ \quad S_m^0 = 83.381 + 0.599T - 1.880 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9997) \quad (3)$$

$$HF/ \quad S_m^0 = 59.415 + 0.525T - 1.377 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9999) \quad (4)$$

$$B3LYP/ \quad H_m^0 = -2.776 + 0.047T + 1.551 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9998) \quad (5)$$

$$HF/ \quad H_m^0 = -2.613 + 0.035T + 1.157 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9998) \quad (6)$$

$$B3LYP/ \quad \Delta G = 3.901 - 0.111T - 2.223 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9998) \quad (7)$$

$$HF/ \quad \Delta G = 2.356 + 0.079T - 2.069 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9999) \quad (8)$$

$$B3LYP/ \quad E = 319.029 + 0.0045T + 1.559 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9998) \quad (9)$$

$$HF/ \quad E = 340.513 + 0.033T + 1.569 \times 10^{-4}T^2 \quad (R^2 = 0.9998) \quad (10)$$

The regressions factors (R^2) of these observed relations of the thermodynamic functions versus temperature are all not less than 0.999. For example, the regression values of the thermal energy for the methods of DFT and HF are found as 0.9998. These above equations are used to estimate the values of the any thermodynamic parameters for any temperature. All the thermodynamics data obtained from theoretic calculation supply beneficial predictions for further work on the molecule. These data can be used to calculate other thermodynamic energy parameters using the second law of thermodynamics (Zhang et al., 2010).

Frontier molecular orbital analysis

The molecular orbital (MO) is a considerable concept in chemistry and molecular orbital theory is widely used to describe chemical behavior. MO is used as a set of tools to explain chemical behavior, such as reactivity, kinetics and global and local chemical reactivity parameters (Nasiri et al., 2018). It also provides to construct the description of other phenomenon involving molecular electronic structure containing charge-transfer processes, photo excitation, magnetism and molecular electronics. The most important frontier molecular orbitals (FMOs) such as Lowest Unoccupied and Highest Occupied Molecular Orbital (LUMO-HOMO) are major role in determining the behavior of compounds at the molecular level (Kosar and Albayrak, 2011). At the same time, the difference between these HOMO and LUMO orbital energies is called energy gap. This energy gap is directly related to the chemical activity

and stability of the molecule (Lewis et al., 1994). The HOMO and LUMO orbitals represent the ability of molecules to donate and acceptor electrons, respectively. (Tasli et al., 2015). The HOMO and LUMO molecular orbital energies are performed with using DFT/B3LYP and HF levels with the basis set of 6-31G(d) for the compound in this study. The dispersions, energy levels and 3D desing of the HOMO and LUMO orbitals for the material of the compound via DFT/B3LYP level is shown in Figure 3(a).

In this section, the global and local chemical reactivity parameters (Nasiri et al., 2018), which play an important role in understanding the reactivity of the molecule, were calculated by using HOMO and LUMO orbital energies. Thus, Frontier molecular orbital energies (eV), Ionisation potential I (eV), electron affinity A (eV), global electronegativity χ (eV), total hardness η (eV), global softness (S) and global electrophilicity ω (eV) of the compound are performed by using both B3LYP/6-31G(d) and HF/6-31G(d) levels, respectively. Also, they are listed in Table 2. As shown in Table 2, the energy differences between the HOMO and LUMO energy levels of the compound considered in this work for the methods of DFT and HF are found as 3.601 eV and 9.981 eV, respectively. A molecule is known as soft if it has a low energy vacancy and is known as hard if it has a wide energy vacancy (Karabacak et al., 2014). The chemical hardness value is 5.087 eV for. This molecule is harder than some similar molecules (Bayrakdar et al., 2015; Muthu et al., 2015).

Table 2. FMOs molecular orbital energies (eV), Ionization potential I (eV), electron affinity A (eV), global electronegativity χ (eV), total hardness η (eV), global softness (S) and global electrophilicity ω (eV) of the title compound are calculated by using both DFT/B3LYP/6-31G(d) and HF/6-31G(d) levels, respectively.

Parameters	B3LYP	HF
E_{LUMO} (eV)	-1.425	2.507
E_{HOMO} (eV)	-5.026	-7.474
$\Delta E_{HOMO-LUMO}$ (eV)	3.601	9.981
I (eV)	5.026	7.474
A (eV)	1.425	-2.700
χ (eV)	-3.226	-2.387
η (eV)	1.801	5.087
S (eV ⁻¹)	0.278	0.098
ω (eV)	9.369	15.388

Analysis of molecular electrostatic potential

Molecular electrostatic potential map (MEP) is one of the powerful methods for determining the relative polarity of compounds (Reed;Weinhold, 1985). MEP diagrams are used to understand the reactivity of compounds, in that Negative sites on the map are considered nucleophilic centers, while positive sites are considered potential electrophilic centres (Chidangil et al., 1998). The molecular electrostatic potential (MEP) at any R point in the space around a molecule (in atomic units)

can be calculated by the following formula;

$$V(r) = \sum_A \frac{Z_A}{|R_A - \vec{r}|} - \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r}' - \vec{r}|} d^3r', \quad (10)$$

in this equation, Z_A is represent charge over the A nucleus localized in region at R_A and $\rho(r')$ is represent the electronic density function of the molecule, also r' is expressed the imaginary integration variable. The potential contributions attributed to the nuclei and the electrons are expressed by the first and second terms, respectively.

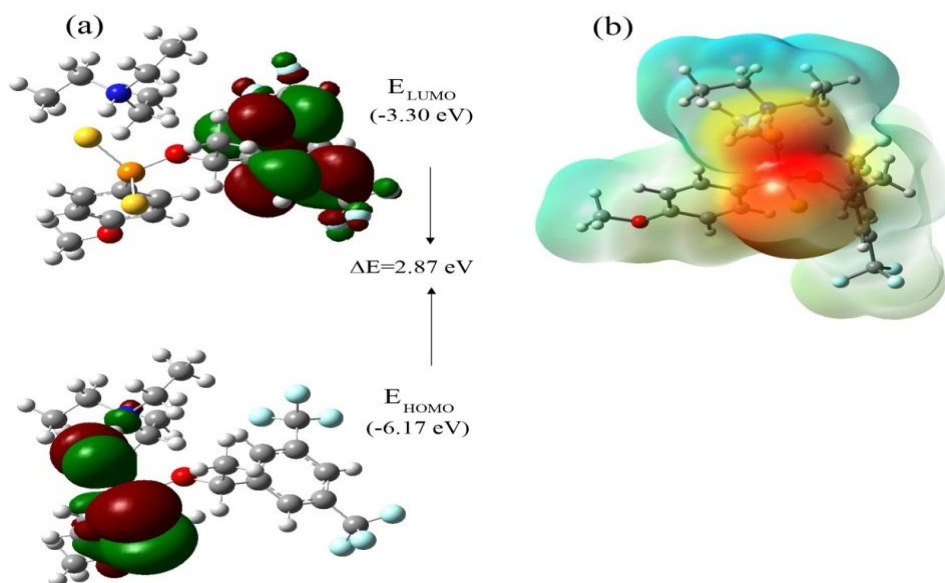


Figure 3. (a) 3D graphics of the frontier orbitals of compound, (b) The molecular electrostatic potential surface of title compound by using DFT/6-31G(d) level.

The map of the MEP surface is much quite for explication of the nucleophilic and electrophilic reactions for the work of hydrogen bonding interactions and biological identification process (Koşar et al., 2010). MEP maps consist of color codes, which these colors expressed by mapping electrostatic potential onto the total electron density. The blue colored regions on the map show positive potential values while the red colored regions show negative potential values. Also, green colored regions define zero potential surfaces. MEP maps for the title compound at the level of DFT/B3LYP/6-31G(d) is shown in Figure 3 (b). The MEP surfaces with red and blue colors indicate the high and lowest electron density, respectively. In addition, the electron density and MEP surfaces are quite successful methods in explaining hydrogen bonding interactions (Miertuš et al., 1981; Okulik; Jubert, 2005).

CONCLUSION

Electronic properties of the compound are presented for the first time by using DFT and HF calculations in this work. Computational chemistry methods are beneficial, fast and cheap tools used for identification structure of the chemical compounds. As a result, the results obtained in this study can be summarized as follows;

- 1- The thermodynamic properties and the values of the HOMO-LUMO orbitals in the ground state of the compound are calculated by using DFT and HF methods which are theoretical calculation techniques.
- 2- Relations between statistical thermodynamics and temperature have been investigated. In Fig. 2(a), (b), (c) and (e), the heat capacity of the molecule, entropy, enthalpy and thermal energy increase with temperature, while in Fig. 2(d), Gibbs energy decreases with increasing temperature.

- 3- Frontier molecular orbital analysis shows that charge transfer takes place within the molecule. The charge density distribution and chemical reactivity of the compound were investigated via the MEP map. The MEP map has shown that the negative potential region is localized on electronegative atoms and positive potential regions are localized on hydrogen atoms.

REFERENCES

- Alberti E, Ardizzioia G, Brenna S, Castelli F, Galli S, Maspero A, 2007. The synthesis of a new dithiophosphonic acid and its coordination properties toward Ni (II): A combined NMR and X-ray diffraction study. *Polyhedron*, 26(5): 958-966.
- Allen FH, Kennard O, Watson DG, Brammer L, Orpen AG, Taylor R, 1987. Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (12): S1-S19.
- Aragoni MC, Arca M, Demartin F, Devillanova FA, Graiff C, Isaia F, Lippolis V, Tiripicchio A, Verani G, 2000. Ring-Opening of Lawesson's Reagent: New Syntheses of Phosphono- and Amidophosphono-Dithioato Complexes—Structural and CP-MAS ³¹P-NMR Characterization of [p-CH₃OPh (X) PS₂] 2M (X= MeO, iPrNH; M= NiII, PdII, and PtII). *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2000(10): 2239-2244.
- Aragoni MC, Arca M, Demartin F, Devillanova FA, Graiff C, Isaia F, Lippolis V, Tiripicchio A, Verani G, 2001. Reactivity of phosphonodithioato Ni II complexes: solution equilibria, solid state studies and theoretical calculations on the adduct formation with some pyridine derivatives. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (18): 2671-2677.
- ASIF M, 2018. REVIEW ON TO FREE RADICALS, ANTIOXIDANTS AND BRIEF OVERVIEW OF OXIMES. *International Journal of Current Research in Applied Chemistry & Chemical Engineering [ISSN: 2581-5385 (online)]*, 2(1).

- Aydemir C, Solak S, Acar Doganlı G, Sensoy T, Arar D, Bozbeyoglu N, Mercan Dogan N, Lönnecke P, Hey-Hawkins E, Sekerci M, 2015. Synthesis, Characterization, and Antibacterial Activity of Dithiophosphonates and Amidodithiophosphonates. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 190(3): 300-309.
- Bayrakdar A, Kart H, Elcin S, Deligoz H, Karabacak M, 2015. Synthesis and DFT calculation of a novel 5, 17-di (2-antracenylozo)-25, 27-di (ethoxycarbonylmethoxy)-26, 28-dihydroxycalix [4] arene. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136: 607-617.
- Bellamy LJ. 1964. The infra-red spectra of complex molecules.
- Chermette H, 1998. Density functional theory: a powerful tool for theoretical studies in coordination chemistry. *Coordination chemistry reviews*, 178: 699-721.
- Chidangil S, Shukla MK, Mishra PC, 1998. A molecular electrostatic potential mapping study of some fluoroquinolone anti-bacterial agents. *Molecular modeling annual*, 4(8): 250-258.
- Corminboeuf C, Tran F, Weber J, 2006. The role of density functional theory in chemistry: Some historical landmarks and applications to zeolites. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 762(1): 1-7.
- Foresman J, Frisch E, 1996. Exploring chemistry. Gaussian Inc., Pittsburg, USA.
- Frisch M, Trucks G, Schlegel H, Scuseria G, Robb M, Cheeseman J, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson G, 2009. Gaussian 09, rev. D. 01. Gaussian Inc., Wallingford CT.
- Gataulina AR, Safin DA, Gimadiev TR, Pinus MV, 2008. Complexes of podand-containing bis (dithiophosphonate) ligands with cobalt (II), nickel (II) and cadmium (II): recognition of CH₂Cl₂. *Transition Metal Chemistry*, 33(7): 921.
- Gray IP, Milton HL, Slawin AM, Woollins JD, 2003. Synthesis and structure of [Fc (RO) PS 2]⁻ complexes. *Dalton Transactions*, (17): 3450-3457.
- Gray IP, Slawin AM, Woollins JD, 2004. Synthesis and structure of [An (RO) PS 2]⁻ complexes. *Dalton Transactions*, (16): 2477-2486.
- Karabacak M, Asiri A, Al-Youbi A, Qusti A, Cinar M, 2014. Identification of structural and spectral features of synthesized cyano-stilbene dye derivatives: A comparative experimental and DFT study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 120: 144-150.
- Karabacak M, Çoruh A, Kurt M, 2008. FT-IR, FT-Raman, NMR spectra, and molecular structure investigation of 2, 3-dibromo-N-methylmaleimide: A combined experimental and theoretical study. *Journal of Molecular Structure*, 892(1): 125-131.
- Karakus M, 2011. Synthesis and Characterization of Chiral Gold (I) Phosphine Complexes with New Dithiophosphorus Ligands. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 186(7): 1523-1530.
- Karakus M, Kara I, Çelik Ö, Orujalipoor I, İde S, Yilmaz H, 2018. Synthesis, characterization, single crystal structure and theoretical studies of trans-Ni (II)-complex with dithiophosphonate ligand. *Journal of Molecular Structure*, 1163: 128-136.
- Karakus M, Lönnecke P, Hey-Hawkins E, 2004. Zwitterionic ferrocenyldithiophosphonates: the molecular structure of [FcP (S) S (OCH₂ CH₂ NH₂ Me)][Fc= Fe (η⁵-C₅H₄)(η⁵-C₅H₅)]. *Polyhedron*, 23(14): 2281-2284.
- Karakus M, Lönnecke P, Hildebrand M, Hey-Hawkins E, 2011. Chiral Heterobimetallic Gold (I) Ferrocenyldithiophosphonate Complexes. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, 637(7-8): 983-987.
- Karakus M, Solak S, Hökelek T, Dal H, Bayrakdar A, Kart SÖ, Karabacak M, Kart H, 2014. Synthesis, crystal structure and ab initio/DFT calculations of a derivative of dithiophosphonates. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 122: 582-590.
- Kosar B, Albayrak C, 2011. Spectroscopic investigations and quantum chemical computational study of (E)-4-methoxy-2-[(p-tolylimino) methyl] phenol. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78(1): 160-167.

- Koşar B, Albayrak Ç, Odabaşoğlu M, Büyükgüngör O, 2010. (E)-3-[(3-(Trifluoromethyl) phenylimino) methyl] benzene-1, 2-diol: X-ray and DFT calculated structures. *Turkish Journal of Chemistry*, 34(3): 481-487.
- Liu S-L, Wang X-Y, Duan T, Leung W-H, Zhang Q-F, 2010. Hydrolysis and coordination behavior of ferrocenyl-phosphonodithiolate: Synthesis and structure of Cu₄ [FeP (OCH₃)₃(μ-S)(μ₃-S)]₄ [Fc= Fe (η⁵-C₅H₅)(η⁵-C₅H₅)]. *Journal of molecular structure*, 964(1): 78-81.
- Maspero A, Kani I, Mohamed AA, Omary MA, Staples RJ, Fackler JP, 2003. Syntheses and structures of dinuclear gold (I) dithiophosphonate complexes and the reaction of the dithiophosphonate complexes with phosphines: Diverse coordination types. *Inorganic chemistry*, 42(17): 5311-5319.
- Miertuš S, Scrocco E, Tomasi J, 1981. Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of AB initio molecular potentials for the prevision of solvent effects. *Chemical Physics*, 55(1): 117-129.
- Muthu S, Porchelvi EE, Karabacak M, Asiri A, Swathi SS, 2015. Synthesis, structure, spectroscopic studies (FT-IR, FT-Raman and UV), normal coordinate, NBO and NLO analysis of salicylaldehyde p-chlorophenylthiosemicarbazone. *Journal of Molecular Structure*, 1081: 400-412.
- Nasiri SK, Reisi-Vanani A, Hamadian M, 2018. *Molecular Structure, Spectroscopic, Local and Global Reactivity Descriptors and NBO Analysis of C32H12: A New Buckybowl and Sub-Fullerene Structure. Polycyclic Aromatic Compounds*: 1-12.
- Okulik N, Jubert AH, 2005. Theoretical analysis of the reactive sites of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Internet Electronic Journal of Molecular Design*, 4(1): 17-30.
- Reed AE, Weinhold F, 1985. Natural localized molecular orbitals. *The Journal of chemical physics*, 83(4): 1736-1740.
- Solak S, 2011. Ditiyofosfor Bileşiklerinin Sentezi, Mono ve Dinükleer Altın(I) ve Gümüş(I) Kompleklerinin Araştırılması, Pamukkale Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi(Basılmış).
- Solak S, Karakuş M, Tercan B, Hökelek T, 2011. Triethylammonium (S)-(-)-O-[1-(2-naphthyl) ethyl](4-methoxyphenyl) dithiophosphonate. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 67(5): o1260-o1261.
- Sundaraganesan N, Anand B, Meganathan C, Joshua BD, 2008a. FT-IR, FT-Raman spectra and ab initio HF, DFT vibrational analysis of p-chlorobenzoic acid. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 69(3): 871-879.
- Sundaraganesan N, Meganathan C, Joshua BD, Mani P, Jayaprakash A, 2008b. Molecular structure and vibrational spectra of 3-chloro-4-fluorobenzonitrile by ab initio HF and density functional method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 71(3): 1134-1139.
- Şener N, Bayrakdar A, Kart HH, Şener İ, 2017. A combined experimental and DFT investigation of disazo dye having pyrazole skeleton. *Journal of Molecular Structure*, 1129: 222-230.
- Taşlı P, Bayrakdar A, Karakuş O, Kart H, Koc Y, 2015. Synthesis and characterization of three novel Schiff base compounds: Experimental and theoretical study. *Optics and Spectroscopy*, 119(3): 467-484.
- Thomas CM, Neels A, Stöckli-Evans H, Süß-Fink G, 2001. Synthesis and structure of [(C₅H₅)Fe(C₅H₄PS₂OCH₂C₆H₄N₃)]⁻, a new phosphonodithioate derivative, and its coordination chemistry with rhodium (I) and nickel (II). *Journal of Organometallic Chemistry*, 633(1): 85-90.
- van Zyl WE, López-de-Luzuriaga JM, Mohamed AA, Staples RJ, Fackler JP, 2002. Dinuclear Gold (I) Dithiophosphonate Complexes: Synthesis, Luminescent Properties, and X-ray Crystal Structures of [Au₂PR (OR')₂]₂ (R= Ph, R' = C₅H₉; R= 4-C₆H₄OMe, R' = (1 S, 5 R, 2 S)-(-)-Menthyl; R= Fc, R' = (CH₂)₂O (CH₂)₂OMe). *Inorganic chemistry*, 41(17): 4579-4589.
- Zhang R, Du B, Sun G, Sun Y, 2010. Experimental and theoretical studies on o-, m- and p-chlorobenzylideneaminoantipyrines. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 75(3): 1115-1124.

Structural-Spectroscopic Properties and Antioxidant Activity Studies of Naringenin in Solvent Media

Mustafa Tuğfan BİLKAN^{1*}, Çiğdem BİLKAN¹

ABSTRACT: In this study, solvent effects on the structural and spectroscopic properties of the naringenin have been investigated. Geometric parameters were calculated and were compared with the experimental X-ray crystallographic data. In addition, optimized structures were obtained in solvent media and the solvents effects on geometric parameters were determined. Vibrational modes obtained in the vacuum and in solvent environments were compared with the experimental IR spectrum. Furthermore, the HOMO-LUMO energies and chemical reactivity were also determined. Antioxidant activity of naringenin has been investigated with hydrogen atom abstraction from –OH groups. The bond dissociation enthalpies have been calculated and it is determined that this process should be the main mechanism for the antioxidant activity of naringenin. According to the calculation results, surprisingly, it has been found that in DMSO, BDE values of naringenin are significantly reduced and thus antioxidant activity is increased compared to other media.

Keywords: Naringenin, Solvent effects, DFT, Chemical reactivity

Naringenin'in Çözücü Ortamlardaki Yapısal-Spektroskopik Özellikleri ve Antioksidan Aktivite Çalışmaları

ÖZET: Bu çalışmada, naringenin yapısal ve spektroskopik özellikleri üzerine çözücü etkileri araştırılmıştır. Naringenin'in geometrik parametreleri hesaplanmış ve deneysel X-ışını kristalografik verisi ile karşılaştırılmıştır. Ek olarak, çözücü ortamında optimize edilmiş yapılar elde edilerek, çözücülerin geometrik parametreler üzerindeki etkileri belirlendi. Vakumda ve çözücü ortamlarda elde edilen titreşim modları deneysel IR spektrumu ile karşılaştırıldı. Ayrıca, HOMO-LUMO enerjileri ve kimyasal reaktivite de belirlendi. Naringenin antioksidan aktivitesi, -OH gruplarından hidrojen atomu soyutlaması ile araştırıldı. Bağ ayrışma entalpileri hesaplandı ve bu sürecin naringenin antioksidan aktivitesinin ana mekanizması olması gerektiği belirlendi. Hesaplama sonuçlarına göre şaşırtıcı bir şekilde, DMSO'da naringenin BDE değerlerinin önemli ölçüde azaldığı ve dolayısıyla antioksidan aktivitenin diğer ortamlara göre arttığı belirlendi.

Anahtar Klimeler: Naringenin, Çözücü Etkileri, YFT, Kimyasal reaktivite

¹Mustafa Tuğfan BİLKAN (Orcid ID: 0000-0002-0306-1509), Çiğdem BİLKAN (Orcid ID: 0000-0002-3347-673X), Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, 18100, Çankırı, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mustafa Tuğfan Bilkan, e-mail: mtbilkan@gmail.com

INTRODUCTION

Naringenin (C₁₅H₁₀O₅, NRG) is one of the most important bioflavonoids. It is found especially in citrus plants and its molar weight is 272.256 g/mol. NRG is also found in the structure of propolis. It is well known that NRG possesses a broad array of biological activities. It shows anticancer, antioxidant, anti-inflammatory, antiviral, antibacterial and antifungal properties at significant levels (Bao et al., 2016; Frabasile et al., 2017; Gonzales et al., 2016; Cavia-Saiz et al., 2010). In addition, due to developer effects on human memory, it is being investigated as a potential treatment for Alzheimer's disease (Ghofrani et al., 2015). Studies on the pharmacological and biological properties of the molecule have gained a significant impetus in the 1990s and are still effective today (Fuhr et al., 1993; PC et al., 2001; Alam et al., 2014).

Many bioflavonoids taken orally in the body, such as NRG, are generally low in absorption after digestion. Materials with such important biological effects are usually extracted from plants using a variety of solvents, and after some purification processes, they are presented for commercial uses. The solvents used for this extraction process are mostly water (H₂O), ethanol (EtOH), dimethylsulfoxide (DMSO), chloroform (CHCl₃), dichloromethane (DCM) etc. that are harmless or slightly harmful to the human body.

The investigation of solvent effects on structural parameters of drugs or pharmacologically active molecules is quite important because solvents can directly affect all physical and chemical properties of any molecule (Bilkan et al., 2017). However, it may be quite difficult to study the solvent effects on molecular structures in terms of computational costs and the complexity of calculations. There are many models for study of solvent effects on molecular structures. One of these methods, which has proven its authenticity and has high

reliability, is also Polarizable Continuum Model (PCM). When examining solvent interactions, PCM treats solvents as a continuous polarized environment rather than as individual molecules (Tomasi et al. 2005). In this type of study, the computation costs are relatively low.

In the literature, studies related to NRG generally focus on their pharmacological and biological properties, while little has been done on their interaction with solvents (Zhang et al., 2013; Zhang et al., 2015). As far as we know, there are no studies of solvent effects on NRG. Due to its scientific importance, in this work, some theoretical calculations on the structural and vibrational parameters of the NRG molecule in widely used solvent environments have been made. Density Functional Theory was used in quantum chemical calculations. Theoretically, obtained data are compared with the experimental results from the literature. In addition, frontier orbitals, chemical reactivity and molecular electrostatic potential map have also been determined. The results obtained were discussed and the effects of solvent environments on NRG molecule were elucidated in detail.

MATERIAL AND METHODS

All calculations performed in vacuum and solvent media were made DFT/6-311++G(d,p) method on a high-capacity computer by using Gaussian03 program with the help of Gaussview visualization program (Frisch et al., 2004; Dennington et al., 2008). The calculated frequencies were scaled by 0.97 to correct the difference between the calculated and experimental vibrational frequencies. The fundamental vibrational modes were characterized by their PED (potential energy distribution) obtained by using the VEDA4 program (Jamróz, 2004).

RESULTS AND DISCUSSION

Molecular structure optimization and geometric parameters

Optimizations of the geometric structures of the NRG in vacuum and solvent environments

were performed with the calculation level B3LYP/6-311++G(d,p) and the optimized structure was given in Figure 1.

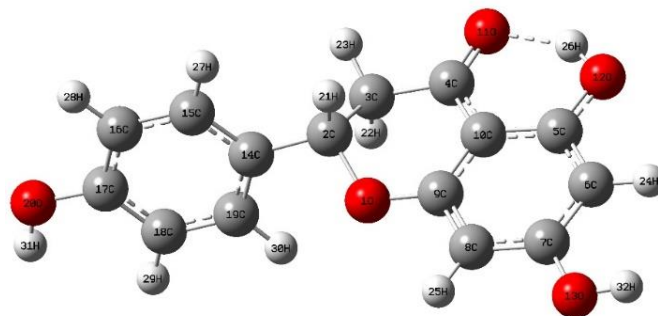


Figure 1. Optimized molecular structure of NRG

Additionally, the calculated and experimental (Shin et al., 1986) molecular parameters of the structure were given in Table 1.

As shown from Table 1, the bond distance between the 11O-26H atoms is approximately 1.70-1.80 Å. This distance is lower than the sum of the van der Waals radii of hydrogen and oxygen atoms (Pauling, 1960). This shows that there are intramolecular hydrogen bonds between the 11O-26H atoms. According to Table 1, the length of this hydrogen bond does not change regularly in solvent environments. It decreases as it passes from vacuum to chloroform and increases from chloroform to ethanol. However, the changes are less than just 0.01 for all environments. In fact, although the atomic charges of the 11O and 26H atoms undergo significant changes from the solvent environments, the hydrogen bond length exhibits small increases or decreases as the cavity boundaries of the solvents create a dielectric environment between these two atoms. As a result, the effect of changing solvent polarity on the intramolecular hydrogen bond of NRG is very limited. When the table is examined, it is

also clear that all calculated geometric parameters are in good agreement with the experimental parameters. For all bond lengths, outside the C-H and O-H bond lengths, the deviations between the calculated and the experimental values are less than 0.1 Å. Single-crystal X-ray experiments have proven to be an experimental error in the measurement of C-H, N-H and O-H bonds due to X-ray scattering factors (Lee et al., 1996).

The 4C=11O bond is double bonded and there is a 0.018 Å deviation between the calculated value and the X-ray data. Although such this deviation is insignificant, it is bigger than other deviations between calculated and experimental geometric parameters. The reason for this is the intermolecular hydrogen bonds between 11O and hydrogen atoms in the crystal structure. Due to these bonds, the measured C=O value is larger than the calculated. In Table 2, the calculated values of the dihedral angles of 14C-2C-3C-4C and 15C-14C-2C-1O are -175.35 and 132.62, respectively. This shows that NRG is non-planar in vacuum and solvent media.

Table 1. Optimized bond lengths and bond angles of NRG in different media (selected).

Lengths (Å)	Vacuum	CHCl ₃	EtOH	DMSO	H ₂ O	Exp.*
1O-2C	1.452	1.461	1.461	1.465	1.465	1.455
1O-9C	1.359	1.357	1.357	1.357	1.356	1.370
2C-3C	1.530	1.528	1.528	1.527	1.527	1.509
2C-14C	1.507	1.506	1.507	1.506	1.506	1.510
2C-21H	1.097	1.098	1.099	1.099	1.099	1.116
3C-4C	1.515	1.512	1.511	1.511	1.511	1.503
3C-22H	1.097	1.098	1.098	1.098	1.098	0.949
4C-10C	1.446	1.444	1.442	1.442	1.442	1.434
4C=11O	1.238	1.243	1.245	1.245	1.245	1.256
5C-6C	1.390	1.387	1.386	1.386	1.386	1.380
5C-10C	1.427	1.427	1.427	1.427	1.427	1.420
5C-12O	1.338	1.344	1.347	1.347	1.347	1.353
6C-7C	1.393	1.398	1.399	1.400	1.400	1.385
6C-24H	1.081	1.084	1.086	1.086	1.086	0.971
7C-13O	1.359	1.354	1.352	1.352	1.352	1.365
11O-26H	1.719	1.715	1.717	1.713	1.719	1.880
12O-26H	0.988	0.989	0.989	0.989	0.989	0.863
13O-27H	0.964	0.976	0.983	0.984	0.986	0.825
15C-28H	1.085	1.087	1.088	1.088	1.088	1.104
17C-20O	1.367	1.366	1.365	1.364	1.365	1.379
18C-19C	1.391	1.391	1.392	1.392	1.391	1.393
19C-31H	1.084	1.086	1.087	1.088	1.088	0.884
Angles (°)	Vacuum	CHCl ₃	EtOH	DMSO	H ₂ O	Exp.*
14C-2C-3C-4C	-175.35	-175.29	-174.79	-174.67	-174.92	-172.94
15C-14C-2C-1O	132.62	120.45	126.14	127.37	116.82	120.51

*Data were taken from (Shin et al., 1986)

Due to the changing environment, it can be seen that some bond lengths undergo serious changes while others have little affected. For example, in the passing from vacuum to water, while 5C-12O bond length has a change of 0.009 Å, a change of 0.004 Å in the 5C-6C bond has occurred. This is because the arrangement of atoms in the plane of the ring is more stable than the atoms outside the plane of the ring, and as a result, they are minimally affected by changing physical conditions such as temperature, pressure and solvent environment.

Vibrational frequencies and assignments

The NRG has 32 atoms and 90 fundamental vibrational modes. The calculated and experimental (Unsalan et al., 2008) IR spectra of NRG were given in Figure 2. Additionally, some significant vibrational modes of NRG were given in Table 2 with detailed assignments.

It is seen that the modes calculated and experimental in Table 2 perfectly match each other. There is some little mismatches in the range of 3000-3500 cm⁻¹ where the C-H and O-H vibrations are observed. The reason of this is that while the theoretical calculations are conducted for a single molecule in vacuum, the experimental spectrum is recorded in the solid phase and there are many intra and intermolecular interactions. Especially, intermolecular hydrogen bonds cause the C-H, N-H and O-H modes to shift to lower frequencies. As can be seen from Table 2, the modes calculated at 3718-3712 and 3232 cm⁻¹ correspond to O-H stretching modes, which were observed at 3410 (broad) and 3129 cm⁻¹ in the experimental spectrum. The mode calculated at 3718 cm⁻¹ corresponds to the vibrations between atoms 28O-32H. The mode calculated at 3712 cm⁻¹ is the vibrations between 13O-27H atoms

and finally the mode calculated at 3232 cm^{-1} refers to vibrations between the 12O-26H atoms. The first two modes are very close to each other, while the third mode is far away because of the hydrogen bonding between 26H-11O atoms. This bonding has shifted this vibration to 3232 cm^{-1} . The stretching mode between the 11O=4C atoms was calculated at 1628 cm^{-1} in vacuum and observed at 1658 cm^{-1} . At the same time, it is the most intense vibrational mode in the experimental spectrum. The C-C vibrational modes have calculated together with various bending modes in the range of $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ in accordance with the literature. When Table 2 is examined, free O-H stretching vibrations calculated at 3718 and 3712 cm^{-1} shifted to 3283

and 3257 cm^{-1} in water environment. The hydrogen bonded O-H vibrational mode calculated at 3232 cm^{-1} has shifted to 3201 cm^{-1} . This shows that the bonded O-H stretching vibrations are less affected by the changing physical conditions compared to the free ones. Unlike O-H vibrations, C-H vibrations have shifted in the range of only $20\text{-}75\text{ cm}^{-1}$ in solvent environments. The stretching vibration between 11O-4C atoms calculated at 1628 cm^{-1} showed 28 cm^{-1} shift. However, this vibration has calculated as the most severe band in solvent environments as in the gas phase. As can be seen, all the vibrational modes calculated with DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) are in agreement with the experimental data.

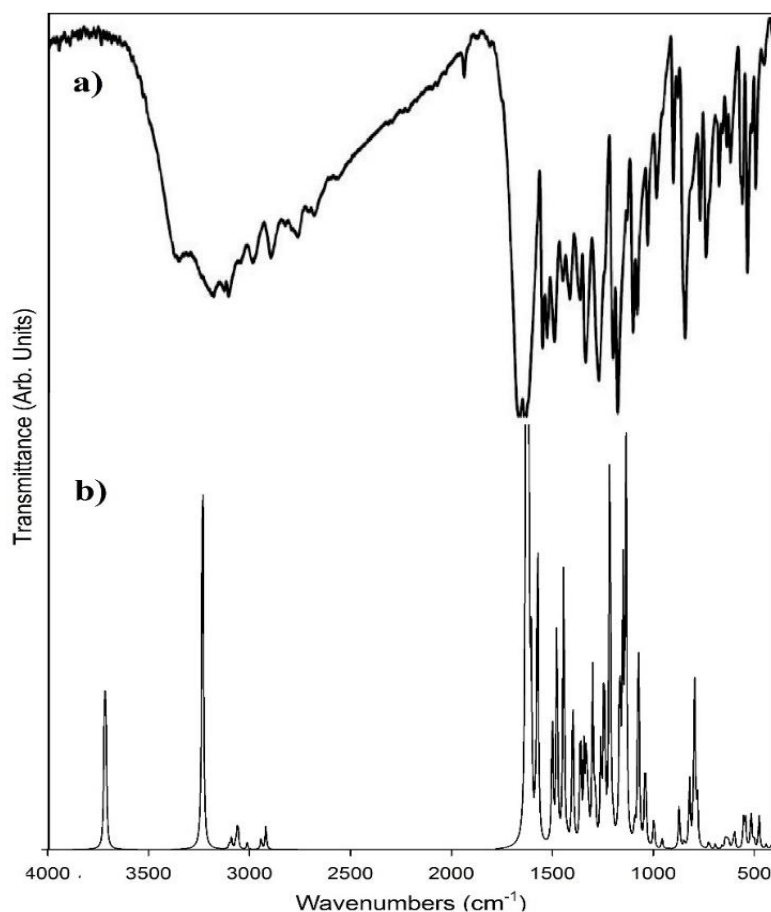


Figure 2. a) Experimental and b) calculated IR spectra of NRG (the experimental spectrum was taken from Unsalan et al., 2008)

Table 2. The calculated and experimental selected vibrational modes of NRG in different media.

Mode	Vacuum		CHCl ₃		EtOH		DMSO		Water		Exp.*	PED (%)**
	Freq.	Rel. IR	Freq.	Rel. IR	Freq.	Rel. IR	Freq.	Rel. IR	Freq.	Rel. IR		
19	410	0.44	412	0.57	412	0.43	413	0.66	413	0.77	420	Γ _{CCCC} (66)
20	442	0.41	441	0.53	442	0.61	442	0.70	441	0.72	449	δ _{CCC} (19)+δ _{CCO} (11)+V _{CC} (10)
21	476	3.36	475	4.75	476	4.59	475	5.35	475	5.70	463	δ _{OCC} (29)+δ _{CCC} (17)
22	501	0.96	501	0.45	502	0.64	501	0.30	501	0.38	483	Γ _{OCCC} (16)
23	516	4.07	517	6.80	516	7.13	518	8.72	517	9.14	519	Γ _{OCCC} (14)+δ _{OCC} (12)+Γ _{HCCC} (11)
24	544	3.05	544	4.04	544	4.03	544	4.07	544	4.67	557	δ _{CCC} (19)+δ _{OCC} (11)
25	553	2.72	552	3.61	552	3.23	553	4.63	552	4.41	568	δ _{OCC} (23)+δ _{CCC} (17)
26	598	1.95	598	2.57	599	2.37	599	2.80	598	2.99	596	Γ _{OCCC} (31)
28	625	0.61	626	0.65	626	0.73	626	0.89	625	1.10	616	Γ _{OCCC} (16)+Γ _{CCOC} (15)
29	633	1.02	635	1.69	636	1.97	636	2.33	636	2.59	638	Γ _{OCCC} (31)
32	693	0.49	695	0.99	695	1.20	696	1.40	695	1.66	680	V _{CC} (17)+δ _{CCC} (12)
34	726	0.64	726	1.57	725	1.53	726	0.91	726	1.07	729	Γ _{OCCC} (19)+Γ _{CCCC} (16)+Γ _{HCCC} (10)
35	782	5.07	755	15.47	735	8.04	736	11.24	731	2.23	745	Γ _{HCCC} (56)+Γ _{CCOC} (15)+Γ _{OCCC} (14)
39	821	6.72	813	2.49	810	3.13	809	3.47	808	4.02	824	Γ _{HCCC} (54)+Γ _{OCCC} (16)
41	847	0.63	844	0.45	844	0.60	843	0.52	842	0.46	853	δ _{CCC} (17)
42	872	4.45	864	7.40	864	6.23	861	8.32	860	8.65	896	V _{OC} (12)
44	942	0.03	944	0.15	947	0.79	946	1.69	945	2.07	964	Γ _{HCCC} (81)
45	957	1.09	950	1.64	949	1.17	949	0.72	948	0.42	971	V _{OC} (22)
46	996	1.99	993	5.00	991	4.73	991	6.34	990	6.77	996	δ _{CCC} (16)
48	1037	4.45	1035	16.31	1034	15.89	1034	21.57	1034	23.29	1019	V _{OC} (15)+Γ _{CCOC} (13)
50	1074	23.37	1067	25.90	1065	24.40	1064	26.58	1064	27.92	1083	V _{OC} (47)
52	1136	39.73	1129	63.18	1127	65.73	1126	76.07	1125	79.31	1102	δ _{HCC} (38)+V _{OC} (21)+δ _{HOC} (19)
53	1150	24.60	1148	29.79	1146	20.76	1146	23.12	1145	26.31	1161	δ _{HOC} (23)+V _{CC} (12)+δ _{HCC} (11)
56	1166	18.16	1167	24.92	1168	29.73	1168	34.21	1168	31.26	1183	δ _{HCC} (28)+Γ _{HCCC} (10)
58	1216	44.35	1210	48.39	1209	44.52	1209	47.09	1206	48.26	1211	δ _{HOC} (40)+δ _{HCC} (12)
60	1244	18.63	1241	8.62	1242	5.21	1241	7.14	1241	7.18	1241	V _{OC} (44)
62	1288	5.25	1282	19.11	1279	26.13	1278	31.09	1277	34.78	1283	V _{CC} (16)
63	1301	17.66	1294	23.26	1291	22.01	1292	24.35	1292	25.19	1296	V _{OC} (10)
64	1322	4.03	1321	7.25	1320	7.40	1320	11.05	1319	12.15	1335	δ _{HCC} (35)+δ _{HOC} (20)+V _{CC} (14)
68	1399	16.20	1381	26.13	1374	24.16	1374	28.54	1370	26.70	1388	δ _{HOC} (28)+V _{CC} (12)
71	1444	29.02	1434	28.17	1431	25.79	1430	28.98	1430	31.13	1452	δ _{HCC} (16)+δ _{CCO} (11)
72	1478	23.33	1466	27.05	1460	25.08	1460	28.90	1458	28.26	1472	V _{CC} (26)+δ _{HCC} (21)+δ _{HOC} (17)
73	1500	13.41	1494	15.52	1490	15.68	1490	17.28	1489	18.37	1504	δ _{HCC} (53)+V _{CC} (11)
74	1573	34.00	1558	37.36	1552	35.06	1551	40.33	1550	41.22	1563	V _{CC} (33)+δ _{HOC} (11)
75	1585	1.46	1579	4.13	1577	11.41	1575	33.01	1574	77.09	1583	V _{CC} (42)+δ _{CCC} (11)
76	1605	15.43	1593	92.38	1581	85.04	1578	91.67	1577	62.83	-	V _{CC} (59)
77	1618	41.64	1597	17.04	1593	17.11	1593	19.61	1592	21.76	1618	V _{OC} (27)+V _{CC} (17)
78	1628	100.00	1608	100.00	1603	100.00	1602	100.00	1600	100.00	1658	V _{OC} (64)+V _{CC} (12)+δ _{HOC} (10)
80	2943	1.12	2929	0.43	2921	0.28	2922	0.28	2921	0.30	3054	V _{CH} (92)
82	3058	2.87	3028	0.80	3014	0.34	3011	0.38	3010	0.36	3071	V _{CH} (93)
84	3089	0.34	3049	0.06	3033	0.74	3029	0.16	3027	0.22	3081	V _{CH} (99)
85	3090	0.72	3051	0.35	3033	0.43	3030	1.38	3029	1.47	3088	V _{CH} (93)
87	3120	0.01	3069	0.71	3049	1.08	3046	1.31	3045	1.36	3095	V _{CH} (100)
88	3232	46.11	3209	62.43	3206	62.85	3198	72.81	3201	77.05	3129	V _{OH} (99)
89	3712	12.77	3455	43.17	3304	57.33	3283	67.96	3257	73.19	3410	V _{OH} (100)
90	3718	11.54	3467	35.83	3327	45.76	3305	54.64	3283	58.91	3410	V _{OH} (100)

* The experimental data were taken from (Unsalan et al., 2008). Rel. IR: Relative IR intensities

** V: stretching modes; δ: bending modes; Γ: torsional vibration modes

Since the frequencies of the vibrational modes are not only dependent on the molecular structure but also on the physical conditions, it is

expected that the pressure, temperature and solvent environment will influence the geometric parameters and hence the vibration frequencies.

The calculated O-H and C-H modes of the NRG in the solvent environment have shifted to low-wavenumbers regions compared to the vacuum environment. These modes have more affected by the solvent environment and other changing physical conditions because they are outside the ring planes as mentioned above.

Frontier molecular orbitals, chemical reactivity and molecular electrostatic potential

In this paper, the HOMO-LUMO energies of NRG and the energy gap between these two

were calculated in vacuum and solvent media. These parameters are quite important because they can explain many physical and chemical properties of the molecule. They are also used to identify chemical reactivity. The ionization potential is directly related to the HOMO, while the electron affinity is related to LUMO. This is also used by the frontier electron density for estimating the most reactive position in p-electron systems and explains several types of reaction in the conjugated system (Choi et al., 1997).

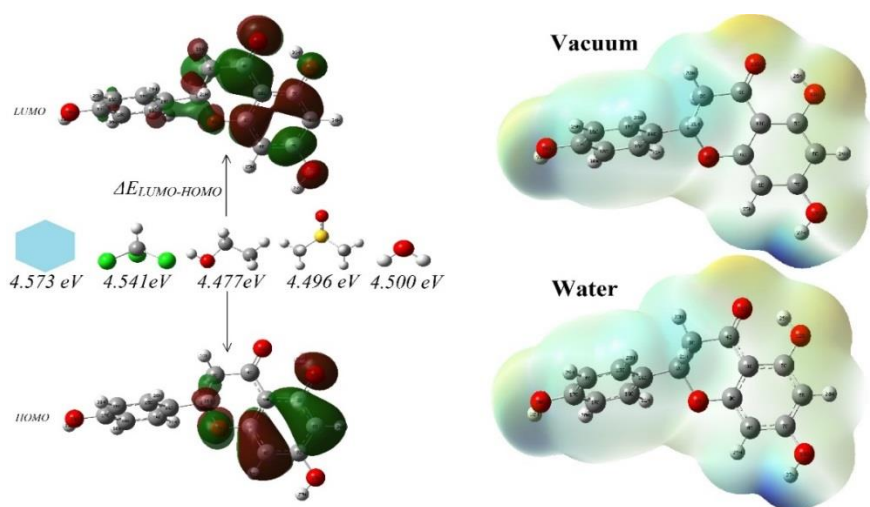


Figure 3. HOMO- LUMO contour maps and energy gaps of NRG in vacuum and solvent media together with the molecular electrostatic potential maps.

HOMO-LUMO contour maps and energy gaps of NRG are shown in Figure 3. It can be seen from Figure 3 that there is a bonding character between the atoms 3C-4C-10C and 6C-5C-9C in the LUMO orbital. In addition, this character is observed between atoms 8C-9C-25H, 5C-6C-24H and 12O-26H in the HOMO orbital.

The MEP surface is a drawing that visualizes a molecule's shape, size, and charge distribution in three dimensions. Often, the red regions on the map represent the most electron density resides, while the blue regions represent the least electron density resides. In addition, this map contains important information about the nature of molecular bonds. Figure 3 also shows the molecular electrostatic potential map

for NRG in vacuum. As you can see from the figure, in the MEP map completely blue or red areas are not very dominant. The positive charge densities have localized on 27 and 32 hydrogen atoms. The 11O, 12O and 20O are very rich in negative charge. The NBO calculated atomic charges of 11O, 12O, 20O, 26H and 27H atoms in vacuum are -0.624e, -0.664e, -0.655e, 0.503e and 0.471e respectively whereas in solvent environments these values are -0.674e, -0.694e, -0.691e, 0.507e and 0.528e. As can be seen here, solvent environments have caused serious changes in atomic charges.

Calculated HOMO-LUMO energies and chemical reactivity of NRG were given in Table 4 together with dipole moments. The electronic properties of the molecules have calculated from

considering total energies and Koopmans' theorem. Ionization potential $I=-E_{HOMO}$ and electron affinity $A=-E_{LUMO}$ can be described. Parr et al. (Parr et al., 1999) explained to

chemical potential as $\mu=(E_{HOMO}+E_{LUMO})/2$, chemical hardness as $\eta=(E_{LUMO}-E_{HOMO})/2$ and finally electrophilicity as $\omega=\mu^2/2\eta$.

Table 3. Calculated HOMO-LUMO energies, chemical reactivity (eV) and dipole moments of NRG in solvent media.

Parameters	Vacuum	CHCl ₃	EtOH	DMSO	H ₂ O
E _{LUMO}	-1.883	-1.902	-1.919	-1.922	-1.914
E _{HOMO}	-6.456	-6.443	-6.396	-6.418	-6.414
ΔE _{LUMO-HOMO}	4.573	4.541	4.477	4.496	4.500
electron affinity (A)	1.883	1.902	1.919	1.922	1.914
ionization potential (I)	6.456	6.443	6.396	6.418	6.414
global hardness (η)	2.287	2.270	2.238	2.248	2.250
chemical potential (μ)	-4.170	-4.172	-4.157	-4.170	-4.164
electrophilicity (ω)	3.802	3.834	3.861	3.868	3.853
μ (Debye)	5.1455	6.6579	7.2558	7.3144	7.3435

When Table 3 is examined, with the increasing the dielectric constant, it can be seen that there is no regular change in HOMO and LUMO energies. However, the dipole moment of NRG increases regularly with increasing dielectric constant. The changing charge delocalization directly affects the dipole moments of molecules. With the increase of the polarity of the solvents, the charge delocalization of the molecule increases and therefore the dipole moment increases. The HOMO-LUMO gaps of NRG in solvent media were calculated as 4.573, 4.541, 4.477, 4.496 and 4.500 eV respectively. While the increase of HOMO-LUMO gap increases the global hardness, the decrease also reduces the global hardness. For this reason, a molecule with a large HOMO-LUMO gap is a hard molecule while a small HOMO-LUMO gap is a soft molecule. Furthermore, the stability of a molecule is also

related to hardness, since molecules with smaller gaps are more stable while molecules with larger gaps are more reactive. In this case, it can be said that in solvent media the stability of NRG molecule increases compared to vacuum and the chemical hardness decreases.

Antioxidant activity

In phenolic compounds, the breaking of the O-H bonds of hydroxyl group results in free radicals and the break energy of the bonds is defined as the bond dissociation energy (BDE). The calculation of BDE gives direct useful information about the antioxidant activity of compounds and for this reason, BDE has critical importance to explain the antioxidant activity of NRG. The NRG has three hydroxyl groups. The antioxidant activity of NRG was determined by calculation of the BDE values of these hydroxyl groups.

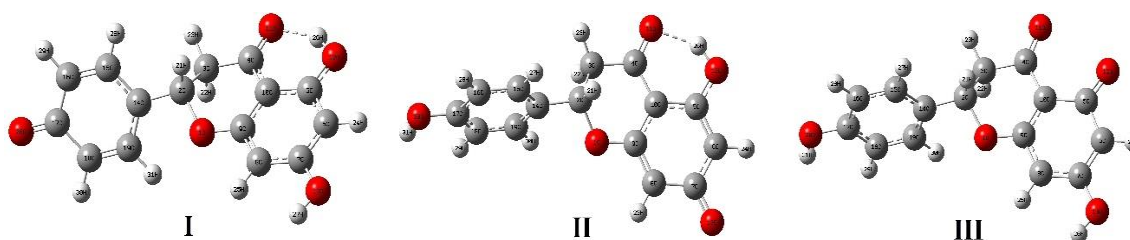


Figure 4. Geometric structures of NRG radicals

Table 4. Calculated BDE values of NRG radicals in solvent media.

Structures	Vacuum	CHCl ₃	EtOH	DMSO	H ₂ O
R-1	84.35	85.71	86.59	86.79	86.96
R-2	89.62	91.31	93.11	93.21	93.43
R-3	99.57	94.98	92.90	78.35	92.52

The resulting structures from the breaking of O-H bonds were given in Figure 4 and the BDE values calculated for these structures are shown in Table 4.

The BDE values were calculated according to the procedure in the literature (Saqib et al., 2015). When the scheme is examined, the BDE value calculated for R-1 in the vacuum is found to be 84.35 Kcal/mol. The calculated value for R-2 is 89.62 Kcal/mol and finally for R-3 is 99.57 Kcal/mol. BDE values for flavonoids range from 70-90 Kcal/mol (Swanson et al., 1985). The lower the BDE value, the higher the antioxidant potential is. In this case, it can be said that the antioxidant property of NRG is derived from the R-1 structure. In addition, the effects of solvents on antioxidant activity are shown in the table. Antioxidant activities of the structures are reduced with increasing solvent polarity since solvent environments increase BDE values of O-H bonds. However, a very interesting case is that in the DMSO, the BDE values of the R-1 and R-2 increase while BDE value of the R-3 significantly decreases, according to the calculations made. This implies that NRG may show higher antioxidant activity in DMSO than all other solvent media. This may indicate that DMSO can be a useful solvent in antioxidant activity studies of NRG on living tissues. Although DMSO may have some side effects on live cells, it is sometimes known to be used in a number of medical applications (Swanson et al., 1985).

CONCLUSION

In this paper, theoretical studies on NRG were performed using DFT. The molecular parameters and vibrational modes of NRG were

calculated and they were compared with the experimental results from the literature. Solvent effects on all calculated parameters were investigated. From the results of the study, it has been observed that the changing solvent environments have considerable changes in the molecular geometric parameters and the vibrational frequencies. All of the vibrational modes calculated in the DFT were in good agreement with the experimental ones. The antioxidant activity of NRG was studied theoretically and it was found that the antioxidant potential could be derived from the R-1 structure. It has also been determined that in DMSO, BDE values of naringenin are significantly reduced and antioxidant activity is increased in this medium compared to other solvent media.

REFERENCES

- Alam MA, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD, 2014. Effect of Citrus Flavonoids, Naringin and Naringenin, on Metabolic Syndrome and Their Mechanisms of Action, *Advances in Nutrition*. 5: 404–417.
- Bao L, Liu F, Guo HB, Li Y, Tan BB, Zhang WX, Peng Y, 2016. Naringenin inhibits proliferation, migration, and invasion as well as induces apoptosis of gastric cancer SGC7901 cell line by downregulation of AKT pathway. *Tumor Biology*. 37: 11365–11374.
- Bilkan MT, Şahin O, Yurdakul Ş, 2017. Experimental and DFT studies of solvent effects on molecular structure and physical properties of Dipyrindylamine pyridine based ligand, *Journal of Molecular Structure*. 1133: 580-590.

- Cavia-Saiz M, Busto MD, Pilar-Izquierdo MC, Ortega N, Perez-Mateos M, Muñiz P, 2010. Antioxidant properties, radical scavenging activity and biomolecule protection capacity of flavonoid naringenin and its glycoside naringin: a comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 1238-1244.
- Choi C, Kertez M, Conformational information from vibrational spectra of styrene, trans-stilbene, and cis-stilbene, *Journal of Physical Chemistry A*, 101: 3823–3831.
- Dennington RD, Keith TA, Millam JM, 2008. GaussView 5, Gaussian, Inc.
- Frabasile S, Koishi AC, Kuczera D, Silveira GF, Verri Jr WA, dos Santos CND, Bordignon J, 2017. The citrus flavanone naringenin impairs dengue virus replication in human cells. *Scientific Reports-Nature*. 7:41864-41874.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, et al. 2004. Gaussian, Inc., Gaussian 03, Revision D.01. Wallingford CT.
- Fuhr U, Klittich K, Horst Staib A, 1993. Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP1A2 dependent metabolism of caffeine in man. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 35:431-436.
- Ghofrani S, Joghataei MT, Mohseni S, Baluchnejadmojarad T, Bagheri M, Khamse S, Roghani M, 2015. Naringenin improves learning and memory in an Alzheimer's disease rat model: Insights into the underlying mechanisms. *European Journal of Pharmacology*. 5:195-201.
- Gonzales GB, Smagge G, Wittevrongel J, Huynh NT, Van Camp J, Raes K, 2016. Metabolism of Quercetin and Naringenin by Food-Grade Fungal Inoculum, *Rhizopus azygosporus* Yuan et Jong (ATCC 48108). *Journal of Agricultural Food Chemistry* 49: 9263-9267.
- Jamróz MH, 2004. Vibrational energy distribution analysis. VEDA 4. Warsaw.
- Lee SY, Boo BH, 1996. Molecular Structures and Vibrational Spectra of Pyrrole and Carbazole by Density Functional Theory and Conventional ab Initio Calculations, *Journal of Physical Chemistry A*. 100: 15073-15078.
- Parr RG, Szentpa'Ly LV, Liu S, 1999. Electrophilicity Index, *Journal of American Chemical Society*, 121: 1922–1924.
- Pauling L, 1960. The nature of the chemical bond, (Cornell University Press).
- PC H, Saville DJ, 2001. Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 4: 217-227.
- Saqib M, Iqbal S, Mahmood A, Akram R, 2015. Theoretical Investigation for Exploring the Antioxidant Potential of Chlorogenic Acid: A Density Functional Theory Study, *International Journal of Food Properties*, 19: 745-751.
- Shin W, Lah MS, 1986. Structure of (R,S)-naringenin, *Acta Crystallographica C*, 42: 626-627.
- Swanson BN, 1985. Medical use of dimethyl sulfoxide (DMSO). *Reviews in Clinical & Basic Pharmacology*. 5: 1-33.
- Tomasi J, Mennucci B, Cammi R, 2005. Quantum mechanical continuum solvation models, *Chemical Reviews*. 105: 2999–3094.
- Unsalan O, Erdogdu Y, Gulluoglu MT, 2009. FT-Raman and FT-IR spectral and quantum chemical studies on some flavonoid derivatives: Baicalein and Naringenin, *Journal of Raman Spectroscopy*. 40: 562–570.
- Zhang L, Song L, Zhang P, Liu T, Zhou L, Yang G, Lin R, Zhang J, 2015. Solubilities of Naringin and Naringenin in Different Solvents and Dissociation Constants of Naringenin, *Journal of Chemical & Engineering Data*. 60: 932–940.
- Zhang P, Lin R, Yang G, Zhang J, Zhou L, Liu T, 2013. Solubility of Naringenin in Ethanol and Water Mixtures, *Journal of Chemical & Engineering Data*. 58: 2402–2404.

Gama ile Işınlanmış Etosüksimid Numunesinin Radyasyon Duyarlılığının Elektron Paramanyetik Rezonans Spektroskopisi Yöntemiyle İncelenmesi

Kerem SÜTÇÜ^{1*}

ÖZET: Bu çalışmanın amacı elektron paramanyetik rezonans spektroskopisi kullanılarak iyonize radyasyonun etosüksimid numunesinin radyasyon duyarlılığı üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Işınlama sonrasında oluşan paramanyetik türlerin radyasyon duyarlılığını belirlemek maksadıyla, etosüksimid numunesine gama ışınları 1, 5, 10, 15, 20 ve 25 kiloGray dozlarında oda sıcaklığında uygulanmıştır. Numunenin sinyal şiddetlerinin mikrodalga güç fonksiyonuna bağlı değişimi 0.01-100 miliWatt aralığında incelenmiştir. Işınlanmış numunenin doz-cevap eğrilerini tanımlayan en yakın matematiksel denklemler belirlenmiştir. Absorbe edilen radyasyon dozuyla sinyal şiddetleri arasındaki korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Ölçümler gama ışımasıyla indüklenen serbest radikallerin dozimetrik özelliklerini incelemek için düşük ve yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, serbest radikallerin stabilitelelerini incelemek için ışınlanmış numunenin sinyal şiddetlerinin zamana bağımlılığı analiz edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Elektron paramanyetik rezonans, serbest radikal, gama ışınlaması

Investigation of Radiation Sensitivity of Gamma-Irradiated Ethosuximide Sample by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy

ABSTRACT: The purpose of this study is to investigate the effects of ionizing radiation on the radiation sensitivity of ethosuximide sample by using electron paramagnetic resonance spectroscopy. To determine the radiation sensitivity of the paramagnetic species formed after irradiation, gamma rays were applied to the ethosuximide sample at room temperature at doses of 1, 5, 10, 15, 20, and 25 kiloGray. The intensities of signals of the sample as a function of microwave power were investigated in the range of 0.01-100 miliWatt. The closest mathematical equations that define the dose-response curves of the irradiated sample were determined. The correlation coefficients between the absorbed radiation dose and the signal intensities were calculated. Measurements were performed at low and high temperatures to study the dosimetric features of free radicals induced by gamma irradiation. Moreover time dependency of the intensity of the signals of the irradiated sample was analyzed to study the stability of the free radicals.

Keywords: Electron paramagnetic resonance, free radical, gamma irradiation

¹Kerem SÜTÇÜ (Orcid ID. 0000-0002-5791-1492), Dicle Üniversitesi, Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, Diyarbakır, Türkiye

*Sorumlu yazar/Corresponding Author: Kerem Sütçü, e-mail: ksutcu@dicle.edu.tr

GİRİŞ

Günümüzde ilaç ve gıda sterilizasyonunda birçok yöntem kullanılmaktadır (Gopal, 1977; Basly ve ark., 1997; Desrosiers ve Le, 1993; Ghelawi ve ark., 2001). Bu yöntemler tercih edilirken sterilize edilecek numunenin türü, yapısı ve hangi hazırlık aşamasında olduğuna dikkat edilmelidir. Gıda ve İlaç Dairesi; (United States Food and Drug Administration; FDA), ışınlama ile sterilizasyon uygulamalarına ilk kez 1963 yılında buğday ve buğday ununda böceklenmenin önlenmesi amacıyla kullanılmasına izin vermiştir (Aydemir Atasever ve Atasever, 2007). Sterilizasyon yöntemlerinin avantajları olduğu gibi dezavantajları da mevcuttur. Bu bağlamda tüm maddeler için kullanılabilir ideal bir sterilizasyon yöntemi bulunmamaktadır. Yüksek sıcaklığa duyarlı ilaç hammaddeleri sıcaklıkla, neme duyarlı olanlar ise buharla sterilize edilememektedir. Etilen oksitle sterilizasyonda ise örnek üzerinde kanserojen gazlar birikmekte ve oldukça uzun havalandırma süresi gerekmektedir (Nishikawa ve ark., 2018). Radyasyonla sterilizasyon sterilize edilecek malzemenin kontrollü bir şekilde iyonize edici radyasyona maruz bırakılması işlemidir (Yürüş, 2010). Temassız bir işlem olan radyasyonla sterilizasyonda tek bir uygulamada karantina işlemine gerek duymadan ve herhangi bir kimyasal kalıntıya sebep olmadan sterilizasyon sağlanır (Ambroz ve ark., 2002; Basly ve ark., 1998a). Gama ışınlarının güçlü penetrasyon özelliği sayesinde en son paketlenme safhasında, sıcaklık artışına sebep olmadan sterilize edilecek numuneye uygulanabilmektedir. Bu avantajlarıyla birlikte yüksek enerjileri sebebiyle gama ışınları bazı dezavantajlara da sahiptir. Işınlanma işlemi sonucunda numunede serbest radikallerin oluşması ve ışınlanma yöntemlerinin ülkeden ülkeye değişiklik göstermesi radyasyonla sterilizasyon yönteminin en önemli dezavantajlarıdır (Basly ve Bernard 1997). Işınlama işlemine maruz kalmış numunede

iyonize edici radyasyonun bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkileri olabilmektedir. Temel mantık ışınlama sonrasında yapıda oluşacak serbest radikallerin tespit edilmesidir. Bu serbest radikaller birkaç metotla tespit edilebilmektedir. Bu metotlar arasında termoluminesans, kemilüminesans ve elektron paramanyetik rezonans (EPR) en popüler olanlarıdır. Yüksek hassasiyetinden dolayı serbest radikalleri belirlemede EPR spektroskopisi en uygun olanıdır (Murieta ve ark., 1996). Işınlama sonrasında yapıda oluşan serbest radikallerin yapılarını ve radyasyon duyarlılıklarını inceleyen birçok EPR çalışması mevcuttur (Osmanoğlu ve ark., 2005; Başkan ve ark., 2015; Sütçü ve Osmanoğlu, 2018). Basly ve arkadaşları EPR spektroskopisi yönteminin, radyasyonla sterilize edilmiş dobutamin hidroklorür örneğini dozimetrik olarak incelemede uygun bir metot olduğunu belirtmişlerdir (Basly ve ark., 1998b). Başka bir çalışma da; kalp hastalığı tedavisinde kullanılan 1.4 dihidropiridin numunesinin herhangi bir kimyasal yoruma gerek kalmadan ışınlanmış olanların, ışınlanmamış olanlardan EPR spektroskopisi yöntemi kullanılarak ayırt edilebileceği belirtilmiştir (Naskrent ve Mielcarek, 2007). Literatür incelendiğinde epilepsi ilaçları ile ilgili radyasyon duyarlılığı çalışmalarının sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Ancak epilepsi dünyada ve ülkemizde tüm yaş gruplarında en sık görülen nörolojik hastalıklardan biridir (Çitak Kurt, 2018). Nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların radyasyon duyarlılıklarının tespitinde önem arz etmektedir. Bu çalışmada; epilepsi tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaç hammaddesi olan etosüksimid numunesi belirli dozlarda gama ile ışınlanarak; oluşan serbest radikallerin radyasyon duyarlılığı EPR spektroskopisi yöntemiyle incelenmiştir. Ayrıca; düşük dozlarda ışınlama işleminin numunede oluşabilecek radyasyon hasarını en aza indirmeye avantajına sahip olmasından dolayı, bu çalışmada mikrodalga doyum, sıcaklık ve

sönüm çalışmalarında 15 kiloGray (kGy) doz şiddetinde ışınlanmış etosüksimid numunesi kullanılmıştır (Gopal, 1977)

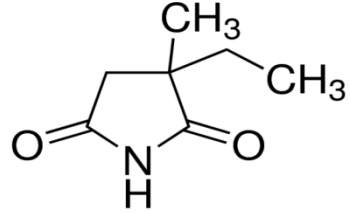
MATERYAL VE YÖNTEM

Toz halindeki etosüksimid numunesi sigma aldrich firmasından satın alınmıştır. Etosüksimid numunesinin kimyasal formülü, moleküler ağırlığı ve kimyasal yapısı çizelge 1’de verilmiştir. Işınlama işlemleri 1785 Gray/Saat doz hızında çalışan Kobalt-60 (^{60}Co)

gama kaynağı (izotop, Ob-Servo Sanguis) kullanılarak 1, 5, 10, 15, 20 ve 25 kGy dozlarında oda sıcaklığında Türkiye Atom Enerjisi Kurumunda (TAEK) gerçekleştirilmiştir.

Etosüksimid numunesinin spektrumları Jeol JES-FA300 X-band EPR spektrometresinde, 9.2 gigahertzlik (GHz) mikrodalga frekansında kaydedilmiştir. Spektrumdaki sinyal şiddetleri microcal origin 6 bilgisayar programı yardımıyla hesaplanmıştır.

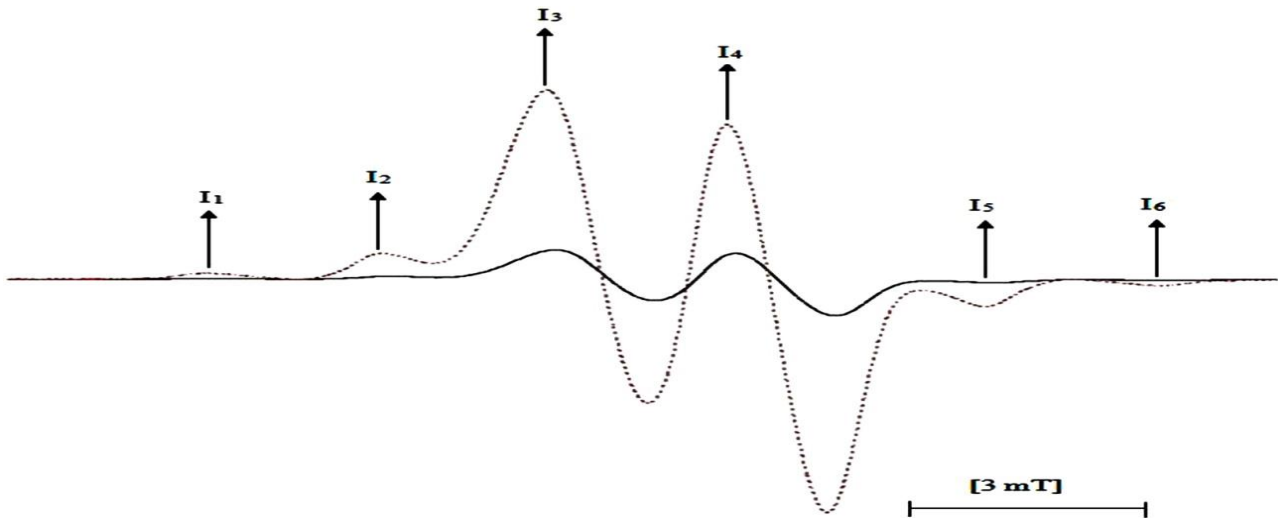
Çizelge 1. Etosüksimid numunesin kimyasal özellikleri

Kimyasal Formül:	$\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_2$
Moleüler Ağırlık:	141.17 (g/mol)
Moleküler Yapı:	

BULGULAR VE TARTIŞMA

EPR spektroskopisi, ışınlanmış numunenin absorbe ettiği doz miktarını belirlemede ve kalitatif tespit için kullanılabilir (Basly ve ark., 1998a). Bu nedenle artan radyasyon

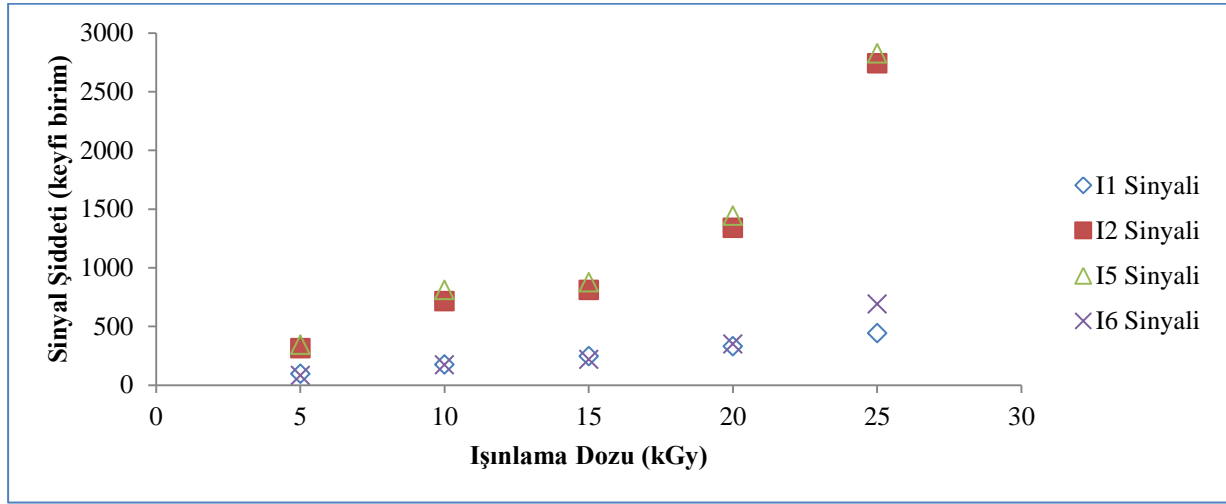
dozunun etosüksimid numunesinden elde edilen EPR spektrumlarının sinyal şiddetleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. 5 ve 25 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinden elde edilen EPR spektrumları şekil 1’de verilmektedir.



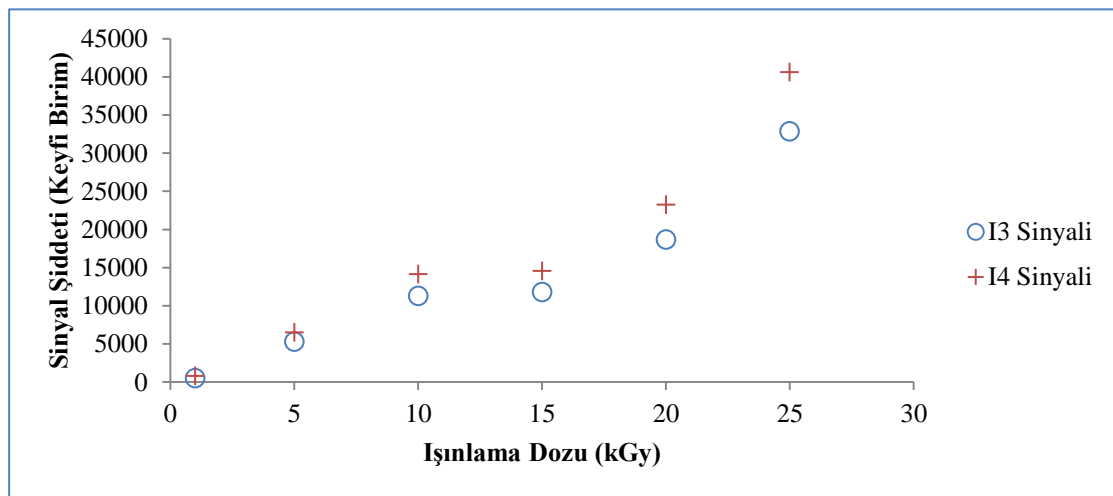
Şekil.1 5 kGy (.....) ve 25 kGy (—) ışınlanmış etosüksimid numunesine ait deneysel EPR spektrumları

Her iki spektrum incelendiğinde merkezde iki güçlü sinyalin (I_3 ve I_4) yer aldığı ve bu güçlü sinyallerin solunda (I_1 ve I_2) ve sağında (I_5 ve I_6) zayıf şiddette uydu sinyallerinin olduğu gözlenmektedir. Işınlama dozunun 25 kGy'e ulaşması spektrumların şeklinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı, ancak tüm sinyal şiddetlerinde belirgin artışlara sebep olduğu tespit edilmiştir. Numunenin sinyal şiddetlerinde oluşan bu artış, ışınlama dozu arttıkça yapıda oluşan serbest radikal sayısının arttığını göstermektedir (Damian, 2003). Sütçü 2018a'da

yapmış olduğu çalışmasında 15 kGy ışınlanmış etosüksimid örneğinin E-109C EPR X band sektometresinde kaydedilmiş EPR spektrumu için iki farklı radikal ($-\dot{C}HCH_2N-$ ve $-\dot{C}H$) önermiş, spektrumun spektroskopik yarımlama faktörünün (g) değerini $g = 2.0048 \pm 0.0005$ ve çizgi genişliğini (ΔH) ise $\Delta H = 0.73$ miliTesla (mT) olarak hesaplamıştır (Sütçü, 2018a). Şekil 2 ve 3'te 1, 5, 10, 15, 20 ve 25 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinin tüm sinyal şiddetlerinin artan radyasyon dozuna bağlı değişim grafiği verilmiştir.



Şekil.2 Işınlanmış etosüksimid numunesinin I_1 , I_2 , I_5 ve I_6 sinyal şiddetlerinin ışınlama dozuna bağlı değişimi (doz-cevap eğrisi)



Şekil.3 Işınlanmış etosüksimid numunesinin I_3 , ve I_4 sinyal şiddetlerinin ışınlama dozuna bağlı değişimi (doz-cevap eğrisi)

Dozimetrik çalışmalarda doz-cevap eğrisini tanımlayan matematiksel denklemleri belirlemek oldukça önemlidir, ancak bu seçim için tek bir analitik yöntem bulunmamaktadır (Aydaş ve ark., 2008). Şekil 2 ve 3'te verilen grafikler incelendiğinde I_3 ve I_4 sinyallerinin en iyi uyumu sırasıyla $R_3 = 0.9785$ $R_4 = 0.9804$ korelasyon katsayıları ile üs fonksiyonlarıyla; I_1 , I_2 , I_5 ve I_6 sinyallerinin ise en iyi uyumu sırasıyla $R_1 = 0.9979$, $R_2 = 0.9606$, $R_5 = 0.9583$ ve $R_6 = 0.9713$ korelasyon katsayıları ile polinomial

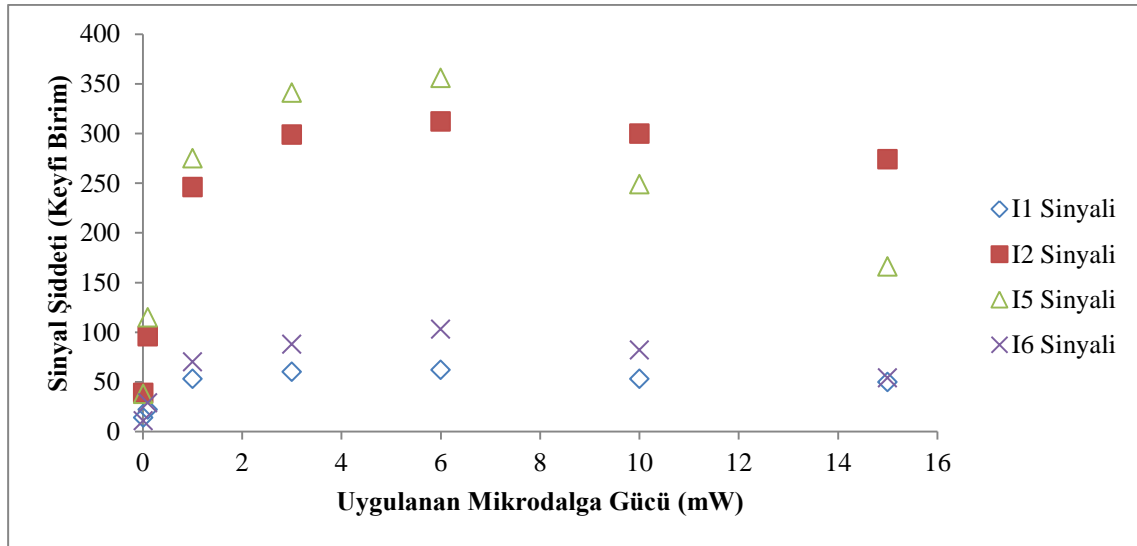
fonksiyonlar ile gösterdiği hesaplanmıştır. Etosüksimid numunesinin doz-cevap eğrilerinin en iyi uyumlu olduğu matematiksel fonksiyonlar ise çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2'de kullanılan I, EPR spektrumlarından hesaplanan sinyallerin tepeden-tepeye sinyal şiddetlerini; D ise numuneye uygulanan ışınlama doz miktarını belirten sabitlerdir. Elde edilen matematiksel fonksiyonların literatürle oldukça uyumlu olduğu belirlenmiştir (Basly ve ark., 1996; Çolak, 2010).

Çizelge 2. Işınlanmış etosüksimid numunesinin doz-cevap eğrisi için hesaplanan matematiksel fonksiyonlar

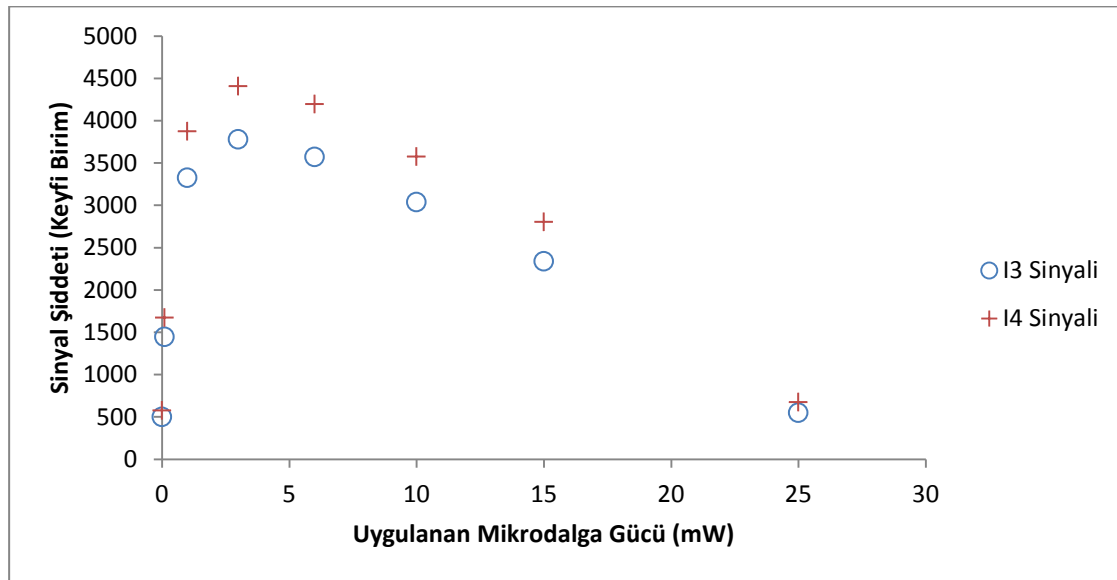
Fonksiyonlar	Parametreler	Sinyal I_1	Sinyal I_2	Sinyal I_3	Sinyal I_4	Sinyal I_5	Sinyal I_6
$I=ae^{bD}$	a	74.97	208.73	1276.3	1766.4	237.63	52.853
	b	0.00738	0.0991	0.1426	0.1366	0.0958	0.0998
	R^2	0.9732	0.9582	0.7833	0.8013	0.9499	0.9761
$I=aD+b$	a	16.96	109.5	1192.9	1471.5	111.96	27.86
	b	3.2	-458.9	-1715.6	-2007.8	-419	-115.9
	R^2	0.9909	0.8411	0.9116	0.9115	0.8524	0.8639
$I=a\ln(D)+b$	a	201.97	1228.3	7897.8	9737.1	1263.9	313.66
	b	-260.84	-1969.3	-3499.4	-4198.1	-1983.9	-503.15
	R^2	0.9081	0.6839	0.6869	0.6863	0.7019	0.7076
$I=aD^2+bD+c$	a	0.24	6.9743	36.892	45.432	6.6686	1.66
	b	9.76	-99.729	238.2	295.73	-88.097	-21.94
	c	4.52	761.6	1919.1	2465.7	748	174.6
	R^2	0.9979	0.9606	0.9527	0.9525	0.9583	0.9713
$I=aD^b$	a	20.964	41.818	577.02	847.06	49.348	10.43
	b	0.9276	1.2053	1.2153	1.1527	1.172	1.2153
	R^2	0.9937	0.9164	0.9785	0.9804	0.9191	0.9356

Doz-cevap eğrisinde I_3 ve I_4 sinyallerinin üs, diğer sinyallerin polinomial fonksiyonlarıyla oldukça yüksek korelasyon katsayıları ile uyumu, ışınlama sonrasında elde edilen spektruma farklı iki türden radikalden katkı geldiğini desteklemektedir. Ayrıca elde edilen yüksek korelasyon katsayıları 25 kGy'e kadar ışınlanmış etosüksimid numunesinde herhangi bir ışınlama dozu için elde edilecek EPR sinyal şiddetini en az %95 kesinlikle tahmin etmemize olanak sağlamaktadır.

Işınlanmış etosüksimid numunesinin kaydedilen EPR spektrumlarına farklı iki türden radikalden katkı geldiği düşünülerek; 15 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinin EPR sinyal şiddetlerinin uygulanan mikrodalga gücüne bağlı değişimleri incelenmiştir. Şekil 4 ve 5'te verilen grafikler incelendiğinde I_1 , I_2 , I_5 ve I_6 sinyallerinin 6 mW değerinde doyuma ulaştığı ancak I_3 ve I_4 sinyallerinin ise 3 mW değerinde doyuma ulaştığı tespit edilmiştir.



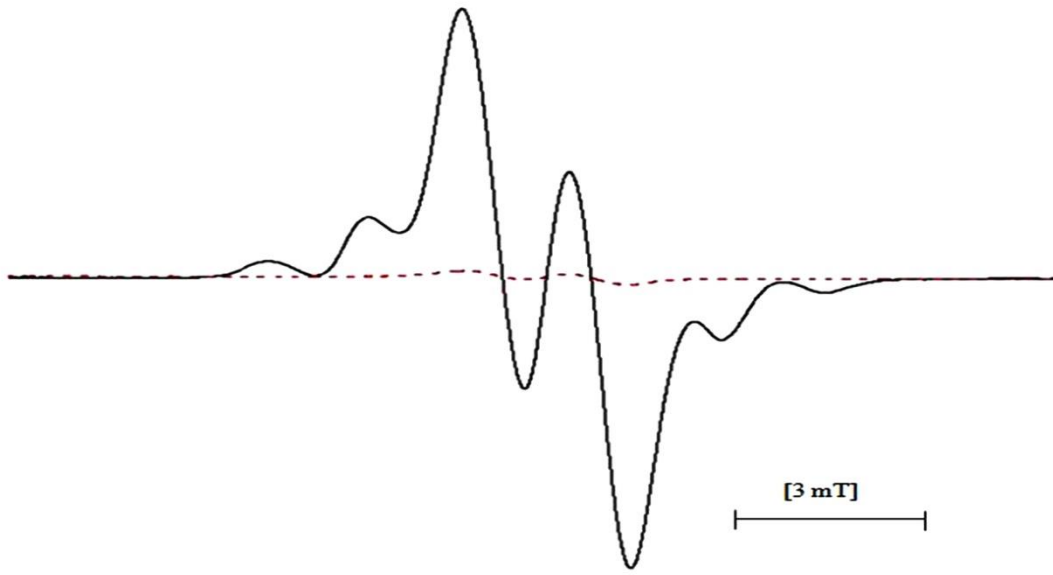
Şekil 4. 15 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinin I₁, I₂, I₅ ve I₆ sinyal şiddetlerinin uygulanan mikrodalga gücüne bağlı değişimi



Şekil 5. 15 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinin I₃ ve I₄ sinyal şiddetlerinin uygulanan mikrodalga gücüne bağlı değişimi

Benzer şekilde I₁, I₂, I₅ ve I₆ sinyallerinin en iyi uyumu üs fonksiyonu ($I=aD^b$) ile gösterdiği ancak I₃ ve I₄ sinyallerinin ise en iyi uyumu polinom fonksiyonu ($I=aD^2+bD+c$) ile gösterdiği hesaplanmıştır. Sinyallerin farklı güçlerde doyuma ulaşmaları ve en iyi uyum gösterdikleri fonksiyonların farklı oluşu ışınlanmış etosüksimid numunesinde iki farklı türden radikal oluştuğunu göstermektedir (Sütçü ve Osmanoğlu 2018, Sütçü 2018b).

15 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinde farklı radikallerin oluştuğu düşüncesiyle; numunenin geniş bir sıcaklık aralığında (123 Kelvin - 423 Kelvin) spektrumları kaydedilerek yapıda oluştuğu düşünülen radikallerin sıcaklık değişimine karşı davranışları incelenmiştir. Şekil 6'da 123 Kelvin ve 323 Kelvinde kaydedilen EPR spektrumlar verilmiştir.

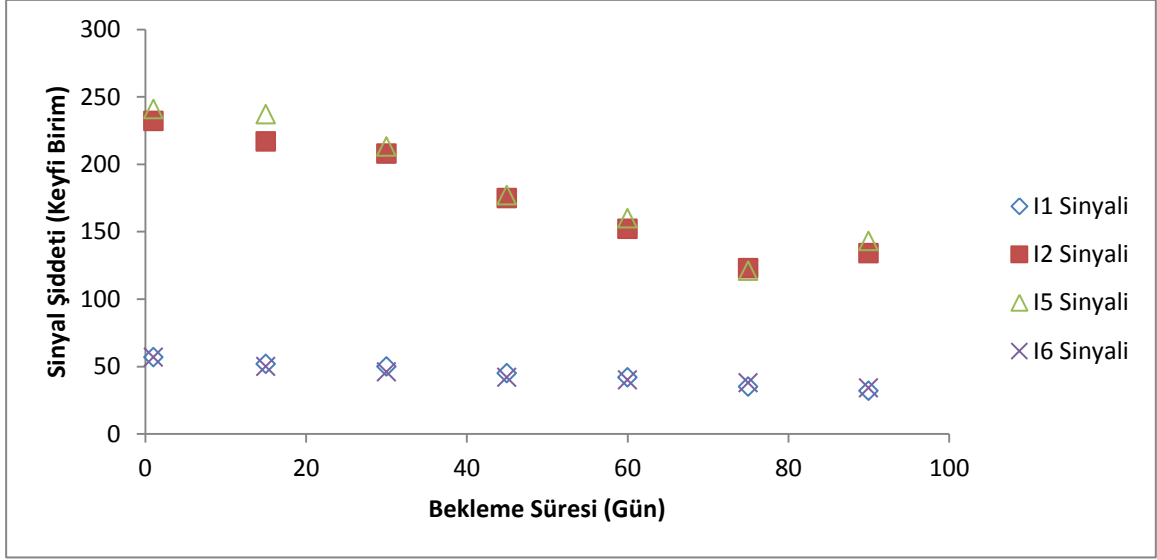


Şekil.6 Etosüksimid numunesinin 123(—) Kelvin ve 323(.....)-Kelvin sıcaklıklarında kaydedilen EPR spektrumları.

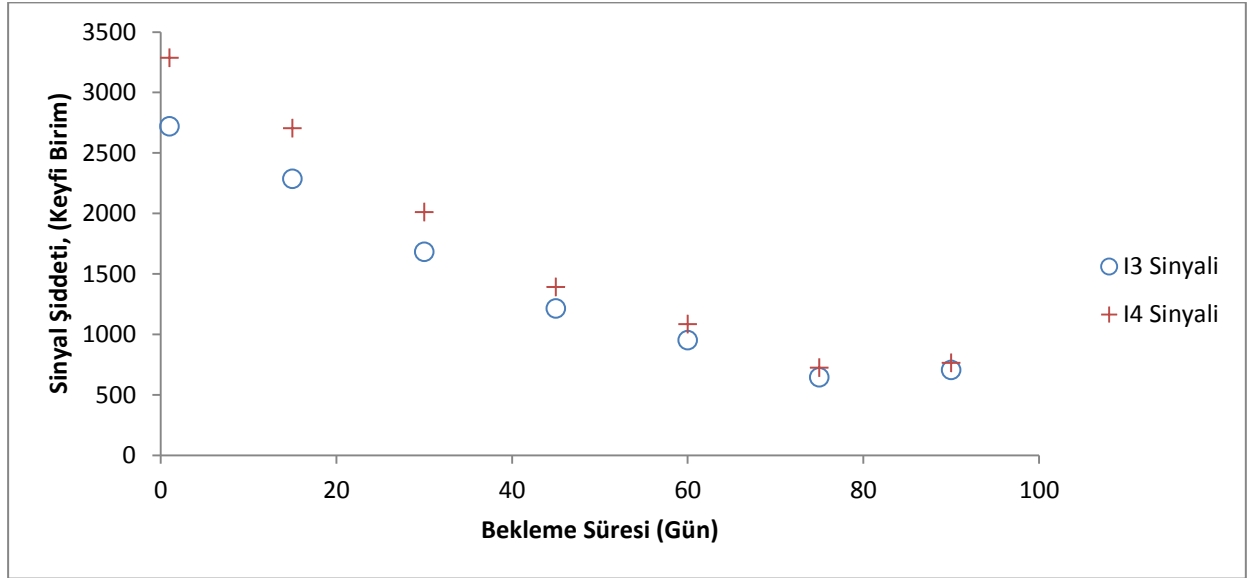
Şekil 6'da verilen spektrumlar incelendiğinde sıcaklık 123 Kelvinden 323 Kelvine yükseldiğinde sadece I_3 ve I_4 sinyalleri gözlenmektedir. Spektrumda sadece I_3 ve I_4 sinyallerinin gözlenmesi; I_1 , I_2 , I_5 ve I_6 sinyallerine katkı veren serbest radikallerin 323 Kelvinde söndüğünü; geri kalanların ise kararlı yapılarını koruduklarını göstermektedir. Bu durum spektruma farklı iki radikalden katkı geldiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, 323 Kelvinde kaydedilen spektrumlar incelendiğinde; I_3 ve I_4 sinyal şiddetlerinde oda sıcaklığında kaydedilen spektrumlara göre sinyal şiddetlerinde yaklaşık %82'lik bir kayıp olduğu hesaplanmıştır. Gerek soğutma gerekse ısıtma

işlemleri sonucunda elde edilen spektrumlar incelendiğinde başka bir sinyale rastlanmaması; soğutma ve ısıtma işlemlerinin yapıda yeni radikaller oluşturmadığını ortaya koymaktadır.

Işınlanmış ilaçlarda ışınlamaya bağlı olarak elde edilen sinyallerin, numunenin raf ömrü boyunca test edilebilir olması gerekmektedir (Basly ve ark., 1998c). Etosüksimid numunesinin gama ile ışınlanmasının ardından 90 günlük süreç içerisinde belirli aralıklarla oda sıcaklığında EPR spektrumları kaydedilmiştir. 15 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinin EPR sinyal şiddetlerinin zamana bağlı değişim grafiği Şekil 7 ve Şekil 8'de verilmiştir.



Şekil 7. 15 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinin I_1 , I_2 , I_5 ve I_6 sinyal şiddetlerinin bekleme süresine bağlı değişimi



Şekil 8. 15 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinin I_3 , ve I_4 sinyal şiddetlerinin bekleme süresine bağlı değişimi

Bu süreç boyunca elde edilen spektrumların g değerinde ve sinyallerin şeklinde belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. 90 gün sonunda elde edilen spektrumlar üzerinde yapılan ölçümlerde I_1 , I_2 , I_5 ve I_6 sinyal şiddetlerindeki kayıplar sırasıyla yaklaşık olarak %54, %52, %51 ve %51; I_3 ve I_4 sinyal şiddetlerindeki kayıplar ise sırasıyla yaklaşık olarak %75 ve %77 hesaplanmıştır. I_1 , I_2 , I_5 ve I_6 sinyallerinin I_3

ve I_4 sinyallerine oranla daha yavaş sönümlenmesi; ışınlama sonucunda yapıda farklı iki tür radikal oluştuğunu; I_1 , I_2 , I_5 ve I_6 sinyallerine katkı veren radikallerin I_3 ve I_4 sinyallerine katkı veren radikallerden daha kararlı bir yapıda olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuç, etosüksimid numunesinin doz-cevab ve mikrodalga doygunluk sonucu elde edilen verilerle uyum göstermektedir. Sönüm sonuçları

EPR spektroskopisi kullanılarak ışınlanmış etosüksimid numunesinin, ışınlanmamış olanlardan 90 gün sonra bile rahatlıkla ayırt edebileceğini göstermektedir. Işınlama işleminden sonra 90 gün sonra bile kararlı sinyallerin elde edilmesi etosüksimid numunesinin radyasyonla sterilize edilemeyeceğini göstermektedir. Etosüksimid numunesinin I₁, I₂, I₃, I₄, I₅ ve I₆ sinyallerinin

bozunma eğrileri, sırasıyla aşağıda verilen regresyonlarla simüle edilmiştir.

Ayrıca ışınlanmış numuneden elde edilen sinyal şiddetlerinin sönüm eğrileriyle yüksek korelasyon katsayıları; 90 günlük depolama süresi boyunca herhangi bir sinyal şiddetini en az %91 kesinlikle tahmin etmemize olanak sağlamaktadır.

$$\text{Serbest Radikal (\%I}_1\text{)} = -0.005t^2 - 0.2324t + 56.758 \quad (R^2 = 0.9893)$$

$$\text{Serbest Radikal (\%I}_2\text{)} = 0.0032t^2 - 1.5795t + 239.28 \quad (R^2 = 0.9459)$$

$$\text{Serbest Radikal (\%I}_3\text{)} = 0.2448t^2 - 46.322t + 2831.5 \quad (R^2 = 0.9933)$$

$$\text{Serbest Radikal (\%I}_4\text{)} = 0.3023t^2 - 0.57271t + 3409.7 \quad (R^2 = 0.9893)$$

$$\text{Serbest Radikal (\%I}_5\text{)} = 0.0057t^2 - 1.9027t + 253.93 \quad (R^2 = 0.9199)$$

$$\text{Serbest Radikal (\%I}_6\text{)} = -0.0016t^2 - 0.3837t + 56.453 \quad (R^2 = 0.9850)$$

SONUÇ

İlaç bileşiklerinde yüksek sıcaklıklarda sterilizasyon işlemi bozunmalara sebep olduğundan dolayı soğuk sterilizasyon olarak bilinen radyasyonla sterilizasyonun önemi oldukça artmaktadır. Bu çalışmada 15 kGy ışınlanmış etosüksimid numunesinin doz-cevap, mikrodalga doyum, sıcaklık ve sönüm olmak üzere dört aşamada radyasyon duyarlılığı incelenmiştir. Dört aşamanın tümünde I₁, I₂, I₅ ve I₆ sinyallerinin bir grup, I₃ ve I₄ sinyallerinin ise başka bir grup olarak davrandığı tespit edilmiştir. Bu tespitler ışınlanmış numunede iki farklı tür radikalden spektruma katkı geldiği sonucunu güçlendirmiştir. Ayrıca ışınlanma işlemi sonucunda yapıda kararlı radikallerin oluşması numunenin radyasyonla sterilizasyonunun uygun olmayacağı sonucuna ulaştırmıştır. Bu bağlamda ilaç endüstrisinde; ilaçları sterilize etmede kullanılan radyasyonun yıkıcı etkisi sonucunda ilaçların kimyasal yapılarında oluşacak serbest radikallerin radyasyon duyarlılıklarının belirlenmesinde EPR spektroskopisi oldukça verimli sonuçlar ortaya çıkaracaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi DÜBAP ZGEF15007 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Ambrož HB, Kornacka EM, Marciniec B, Przybytniak G, 2002. Radical Decay in Irradiated Drugs: Flutamide, Ifosfamide. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 254 (2) : 293-298.
- Atasever MA, Atasever M, 2007. Işınlanmanın Gıda Teknolojisinde Kullanımı. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2: 107-116.
- Aydaş C, Engin BI, Polat M, Aydın T, 2008. Electron Spin Resonance Study of γ -Irradiated Anatolian Chickpea (*Cicer Arietinum L.*). *Radiation Effects and Defects in Solids*, 163 (1): 7-17.
- Basly, JP, Duroux JL, Bernard M, 1996. Radiosterilization Dosimetry by ESR Spectroscopy: Application to Terbutaline. *International Journal of Pharmaceutics*, 142 (2): 247-249.

- Basly JP, Bernard M, 1997. Radio Sterilization Dosimetry by ESR Spectroscopy: Ritodrine Hydrochloride and Comparison with Other Sympathomimetics. *International Journal of Pharmaceutics*, 149 (1): 85-91.
- Basly JP, Longy I, Bernard M, 1997. ESR Identification of Radiosterilized Pharmaceuticals: Latamoxef and Ceftriaxone. *International Journal of Pharmaceutics*, 158 (2): 241-245.
- Basly JP, Basly I, Bernard M, 1998a. Electron Spin Resonance Identification of Irradiated Ascorbic Acid: Dosimetry and Influence of Powder Fineness. *Analytica Chimica Acta*, 372 (3): 373-378.
- Basly JP, Basly I, Bernard M, 1998b. Influence of Radiation Treatment on Dobutamine. *International Journal of Pharmaceutics*, 170 (2): 265-269.
- Basly JP, Longy I, Bernard M, 1998c. Radiosterilization Dosimetry by Electron-Spin Resonance Spectroscopy: Cefotetan, *Analytica Chim Acta*, 359: 107-113.
- Başkan MH, Osmanoğlu YE, Sütçü K, Aydın M, Osmanoğlu Ş, 2015. Radiation Effect Studies in Single Crystal Of Trifluoroacetyl- α -Aminoisobutyric Acid. *Radiation Effects and Defects in Solids*, 170 (10): 854-861.
- Çolak S, 2010. ESR Identification of Gamma-Irradiated Albendazole. *Radiation Effects and Defects in Solids: Incorporating Plasma Science and Plasma Technology*, 165 (1): 72-82.
- Damian G, 2003. EPR Investigation of γ -Irradiated Anti-Emetic Drugs. *Talanta*, 60: 923-927.
- Desrosiers M.F, Le FG, Harewood PM, Josephson ES, Montesalvo M, 1993. Estimation of the Absorbed Dose in Radiation-Processed Food. 4. EPR Measurements on Eggshell. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41 (9): 1471-1475.
- Ghelawi MA, Moore JS, Bisby RH, Dodd NJ, 2001. Estimation of Absorbed Dose in Irradiated Dates (*Phoenix Dactylifera L.*). Test of ESR Response Function by a Weighted Linear Least-Squares Regression Analysis. *Radiation Physics and Chemistry*, 60 (1-2): 143-147.
- Gopal, NGS, 1977. Radiation Sterilization of Pharmaceuticals and Polymers. *Radiation Physics and Chemistry*, 12 (1-2): 35-50.
- Kurt ANC, 2018. Characteristics of the Knowledge and Attitudes Of Parents About Epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, 86:153-156.
- Murrieta HS, Munoz EP, Adem E, Burillo G, Vazquez M, Cabrera EB, 1996. Effect of Irradiation Dose, Storage Time and Temperature on the ESR Signal in Irradiated Oat, Corn and Wheat. *Applied Radiation and Isotopes*, 47 (11-12): 1657-1661.
- Naskrent M, Mielcarek J, 2007. The Effect Of Ionizing Radiation of 1, 4-Dihydropyridine Derivatives in the Solid State. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 67 (1): 251-255.
- Nishikawa T, Abe N, Yonesu A, Hayashi N, 2018. Sterilization of Small Vial Using Electron Cyclotron Resonance Plasma. *Vacuum*, 157: 100-104.

- Osmanoğlu Ş, Aydın M, Başkan MH, 2005. EPR of Gamma-Irradiated L-Glutamine Hydrochloride and N-Carbamoyl-L-Glutamic Acid. Zeitschrift für Naturforschung A, 60 (7): 549-553.
- Sütçü K, 2018a. EPR Investigation of Damage Centers Formed in Some Drug Powders Irradiated with Gamma Rays. Journal of Molecular Structure, 1163: 1-3.
- Sütçü K, 2018b. Gama İle Işınlanmış Amantadin Hidroklorürde Oluşan Serbest Radikallerin Simülasyon Metoduyla İncelenmesi. DÜMF Mühendislik Dergisi, 9(2): 829-836.(2018b)
- Sütçü K, Osmanoğlu YE, 2018. Electron Spin Resonance Identification of Gamma Irradiated 2, 4'-Dichlorodiphenyl Dichloroethane and 6-Mercaptopurine Monohydrate in the Solid State. Journal of Molecular Structure, 1174: 67-73.
- Yürüş S, 2010. Radyasyonla Sterilize Edilen Sefem Grubu Bazı Antibiyotiklerde Oluşan Radyolitik Araürünlerin Karakterizasyonu, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).

A Study on Sb and F Doped Tin Oxide Thin Films Preparing in Condition of Different Temperature and Molarity and Their Physical Comparison

Ahmet BATTAL^{1*}

Bahattin DUZGUN²

ABSTRACT: This article is about tin oxide (SnO₂:Sb:F) thin films prepared (7 samples at each experiment step) successfully on the glass substrate by using spray pyrolysis method. Different solution molarities and different substrate temperatures were used to prepare precursor solution and fabricate thin films, respectively. And then these thin film's structural, optical and morphological properties were compared. XRD patterns displayed that the deposited films were polycrystalline with tetragonal structure irrespective of molarity and substrate temperature. Each film has a transmittance of more than 60% in visible region. Optical band gap values were found to be in the range of 3.74-3.95 eV. The SEM and AFM images demonstrated that nanocrystalline particles covered all film surfaces. The best optimum property was found at thin films (0.15 M) prepared with at 520 °C and the grains are larger for thin films at 520 °C when compared with 480 °C. Finally, it is understood that when substrate temperature and molarity increased, more regular structure was obtained.

Anahtar Kelimeler: SnO₂:Sb:F thin films, spray pyrolysis, solution molarity and substrate temperatures

¹ Ahmet BATTAL (Orcid ID: 0000-0003-0208-1564), Mus Alparslan University, Education Faculty, Mus, Turkey

² Bahattin DUZGUN (Orcid ID:0000-0000-0000-0000), Ataturk University, Kazim Karabekir Education Faculty, Erzurum, Turkey

*Corresponding author: Ahmet BATTAL, e-mail: a.battal@alparslan.edu.tr

INTRODUCTION

In latest and sophisticated technological devices like as organic light emitting diode (OLED) (Yusoff et al., 2018), dye-sensitized solar cell (DSSC) (Musyaro'ah et al., 2017), thin film transistors (TFTs) (Priyadarshini et al., 2017), flat panel display (Liu et al., 2018), gas sensor (Kou et al., 2018) and smart windows (Huang et al., 2015), transparent conducting oxide materials (TCOs) are excessively using. The reason for this is due to their excellent properties including high transparency and conductivity, low electric resistivity, chemical inertness and mechanical hardness (Ravichandran et al., 2009; Vazquez-Arreguin et al., 2016). TCOs thin films have deposited with various technique for a long time. It can be given for example spray pyrolysis (Yuwono et al., 2017), spin coating (Kadhim et al., 2017), pulsed laser deposition (Martin et al., 2004), dip coating (Carvalho et al., 2012) and sputtering (Zhu et al., 2017) methods. Among them, it was found that spray pyrolysis method have interesting properties such as simple and inexpensive experimental setup, reproducibility, easily adding of doping materials, preparing thin films with high quality (Tripathi and Shukla, 2014). The properties of TCOs thin films have been fabricated by spray can be changed with substrate temperature, spray time, spray flow rate, nozzle-substrate distance, precursors and solvents etc. (Yuwono et al., 2017). Here, we aimed to compare effect of substrate temperature and molarity on TCOs thin films by spray method (for example $\text{SnO}_2\text{:Sb:F}$).

MATERIALS AND METHODS

Tin Oxide Thin Film Preparation

In this work, Antimony (Sb) and Fluorine (F) doped tin oxide ($\text{SnO}_2\text{:Sb:F}$) thin films were prepared by using a home-made spray pyrolysis method at different substrate temperatures and different molarities. 480 °C and 520 °C degrees were chosen for different substrate temperatures.

Substrate temperature is maintained $\pm 10^\circ\text{C}$ using a k-type thermocouples. The solution molarity values were kept at 0.05M, 0.1M and 0.15M. All solvent volumes are constantly maintained at 50 mL. Doping weight ratio of Sb and F, respectively, are 4% and 30%. For precursor solution, Tin (II) chloride dehydrates ($\text{SnCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$), antimony (III) chloride (SbCl_3) and ammonium fluoride (NH_4F), deionized water and hydrochloric acid (HCl) were used. All reagents and organic solvent were purchased from Merck. Glass substrates with (10x10x1) mm^3 dimensions were cleaned with Acetone, Isopropyl Alcohol and Deionized water in ultrasonic cleaner. After cleaning, the substrates were dried at 150 °C in an oven before being used. For making tin precursor solution, 0.564 g $\text{SnCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.173 g SbCl_3 and 0.022 g NH_4F were dissolved in 5 ml of HCl. This solution was completed to 50 ml with deionized water. After dissolving, the solution was stirred at 60 °C for 60 min to gain homogenous solvent. A syringe filter with 0.2 micron size was used to prevent large particles. Also, in this experiment, the flow rate ($10 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$) of air used as a carrier gas, the nozzle to substrate distance (40 cm), the spray angle ($\alpha=45^\circ$), plate rotation speed ($20 \text{ rpm}\cdot\text{min}^{-1}$) and pressure ($0.2 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$) were fixed as a constant. To complete the deposition process, the sprayed films were allowed to cool naturally at room temperature, and some physical properties of thin films investigated and compared. The schematic diagram of this system and other experiment details has been found previous report (Battal et al., 2015).

Characterization

Rigaku D/Max-IIIc XRD diffractometer with $\text{CuK}\alpha$ radiation ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$), at operating voltage of 30 kV, and current of 10 mA, a JEOL SEM (Scanning Electron Microscope) Model 6460. a NT-MDT AFM (Atomic Force Microscope) and a UV-VIS (Perkin Elmer, Lambda 35) spectrophotometer were used to characterize sample's properties.

RESULTS AND DISCUSSION

Comparing of XRD Structural Analysis

Structural properties of $\text{SnO}_2\text{:Sb:F}$ thin films prepared at different concentration and substrate temperature were recorded by Rigaku D/Max-III C XRD diffractometer with $\text{CuK}\alpha$ radiation ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$). XRD spectra for these thin films are shown in Figure 1 and Figure 2. It

was observed from XRD documents that three peaks which compatible with the American Society for Testing and Materials (ASTM) standard along (110), (101) and (211) which indicated the films are polycrystalline in nature and the deposited films have tetragonal (rutile) structure irrespective of molarity of precursor in the solution and substrate temperature.

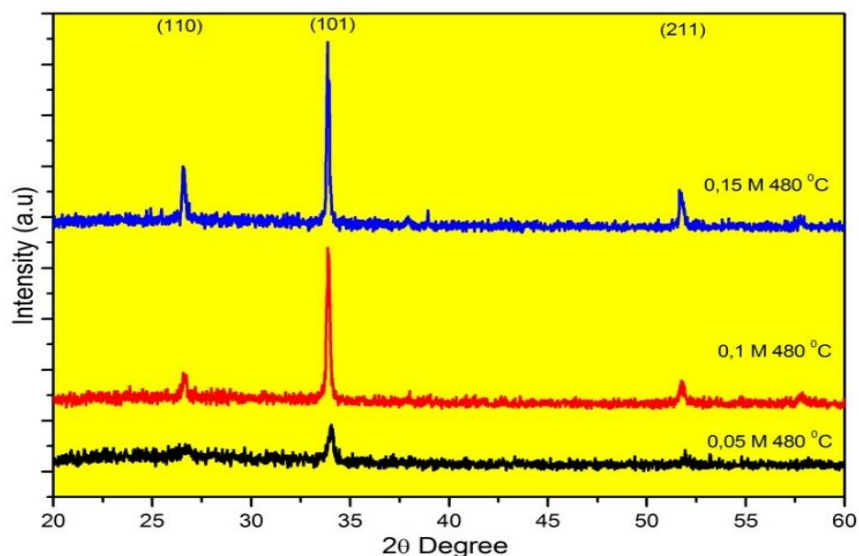


Figure1. The XRD spectra of samples prepared at different molarity and 480 °C substrate temperature

But, the (101) plane was preferential orientation for the deposited films. Any peaks of impurities have not seen. It was found that as molar concentration and substrate temperatures increase intensities of the all peaks increase. But,

intensity of the (101) plane for thin films prepared at 520 °C is higher than 480 °C. The best optimum properties come into the open to thin films sprayed with 0.15 M and at 520 °C.

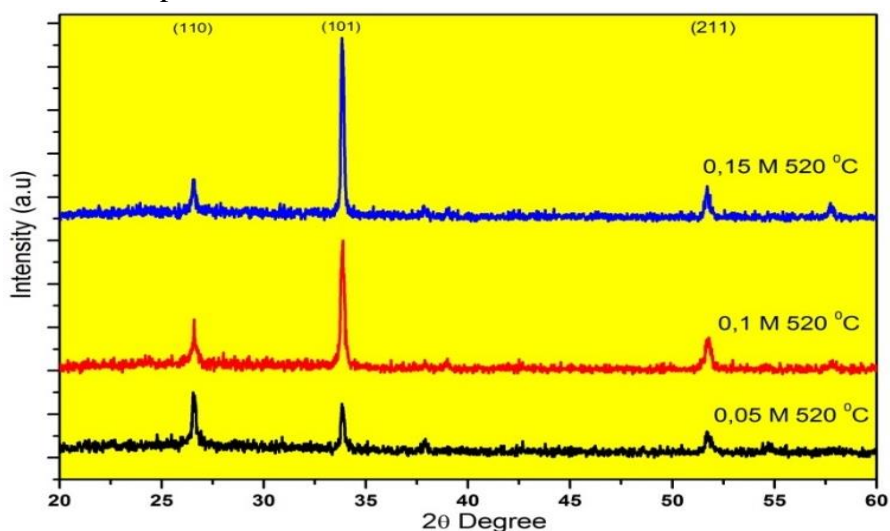


Figure2. The XRD spectra of samples prepared at different molarity and 520 °C substrate temperature

Also, The XRD spectra of samples deposited as a function of substrate temperatures and precursor solution concentrations can be seen in Figure 3. Structural parameters for all samples along each crystallographic plane were summarized in Table 1. The grain size (D) of these $\text{SnO}_2\text{:Sb:F}$ thin films is estimated using

Debye-Scherrer's formula (Vikraman et al., 2016), $D=0.9\lambda/(\beta\cos\theta)$ where λ is the X-ray wavelength ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$), β is the broadening of diffraction line measured at half its maximum intensity in radians (FWHM) and θ is the Bragg angle.

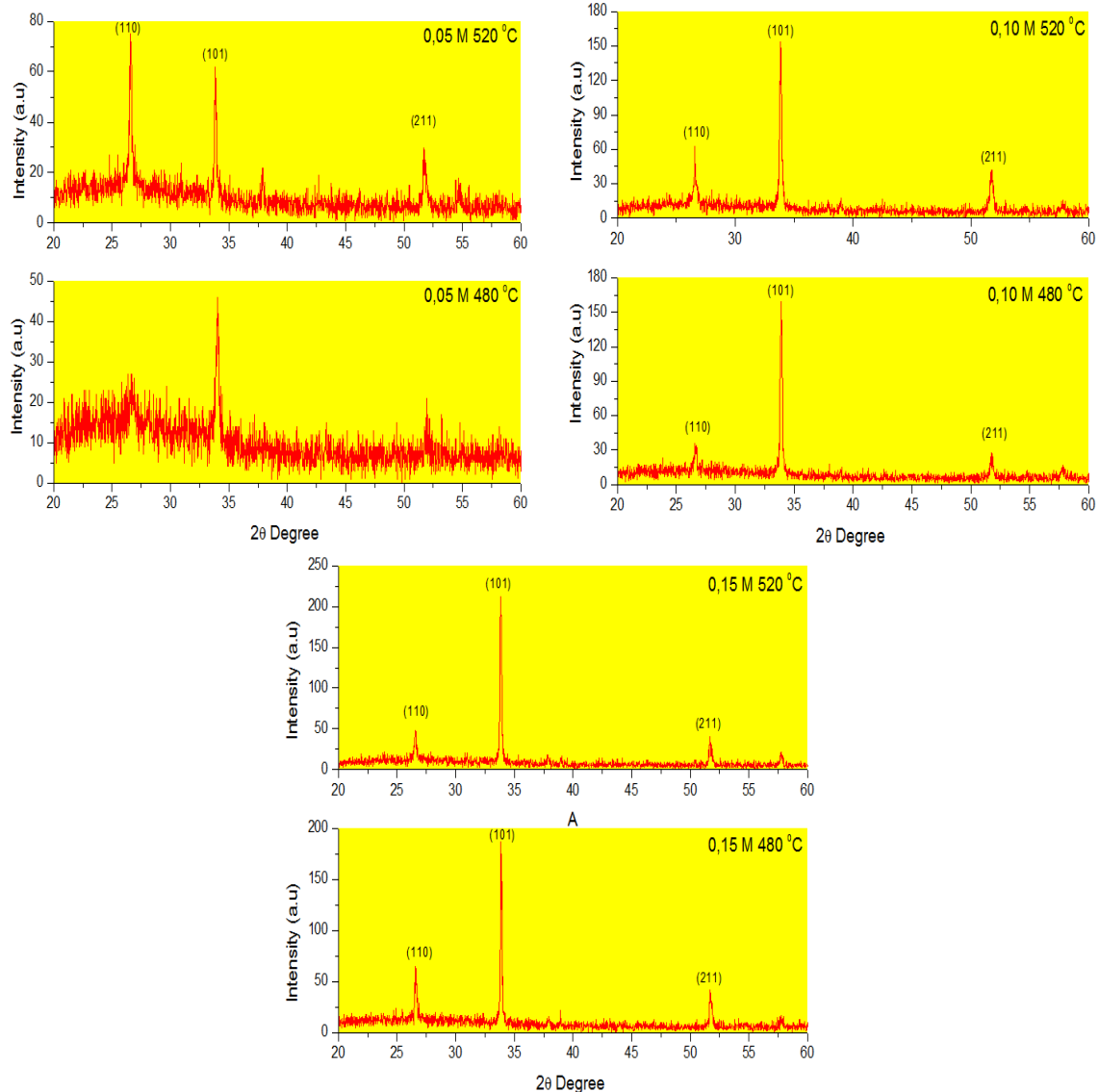


Figure3. The XRD spectra of samples prepared at different substrate temperature and molarity

The interplaner distance (d) for each samples calculated from XRD results by using Bragg's law; ($n\lambda=2d\sin\Phi$). As the films have rutile structures, the lattice constants are calculated using $(1/d^2)=\{[(h^2+k^2)/a^2]+(l^2/c^2)$ equation (Wohlmuth and Adesida, 2015); The

calculated ($a=b$) and (c) values are compatible with the JCPDS Card No: 71-0652 Quality C. In this study, dislocation density (δ) was determined using (Ravichandran et al., 2009); $\delta=1/D^2$.

Table 1. The structural parameters of samples prepared at different molarity and substrate temperature

Samples	(hkl)	2 θ (°)	d _{std} (Å)	d _{cal} (Å)	FWHM(°)	D(nm)	δ (lines m ⁻²)
0.05 M 480 °C	110	-	3.35	-	-	-	-
	101	34.12	2.644	2.629	0.07998	104	9.25E+13
	211	51.87	1.764	.763	-	-	-
0.05 M 520 °C	110	26.58	3.35	3.355	0.14578	57	3.07E+14
	101	33.86	2.644	2.648	0.20904	39.8	6.32E+14
	211	51.68	1.764	1.769	0.13331	62.4	2.57E+14
0.10 M 480 °C	110	26.54	3.35	3.360	0.07581	110	8.30E+13
	101	33.82	2.369	2.652	0.20889	39.8	6.31E+14
	211	51.68	1.764	1.769	0.12	63.9	2.08E+14
0.10 M 520 °C	110	26.72	3.35	3.337	0.05651	147	4.62E+13
	101	33.86	2.644	2.648	0.07444	112	8.01E+13
	211	51.66	1.764	1.777	0.05424	153	4.25E+13
0.15 M 480 °C	110	26.72	3.35	3.337	0.10746	77.4	1.67E+14
	101	33.88	2.644	2.647	0.20652	40.3	6.17E+14
	211	51.68	1.764	1.769	-	-	-
0.15 M 520 °C	110	26.54	3.35	3.36	0.21664	38.4	6.79E+14
	101	33.82	2.644	2.652	0.16509	50.4	3.94E+14
	211	51.68	1.764	1.769	-	-	-

(hkl) miller indices, 2 θ -The Diffraction Angle, FWHM-Full width at half maximum, d-interplaner distance, D-Grain size, δ -Dislocation density, cal: calculation and std: standard

It was shown at Table 1 that the grain size values changed and improved depending on substrate temperature and molarity. For 480 °C opposite to 520 °C, grain size of films decreased while molarity increased. For the best thin films at 520 °C, grain size is higher than 480 °C. On the other hand, dislocation density is lower than 480 °C. At lower temperatures, the situation is reversed.

In Table 2. It was found that lattice constants (a and c) were not affected much with substrate temperature and concentration. It was concluded that precursor concentration and temperature is the most important process parameter controlling film structural properties in thin films (Yuwono et al., 2017).

Table 2. Lattices parameters (a and c) of samples prepared at different molarity and substrate temperature

Molarity	T _{substrate}	(hkl)	d _{std} (Å)	d _{cal} (Å)	a _{std} =b _{std} (Å)	a _{cal} =b _{cal} (Å)	c _{std} (Å)	c _{cal} (Å)
0.05 M	480 °C	101	2.644	2.629	4.738	4.755	3.187	3.153
	520 °C	101	2.644	2.652	4.738	4.751	3.187	3.196
0.10 M	480 °C	101	2.644	2.647	4.738	4.719	3.187	3.197
	520 °C	101	2.644	2.648	4.738	4.745	3.187	3.191
0.15 M	480 °C	101	2.644	2.648	4.738	4.719	3.187	3.197
	520 °C	101	2.644	2.652	4.738	4.751	3.187	3.191

(hkl) miller indices, d-interplaner distance, a, b and c lattice constants, cal: calculation and std: standard

Comparing of Optical Properties

The Optical Properties of SnO₂:Sb:F thin films are investigated at RT. It was shown that the optical transmittance spectra for these thin

films deposited at different substrate temperature and concentration at 300–1000 nm wavelength in Figure 4.

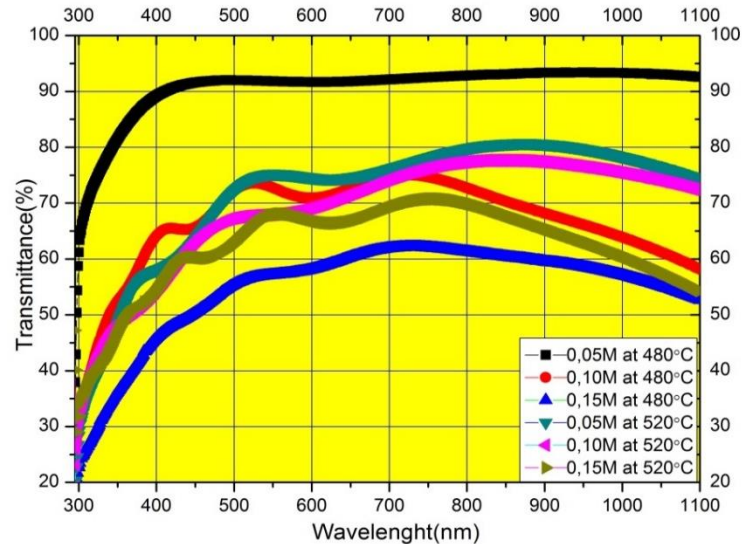


Figure 4. Optical transmittance value versus wavelength of samples prepared at different molarity and substrate temperature

It is understood from UV spectra that all samples have a transmittance of more than 60% in visible region. As the molarity increased, transmittance of films decreased due to thickness while temperature is stable. But, in the case of solution concentration is not being changed, transmittance of films at 520 °C is higher than 480 °C at higher temperature because of good crystalline. Therefore, optical properties of the

thin films are depending to temperature and solution molarity. A sudden increase at 480 °C, 0,05 M cannot be understood.

The optical energy gap (E_g) of these thin films can be calculated from the allowed direct transition given by Tauc's equation $\alpha h\nu = B(h\nu - E_g)^n$ (Kumar et al., 2017); where α is an absorption coefficient, h is Planck's constant, ν is the photon frequency and B is a constant.

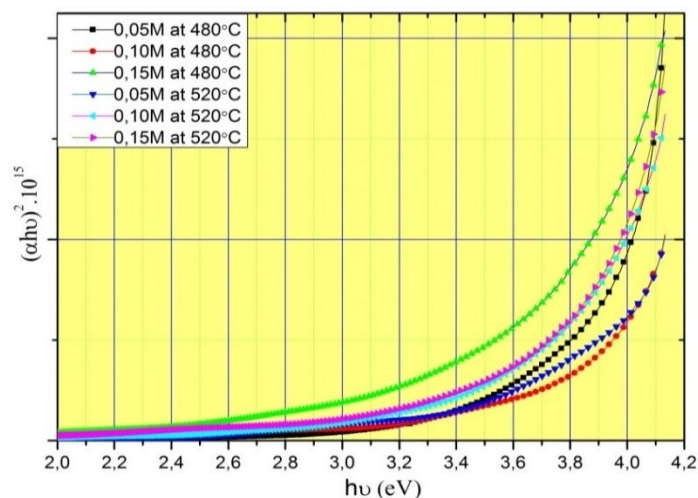


Figure 5. Tauc's Plots of samples prepared at different molarity and substrate temperature

Table 3. The T and E_g values of samples prepared at different molarity and substrate temperature

Samples	T _{average} (%) at 700 nm	E _g (eV)
480 °C 0.05 M	92.13	3.95
480 °C 0.10 M	74.85	3.85
480 °C 0.15 M	61.90	3.74
520 °C 0.05 M	76.16	3.89
520 °C 0.10 M	74.00	3.84
520 °C 0.15 M	69.12	3.78

The optical band gap values determined by extrapolating the linear curve that intercepts the energy axis (Kumar et al., 2017) were presented in Table 3 and drawn at Figure 5. It is observed that SnO₂:Sb:F thin films have wide optical band energy. Also E_g values for these thin films were decreased with an increase in molarity. The reduction in band gap can be due to the presence of unstructured defects, which could increase the localized states of density in the band gap, thus decreasing the energy gap (Kumar et al., 2017; El-Zahed et al., 2002). As substrate temperature is increased, E_g values at 520 °C, 0.15M are higher than 480 °C well-adjusted with XRD results.

Comparing of SEM Surface Morphologic Analysis

The study of surface morphology of SnO₂:Sb:F thin films sprayed at different concentration and substrate temperature by using spray pyrolysis method has been carried out. Figure 6 are pictures displaying that surface morphologies of these thin films are strongly interrelated to the solution molarity and substrate temperature. The SEM images revealed that nanocrystalline particles covered all substrate surfaces irrespective of temperature and molarity and surface morphology is uniform and homogenous. However, it has been observed that the voids and clusters of particles in film surfaces produced at low temperatures have been

reduced when the temperature and concentration which greatly affects the quality of the film are increasing.

Comparing of AFM Topographic Analysis

The AFM topographic study of these thin films was characterized by a NT-MDT AFM Microscope. Respectively, Figure 7 and Figure 8 show the 2-D and 3-D AFM images of SnO₂:Sb:F thin films deposited as a function of substrate temperatures and precursor solution concentrations. The AFM images exhibited that the prepared thin films are to be made of nanocrystalline particles, uniform, homogeneous almost all surfaces. Some of grains are like human oral teeth, another one is ice cream cone or conical shape shaped grains. The AFM images (both) clearly show that the grains are larger for thin films at 520 °C when compared with 480 °C. When temperature and molarity increased, a regular structure was obtained. These observations strongly support the results obtained from the XRD data (Table 1). The size of the grains is equal with calculated from the XRD data. On the other hand, if solution molarity is increasing, the intergranular spacing is diminishing. Some overgrown grains seem to be stacked at certain favorable sites for thin films at 520 °C and 0.10 M which confirmed SEM graph and RMS value. Such a variation in grain size values has been reported by several researchers (Moholkar et al., 2008a, 2008b); Ikhmayies and Ahmad-Bitar, 2012).

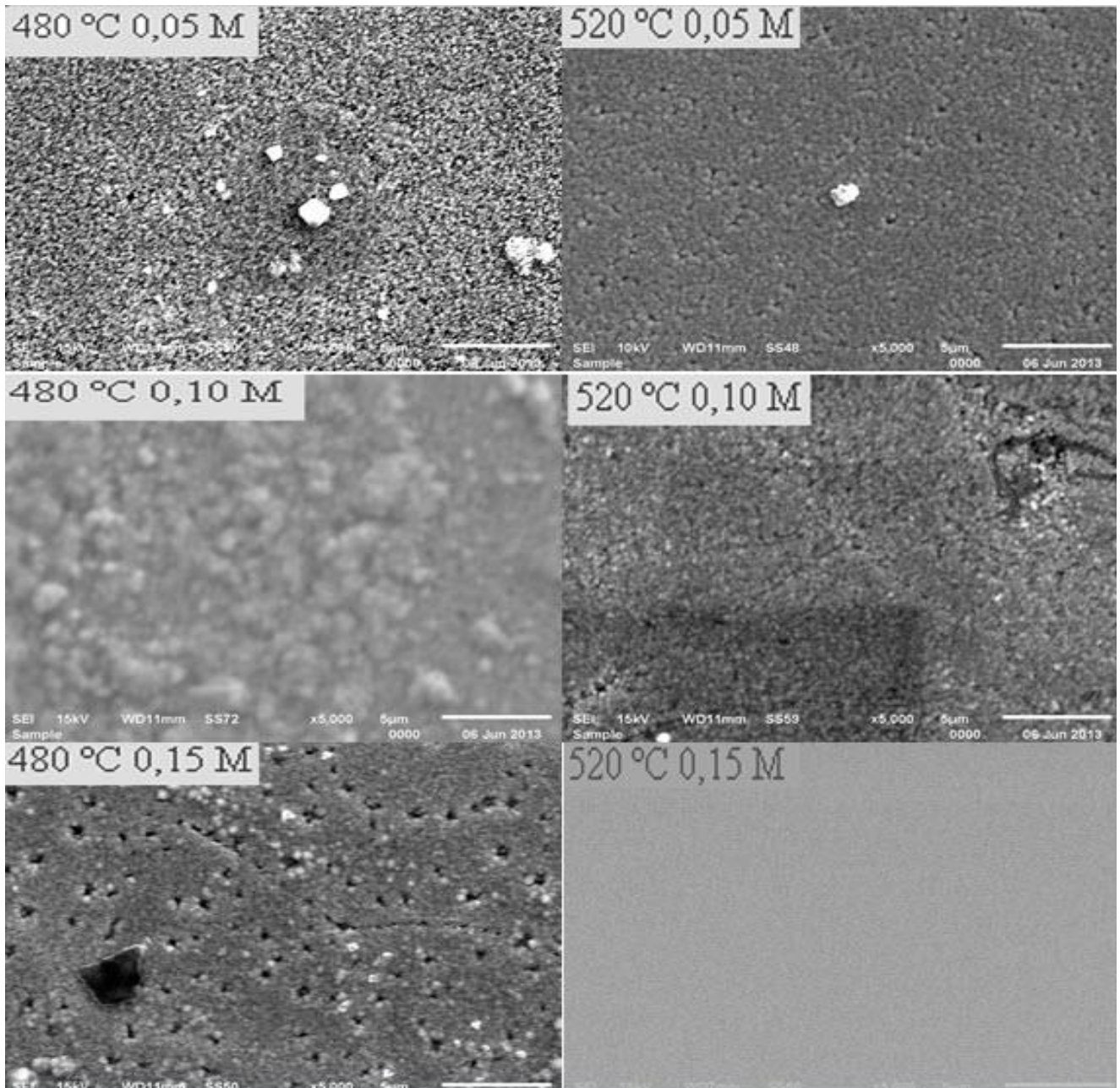


Figure 6. SEM images of samples prepared at different molarity and substrate temperature

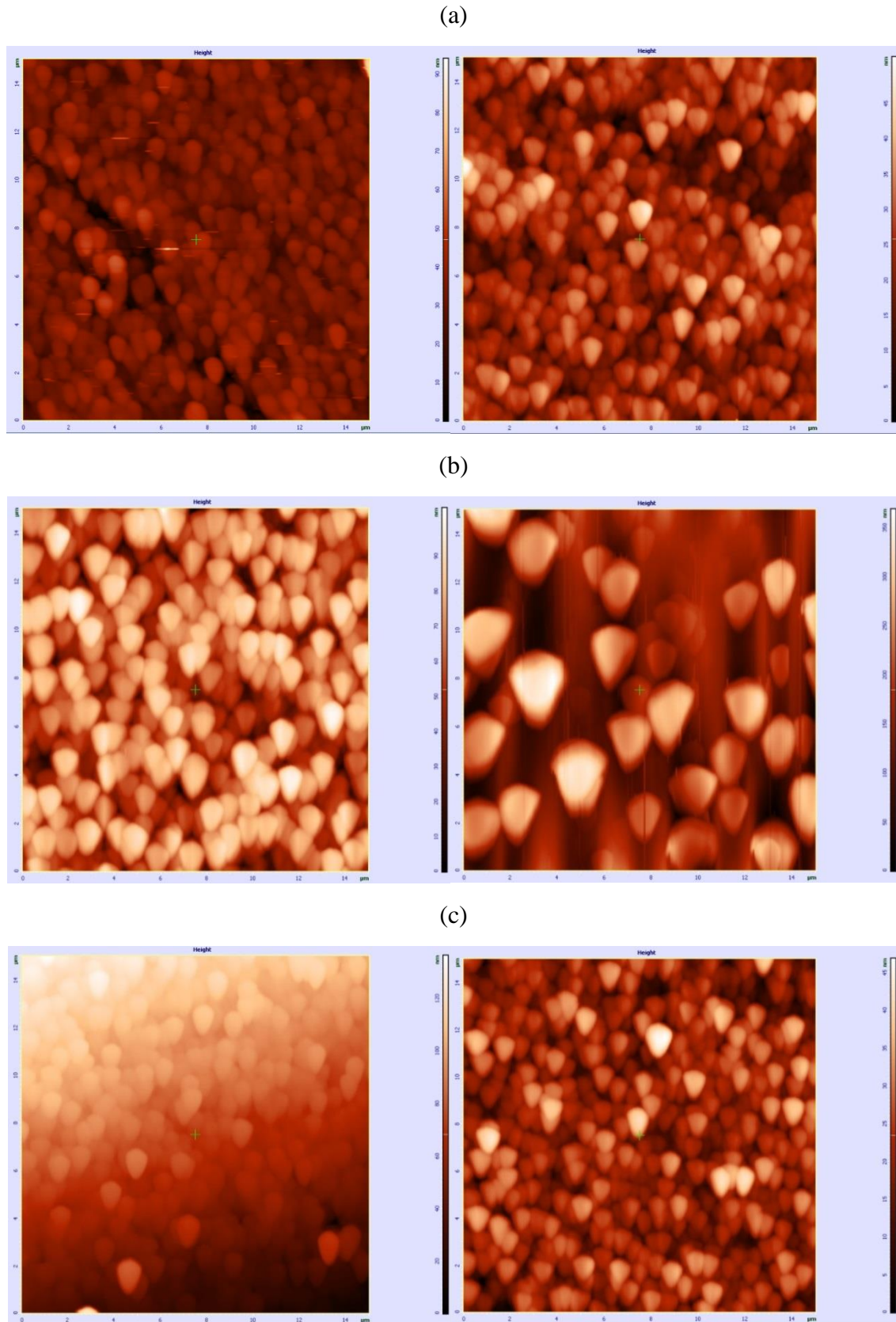


Figure 7. 2-Dimension AFM images of samples prepared at different molarity and substrate temperature (a) 0.05 M (b) 0.10 M and (c) 0.15 M at 480 °C (left) and 520 °C (right) substrate temperature

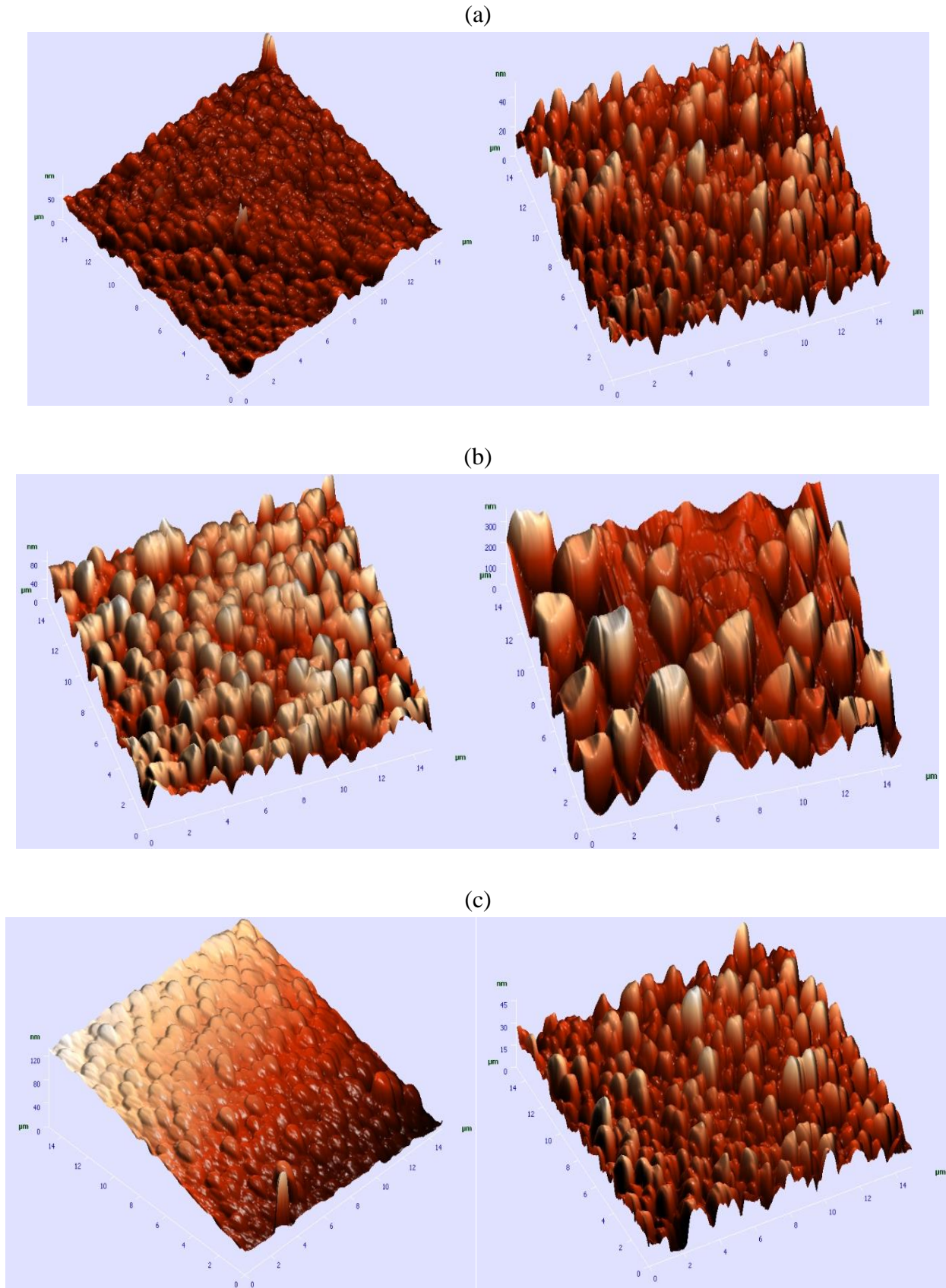


Figure 8. 3-Dimension AFM images of samples prepared at different molarity and substrate temperature (a) 0.05 M (b) 0.10 M and (c) 0.15 M at 480 °C (left) and 520 °C (right) substrate temperature

The values of surface RMS (Root mean square roughness) depended on substrate

temperature and molarity are seen in Table 4.

Table 4. The RMS values of samples prepared at different molarity and substrate temperature

Solution Molarity	RMS (nm) at 480 °C	RMS (nm) at 520 °C
0.05 M	22.5383 nm	7.83088 nm
0.10 M	14.2396 nm	65.9065 nm
0.15 M	17.3141 nm	9.65524 nm

CONCLUSION

Antimony (Sb) and Fluorine (F) doped tin oxide thin films ($\text{SnO}_2\text{:Sb:F}$) were deposited successfully on the glass substrate by spray pyrolysis technique at different solution molarities and different substrate temperatures and their properties compared. XRD results clearly revealed that the prepared films were polycrystalline with tetragonal (rutile) structure irrespective of molarity of precursor in the solution and substrate temperature and thin films had three peaks along (110), (101) and (211). SEM and AFM images demonstrated homogeneous along almost all surfaces and some grains are like human oral teeth, another one is ice cream cone or conical shaped grains. The AFM images clearly show that the grains are larger for thin films at 520 °C when compared with 480 °C. E_g values changed 3.74-3.95 eV. Each film has a transmittance of more than 60% in visible region. As the molarity increased, transmittance of films decreased due to thickness while temperature is stable. It is found that the best optimum property was found at thin films (0.15 M) prepared with at 520 °C. Finally, it was understood from results that substrate temperature and solution molarity is necessary for making thin film with good atomization and optimum properties and for materials to be used on optic and electric applications area.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank for support to The Council of Higher Education and Atatürk University Scientific Research Projects (2011/218) Centre Turkey.

REFERENCES

- Battal A, Tatar D, Kocyigit A, Duzgun B, 2015. *Materials Focus*, 4: 445-456.
- Carvalho DHQ, Schiavon MA, Raposo MT, de Paiva R, Alves JLA, Paniago RM, Speziali NL, Ferlauto AS, Ardisson JD, 2012. *15th Brazilian Workshop on Semiconductor Physics*, 28: 22-27.
- El-Zahed H, El-Korashy A, Rahem MA, 2002. *Vacuum*, 68: 19-27.
- Huang H, Ng MH, Wu YL, Kong LB, 2015. *Materials & Design*, 88: 384-389.
- Ikhmayies, S.J. and Ahmad-Bitar, R.N., 2012. Using HF rather than NH_4F as doping source for spray-deposited $\text{SnO}_2\text{:F}$ thin films. *Journal of Central South University of Technology*, 19, 791-796.
- Kadhim IH, Abu Hassan H, 2017. *Journal of Electronic Materials*, 46: 1419-1426.
- Kou XY, Xie N, Chen F, Wang TS, Guo LL, Wang C, Wang QJ, J Ma, Sun YF, Zhang H, Lu GY, 2018. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 256: 861-869.

- Kumar KDA, Valanarasu S, Jeyadheepan K, Kim H-S, Vikraman D, 2017. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 29: 3648-3656.
- Liu, XZ, Ning, HL, Chen, WF, Fang, ZQ, Yao, RH, Wang, XF, Deng, YX, Yuan, WJ, Wu, WJ, Peng, JB, 2018. *Nanomaterials*, 8: 293-307.
- Martin EJJ, Yan M, Lane M, Ireland J, Kannewurf CR, Chang RPH, 2004. *Thin Solid Films*, 461: 309-315.
- Moholkar, A.V., Pawar, S.M., Rajpure, K.Y. and Bhosale, C.H., 2008a. Effect of concentration of SnCl₄ on sprayed fluorine doped tin oxide thin films. *Journal of Alloys and Compounds*, 455, 440-446.
- Moholkar, A.V., Pawar, S.M., Rajpure, K.Y., Almaric, S.N., Patil, P.S. and Bhosale, C.H., 2008b. Solvent-dependent growth of sprayed FTO thin films with mat-like morphology. *Solar Energy Material Solar Cells*. 92, 1439-1444.
- Musyaro'ah, IH, Indayani W, Gunawan B, Yudhoyono G, Endarko, 2017. *International Conference on Engineering, Science and Nanotechnology*, 2016. (Icesnano 2016), 1788.
- Priyadarshini DM, Mannam R, Rao MSR, DasGupta N, 2017. *Applied Surface Science*, 418: 414-417.
- Ravichandran K, Muruganatham G, Sakthivel B, Philominathan P, 2009. *Journal of Ovonic Research*, 5: 63-69.
- Ravichandran K, Muruganatham G, Saravanakumar K, Karnan S, Kannan B, Chandramohan R, Sakthivel B, 2009. *Surface Engineering*, 25: 82-87.
- Tripathi A, Shukla RK, 2014. *Bulletin of Materials Science*, 37: 417-423.
- Vazquez-Arreguin, R, Aguilar-Frutis, M, Falcony-Guajardo, C, Castaneda-Galvan, A, Mariscal-Becerra, L, Gallardo-Hernandez, S, Alarcon-Flores, G, Garcia-Rocha, M, 2016. *ECS Journal of Solid State Science And Technology*, 5: 3, Q101- Q 107.
- Vikraman D, Park HJ, Kim SI, Thaiyan M, 2016. *Journal of Alloys and Compounds*, 686: 616-627.
- Wohlmuth W, Adesida I, *Thin Solid Films*, 2015. 479: 223-231.
- Yusoff, ARBM, Gavim, AEX, Macedo, AG, da Silva, WJ, Schneider, FK, Teridi, MAM, 2018. *Materials Today Chemistry*, 10: 104-111.
- Yuwono AH, Arini T, Lalasari LH, Sofyan N, Ramahdita G, Nararya A, Firdiyono F, Andriyah L, Subhan A, 2017. *International Journal of Technology*, 8: 1336.
- Zhu BL, Liu F, Li K, Lv K, Wu J, Gan ZH, Liu J, Zeng DW, Xie CS, 2017. *Ceramics International*, 43: 10288-10298.

Structural, Spectroscopic (FT-IR, Raman, NMR and UV-Vis.) and Computational Studies on N-phenylpropanamide

Nuri ÖZTÜRK^{1*}, Halil GÖKCE², Gökhan ALPASLAN², Yelda BİNGÖL ALPASLAN³, Can ALAŞALVAR⁴

ABSTRACT: Structural, vibrational, magnetic and electronic properties of N-phenylpropanamide were analyzed experimentally and theoretically. The molecular geometry optimization parameters, vibrational wavenumbers, proton and carbon NMR chemical shifts, frontier molecular orbitals and UV-Vis. wavelengths were computed with DFT/B3LYP method at the 6-311+G(d,p) basis set to compare the experimental data obtained from the literature. Calculated harmonic vibrational wavenumber assignments were obtained from the potential energy distribution (PED) analysis. Considering that the N-H...O intermolecular hydrogen bond interaction in crystal packing of N-phenylpropanamide may exist, molecular structure parameters and vibration frequencies of these groups in this interaction were investigated. UV-Vis. electronic absorption parameters, HOMO-LUMO analyses and molecular electrostatic potential (MEP) surface of N-phenylpropanamide were studied to explicate electronic transitions, intramolecular charge transfer and interaction sites in the molecule.

Keywords: N-phenylpropanamide, UV-Vis., NMR, DFT, FT-IR, Raman

¹Nuri ÖZTÜRK (Orcid ID: 0000-0001-8742-0160), Giresun University, Dereli Vocational School, Giresun, Turkey

²Halil GÖKCE (Orcid ID: 0000-0003-2258-859X), ²Gökhan ALPASLAN (Orcid ID: 0000-0002-7982-3266), Giresun University, Vocational School of Health Services, Giresun, Turkey

³Yelda BİNGÖL ALPASLAN (Orcid ID: 0000-0002-1629-6016), Giresun University, Faculty of Arts and Sciences, Giresun, Turkey

⁴Can ALAŞALVAR (Orcid ID: 0000-0003-0995-4188), Giresun University, Vocational Schools of Technical Sciences, Giresun, Turkey

*Corresponding author: Nuri ÖZTÜRK, e-mail: nuri.ozturk@giresun.edu.tr

*The article was presented as a poster at the 1st International Technology Sciences and Design Symposium held in Giresun on 27-29 June 2018.

INTRODUCTION

The phenylamides are highly active class of fungicides controlling plant pathogens. Plant phenylamides are similar with phenylamides in insect toxins (Adreva et al., 2007). Herbicidal activity and experimental structure analyses of the bioactive compound phenylamide derivative N-phenylpropanamide were investigated by (Priyadharsini et al., 2013). They concluded that the efficacy of the N-phenylpropanamide against the weeds had been found to be better than other synthetic chemicals. Klees et al. studied about the alfentanil metabolism to N-phenylpropanamide and noralfentanil determined in human livers (Klees et al., 2005). There are many studies about the different synthesis methods of N-phenylpropanamide in literature (Watanabe et al., 1984; Liu et al., 2011; Na, 2011; Nowrouzi and Jonaghani, 2012; Diab et al., 2017). Watanabe et al. reported that a catalytic system for the synthesis of N-substituted amides in their work on nitro compounds reacted with carboxylic acids. They used nitrobenzene and propionic acid to synthesize of N-phenylpropanamide (Watanabe et al., 1984). As another example, the synthesis of N-phenylpropanamide was performed by the reaction of aniline and acryloyl chloride in dry benzene by Diab et al., 2017.

The quantum chemical calculations have been commonly used to identify the structural parameters, vibrational frequencies (IR and Raman), NMR chemical shifts and electronic features (UV-Vis., HOMO, LUMO and MEP) of molecular systems. In addition, quantum chemical calculations provide strong support for experimental studies. Although it is known that the biological importance of N-phenylpropanamide, detailed structural, spectroscopic and electronic studies are not available in the literature, except for NMR studies. The purpose of this study is to present the experimental and theoretical investigations of structural analysis, vibrational frequencies, proton and carbon-13 NMR chemical shifts and electronic (UV-Vis. and HOMO-LUMO) features of N-phenylpropanamide.

MATERIALS AND METHODS

Computational Methods

The geometry optimization, vibrational wavenumbers, ^1H and ^{13}C NMR chemical shifts (in chloroform), UV-Vis. spectroscopic parameters (in chloroform) and HOMO-LUMO analyses of N-phenylpropanamide were computed using the Gaussian 09W program package (Frisch et al., 2009). The visualizations of calculated results were carried out by GaussView 5.0 program (Dennington et al., 2009). In all computations, we were used DFT/B3LYP method with the 6-311+G(d,p) basis set (Lee et al., 1988; Becke, 1993).

The vibrational (IR and Raman) wavenumbers were computed based on the optimized structure of compound in the gas phase. The harmonic vibrational wavenumbers obtained by calculating by B3LYP/6-311+G(d,p) level were scaled with 0.9613 (Anderson and Uvdal, 2005). The vibrational band assignments were performed in terms of PED (potential energy distribution) using VEDA 4 program (Jamr'oz, 2004). For ^1H and ^{13}C NMR isotropic chemical shifts (in chloroform) and UV-Vis. parameters calculations (in chloroform), the optimized molecular geometry of N-phenylpropanamide was obtained at the B3LYP/6-311+G(d,p) level using IEFPCM method (Miertus et al., 1981). Then, NMR chemical shifts of N-phenylpropanamide were computed at mentioned level, model and solvent with GIAO approach (London, 1937; Ditchfield, 1974; Wolinski et al., 1990). Additionally, UV-Vis. parameters of the N-phenylpropanamide molecule were calculated using aforementioned computational level, solvent model, solvent and time dependent DFT (TD-DFT) method (Runge and Gross). HOMO and LUMO (the frontier molecular orbitals) analyses were simulated using B3LYP/6-311+G(d,p) level to determine charge transfers and electronic transitions in compound. The molecular electrostatic potential (MEP) map was imitated using the optimized molecular geometry of the N-phenylpropanamide molecule.

RESULTS AND DISCUSSION

Molecular Structure Analysis

Since we do not have experimental data, only the calculated bond lengths and bond angles obtained with the B3LYP/6-311+G(d,p) level in gas phase of the title molecule were listed in Table 1. The optimized molecular structures of compound was given in Figure 1. The carbonyl bond length (C5=O1) was computed as 1.218 Å (1.227 Å under effect of the N-H...O intermolecular hydrogen bond interaction). The

N2-C3 and N2-C5 bond lengths were computed at 1.413 Å and 1.378 Å as theoretically, respectively. The C4-C5 and C4-C8 bond length in the ethylene group were computed as 1.528 Å and 1.529 Å, respectively. The C-C bond lengths were calculated at the intervals of 1.390-1.403 Å in phenyl ring. On the other hand, N-H bond length in amide group was calculated as 1.009 Å. The C-H bond lengths for ethyl group were calculated at the intervals of 1.091-1.097 Å while calculated at the interval of 1.079-1.086 Å in phenyl ring.

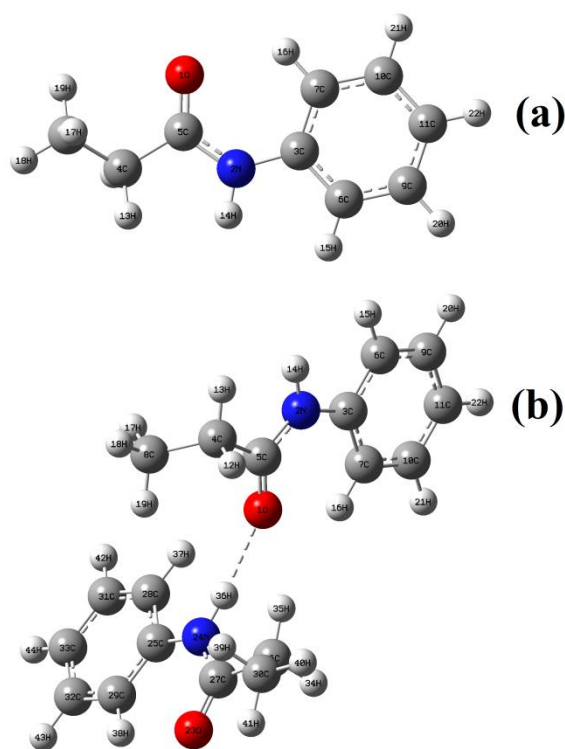


Figure 1. The optimized molecular structures (a=for isolated gas phase and b=in presence of N-H...O interaction) of N-phenylpropanamide.

In the literature, the C5=O1, C3-N2, C5-N2, C4-C5, C4-C8 and CC (in phenyl ring) bond lengths in 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-N-phenylpropanamide molecule were reported as 1.236(2), 1.420(3), 1.340(2), 1.512(3), 1.534(3) and 1.371(3)-1.390(3) Å, respectively (Mierina et al., 2016).

The angles containing the carbonyl group, O1-C5-C4 and O1-C5-N2 were calculated as

122.2° and 123.8°, respectively. The reason of the Coulombic forces between the ethyl and phenyl groups, the C3-N2-C5 bond angle increased to 129.5°. The N2-C5-C4 bond angle was calculated as 114.0° while N2-C3-C6 and N2-C3-C7 bond angles were calculated as 117.2° and 123.4°, respectively. Additionally, the amide tail bond angle C5-C4-C8 was calculated as 112.5° while C-C-C bond angles were computed at the interval of 119.1°-121.4°

in phenyl ring. As a result of optimization, the title molecule has deviation from plane. The C7-C3-N2-C5 and C2-N2-C5-C4 dihedral angles were calculated as 1.2° and 175.9°, whereas the N2-C5-C4-C8 torsion angle was computed as 148.6°. Similarly, in the literature, the C3-N2-C5, O1-C5-N2, O1-C5-C4, C5-C4-C8, C6-C3-N2 and N2-C5-C4 bond angles in 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-N-phenylpropanamide molecule were recorded as 126.8(2)°, 121.9(2)°, 121.7(2)°, 115.2(2)°, 117.8(2)° and 116.4(2)°,

respectively (Mierina et al., 2016).

The N-H \cdots O intermolecular hydrogen bond interaction may exist in crystal packing of the title molecule. In this connection, molecular structure computations for this interaction were performed and its molecular geometry was given in Figure 1(b). The N-H \cdots O intermolecular hydrogen bond parameters were computed 1.016 Å for N-H bond length, 2.020 Å for H \cdots O distance, 3.034 Å for N \cdots O distance and 175.0° for N-H \cdots O bond angle.

Table 1. The computed molecular geometry parameters of N-phenylpropanamide.

Bond lengths (Å)	Calc.	Bond angles (°)	Calc.	Bond angles (°)	Calc.
O1-C5	1.218	O1-C5-N2	123.8	C6-C3-C7	119.4
N2-C3	1.413	O1-C5-C4	122.2	C6-C9-H20	119.5
N2-C5	1.378	N2-C3-C6	117.2	C6-C9-C11	120.2
N2-H14	1.009	N2-C3-C7	123.4	C7-C10-C11	121.4
C3-C6	1.403	N2-C5-C4	114.0	C7-C10-H21	118.8
C3-C7	1.401	C3-N2-C5	129.5	C8-C4-H12	109.8
C4-C5	1.528	C3-N2-H14	114.7	C8-C4-H13	110.7
C4-C8	1.529	C3-C6-C9	120.6	C9-C6-H15	119.8
C4-H12	1.097	C3-C6-H15	119.7	C9-C11-C10	119.1
C4-H13	1.095	C3-C7-C10	119.3	C9-C11-H22	120.4
C6-C9	1.390	C3-C7-H16	119.6	C10-C7-H16	121.0
C6-H15	1.086	C4-C8-H17	111.1	C10-C11-H22	120.5
C7-C10	1.394	C4-C8-H18	110.5	C11-C9-H20	120.3
C7-H16	1.079	C4-C8-H19	110.4	C11-C10-H21	119.9
C8-H17	1.093	C5-C4-C8	112.5	H12-C4-H13	106.4
C8-H18	1.093	C5-C4-H12	106.5	H17-C8-H18	108.2
C8-H19	1.091	C5-C4-H13	110.6	H17-C8-H19	107.8
C9-C11	1.394	C5-N2-H14	115.7	H18-C8-H19	108.7
C9-H20	1.084				
C10-C11	1.393				
C10-H21	1.084				
C11-H22	1.084				

Vibrational Frequencies Analysis

N-phenylpropanamide (C₉H₁₁NO) has 22 atoms and 60 (3N-6) vibrational modes. The vibrational assignments, experimental frequencies and calculated vibrational wavenumbers, IR intensities and Raman scattering activities of N-phenylpropanamide were listed in Table 2. The vibrational parameters were calculated with the B3LYP/6-311+G(d,p) level. The simulated and experimental IR (Bio-Rad, 2018) and Raman (AIST, 2018) spectra were given in Figures 2 and 3, respectively. The NH stretching

vibrational mode was observed at 3240 cm⁻¹ in IR and 3295 cm⁻¹ in Raman spectrum while computed at 3477 cm⁻¹ with 100% contribution of PED (Colthup et al., 1964; Bellamy, 1975; Silverstein and Webster, 1998; Stuart, 2004). The NH stretching mode was computed at 3374 cm⁻¹ due to the N-H \cdots O intermolecular hydrogen bond interaction in crystal packing (Bilkan, 2019). Moreover, NH in-plane bending vibration was observed at 1597, 1548 and 1197 cm⁻¹ in IR and 1557, 1501 and 1205 cm⁻¹ in Raman spectrum of N-phenylpropanamide while computed at 1570, 1494 and 1210 cm⁻¹, Raman

spectrum of N-phenylpropanamide while computed at 1570, 1494 and 1210 cm^{-1} , respectively. As expected the aromatic ring CH stretching vibrations were observed at interval of 3178-3027 cm^{-1} both IR and Raman spectra while calculated in the interval at 3118-3026 cm^{-1} . The observed peaks at 2965 and 2920 cm^{-1} in the IR spectrum and the peaks in the interval of 2975-2880 cm^{-1} in the Raman spectrum were assigned to the symmetric and asymmetric CH stretching modes of ethyl group which were calculated in the interval of 3002-2899 cm^{-1} . The scissoring modes of methylene and methyl groups were found at 1445, 1418 and 1370 cm^{-1} in IR spectrum, 1458, 1445, 1418 and 1374 cm^{-1} in Raman spectrum and 1448, 1437, 1412, 1407 and 1358 cm^{-1} with the B3LYP/6-311+G(d,p) level. The experimental peak at 1655 (IR)/1686 (R), calculated at 1685 cm^{-1} with 80% contribution of PED, was assigned to

significant C=O stretching vibration (Colthup et al., 1964; Öztürk et al., 2018; Yıldırım, 2018). Additionally, the C=O stretching vibration was calculated at 1652 cm^{-1} due to presence of the N-H \cdots O intermolecular hydrogen bond interaction in crystal packing (Bilkan, 2017). The CN stretching vibrational mode of N-phenylpropanamide compound was observed at 1548 and 1197 cm^{-1} in IR spectrum and 1501, 1205 and 1162 cm^{-1} in Raman spectrum while they were calculated at 1494, 1210 and 1147 cm^{-1} with 15, 27 and 25% contributions of PED, respectively. Aromatic skeletal stretching vibrations observed at 1607/1597 cm^{-1} and 1606/1557 cm^{-1} in the experimental IR/Raman spectrum were computed at 1494 cm^{-1} and 1467 cm^{-1} . The other stretching, torsion, in-plane and out-of-plane bending stretching vibration modes of the N-phenylpropanamide were listed in Table 2.

Table 2. Vibrational wavenumbers and their assignments of N-phenylpropanamide.

Assignments (PED%)	Exp. (cm^{-1})		B3LYP/6-311+G(d,p)		
	IR	Raman	Calc.	I _{IR}	S _{Raman}
v(N2-H14)(100)	3240	3295	3477	19.32	84.71
v(C6-H15)(20)+v(C7-H16)(21)+v(C9-H20)(29)+v(C10-H21)(30)	3178	3095	3118	5.28	47.58
v(C6-H15)(16)+v(C10-H21)(23)+v(C11-H22)(58)	3121	-	3068	16.44	264.04
v(C7-H16)(35)+v(C9-H20)(56)	3072	3069	3054	21.47	80.83
v(C6-H15)(20)+v(C10-H21)(34)+v(C11-H22)(36)	-	3054	3045	0.24	92.25
v(C6-H15)(43)+v(C7-H16)(35)+v(C9-H20)(12)	3027	-	3026	13.14	57.13
v(C8-H18)(12)+v(C8-H19)(79)	-	-	3002	14.10	41.87
v(C4-H13)(62)+v(C8-H17)(38)	2965	2975	2980	30.34	86.45
v(C4-H13)(36)+v(C8-H17)(54)	-	-	2931	18.61	70.64
v(C4-H12)(42)+v(C8-H18)(36)+v(C8-H19)(16)	2920	2915	2921	30.60	176.35
v(C4-H12)(49)+v(C8-H18)(47)	-	2880	2899	17.89	144.68
v(O1-C5)(80)	1655	1686	1685	212.31	57.62
v(C6-C9)(53)+ β (H15-C6-C9)(20)	1607	1606	1579	51.37	134.46
v(C7-C10)(13)+v(C9-C11)(16)+v(C3-C7)(24)+ β (C3-C7-C10)(11)+ β (H14-N2-C3)(12)	1597	1557	1570	42.55	4.49
v(C9-C11)(14)+v(N2-C5)(15)+ β (H14-N2-C3)(43)	1548	1501	1494	336.44	46.47
β (H21-C10-C11)(56)	1475	1482	1467	61.39	10.63
β (H13-C4-H12)(34)+ β (H17-C8-H19)(17)+ β (H18-C8-H17)(23)+ τ (H19-C8-C4-C5)(11)	1445	1458	1448	12.82	5.43
β (H17-C8-H19)(43)+ β (H18-C8-H17)(32)+ τ (H13-C4-C5-N2)(10)	-	1445	1437	9.22	8.98
β (H13-C4-H12)(26)+ β (H17-C8-H19)(13)+ β (H19-C8-H18)(22)	1418	1418	1412	29.93	7.03
β (H16-C7-C10)(14)+ β (H22-C11-C10)(16)	-	-	1407	103.29	14.65
β (H13-C4-H12)(13)+ β (H18-C8-H17)(11)+ β (H19-C8-H18)(69)	1370	1374	1358	5.95	1.97
β (H12-C4-C8)(15)+ τ (H13-C4-C5-N2)(34)	1312	-	1324	30.77	23.07
v(C7-C10)(31)+ β (H20-C9-C11)(45)+ β (H22-C11-C10)(11)	1304	1303	1304	1.14	5.72
v(C7-C10)(19)+v(C3-C7)(27)+v(N2-C5)(12)+ β (H20-C9-C11)(20)	1297	1257	1282	93.05	32.75
β (H12-C4-C8)(60)	1248	-	1240	6.53	3.60
v(N2-C5)(27)+ β (H14-N2-C3)(11)	1197	1205	1210	62.28	82.71
v(C6-C9)(15)+ β (H15-C6-C9)(72)	-	1176	1158	0.22	14.31
v(N2-C3)(25)+ τ (H13-C4-C5-N2)(10)	-	1162	1147	119.93	3.66
v(C7-C10)(16)+ β (H16-C7-C10)(39)+ β (H22-C11-C10)(32)	-	1154	1137	3.10	5.16
v(C9-C11)(43)+ β (H16-C7-C10)(23)+ β (H22-C11-C10)(16)	1069	1075	1069	10.54	1.45

$\beta(\text{C8-C4-C5})(11)+\tau(\text{H12-C4-C5-N2})(18)+\tau(\text{H19-C8-C4-C5})(31)$	-	1056	1054	2.03	5.28
$\nu(\text{C8-C4})(16)+\tau(\text{H17-C8-C4-C5})(34)$	1030	-	1043	13.78	4.00
$\nu(\text{C10-C11})(38)+\beta(\text{C3-C7-C10})(10)+\beta(\text{H21-C10-C11})(24)$	1013	1001	1010	1.86	18.80
$\nu(\text{C4-C5})(14)+\nu(\text{C8-C4})(38)+\beta(\text{C6-C9-C11})(11)+\tau(\text{H17-C8-C4-C5})(12)$	998	-	981	2.09	2.78
$\nu(\text{C10-C11})(34)+\beta(\text{C6-C9-C11})(47)$	-	-	972	0.68	56.96
$\tau(\text{H15-C6-C9-C11})(20)+\tau(\text{H16-C7-C10-C11})(33)+\tau(\text{H22-C11-C10-C7})(10)+\tau(\text{C7-C10-C11-C9})(25)$	-	-	968	0.88	0.31
$\tau(\text{H15-C6-C9-C11})(58)+\tau(\text{H22-C11-C10-C7})(17)$	926	930	943	0.18	0.09
$\nu(\text{C4-C5})(13)+\nu(\text{C8-C4})(12)+\beta(\text{O1-C5-N2})(20)+\beta(\text{C5-N2-C3})(15)$	899	900	889	11.52	2.68
$\tau(\text{H16-C7-C10-C11})(30)+\tau(\text{H20-C9-C11-C10})(23)+\tau(\text{H22-C11-C10-C7})(24)$	-	-	884	6.87	0.24
$\tau(\text{H21-C10-C11-C9})(76)$	835	836	812	0.13	1.11
$\nu(\text{C3-C7})(11)+\nu(\text{N2-C3})(10)+\beta(\text{C6-C9-C11})(12)+\tau(\text{H21-C10-C11-C9})(11)$	800	-	810	0.75	5.72
$\tau(\text{H18-C8-C4-C5})(34)+\gamma(\text{O1-C4-N2-C5})(20)$	755	763	775	5.02	2.35
$\tau(\text{H16-C7-C10-C11})(12)+\tau(\text{H20-C9-C11-C10})(24)+\tau(\text{H22-C11-C10-C7})(21)+\tau(\text{C3-C7-C10-C11})(14)+\gamma(\text{N2-C6-C7-C3})(17)$	750	-	739	57.85	1.87
$\nu(\text{C4-C5})(14)+\beta(\text{O1-C5-N2})(11)+\tau(\text{C3-C7-C10-C11})(10)+\gamma(\text{O1-C4-N2-C5})(14)$	695	685	679	11.28	3.56
$\tau(\text{H20-C9-C11-C10})(13)+\tau(\text{H22-C11-C10-C7})(14)+\tau(\text{C3-C7-C10-C11})(31)$	-	-	678	27.72	1.19
$\beta(\text{C3-C7-C10})(13)+\beta(\text{C7-C10-C11})(42)+\beta(\text{C10-C11-C9})(33)$	604	618	608	0.70	4.45
$\nu(\text{C4-C5})(11)+\beta(\text{C10-C11-C9})(15)+\gamma(\text{O1-C4-N2-C5})(23)$	576	-	601	2.49	3.35
$\beta(\text{C10-C11-C9})(10)+\tau(\text{H14-N2-C3-C6})(44)$	-	570	550	27.78	1.13
$\tau(\text{H14-N2-C3-C6})(44)$	-	510	517	16.78	1.48
$\tau(\text{H20-C9-C11-C10})(17)+\tau(\text{C7-C10-C11-C9})(17)+\gamma(\text{N2-C6-C7-C3})(34)$	499	-	493	25.77	0.23
$\tau(\text{H15-C6-C9-C11})(16)+\tau(\text{C6-C9-C11-C10})(82)$	-	-	402	0.06	0.02
$\beta(\text{O1-C5-N2})(30)+\beta(\text{C5-N2-C3})(40)$	-	390	344	4.91	1.51
$\nu(\text{N2-C3})(27)+\beta(\text{C10-C11-C9})(10)+\beta(\text{C4-C5-N2})(19)$	-	328	300	0.66	5.00
$\beta(\text{N2-C3-C7})(16)+\beta(\text{C4-C5-N2})(15)+\beta(\text{C8-C4-C5})(30)$	-	270	280	8.61	0.51
$\beta(\text{N2-C3-C7})(11)+\tau(\text{C7-C10-C11-C9})(23)+\tau(\text{C3-C7-C10-C11})(14)+\tau(\text{C4-C5-N2-C3})(13)$	-	-	242	3.02	0.79
$\tau(\text{H12-C4-C5-N2})(38)+\tau(\text{H18-C8-C4-C5})(22)+\tau(\text{H19-C8-C4-C5})(14)$	-	-	201	1.47	0.26
$\beta(\text{N2-C3-C7})(55)+\beta(\text{C4-C5-N2})(24)$	-	115	133	1.93	0.34
$\tau(\text{C4-C5-N2-C3})(57)+\gamma(\text{N2-C6-C7-C3})(13)$	-	-	78	0.22	1.74
$\tau(\text{C5-N2-C3-C6})(81)$	-	-	49	5.35	0.54
$\tau(\text{H12-C4-C5-N2})(10)+\tau(\text{C4-C5-N2-C3})(12)+\tau(\text{C8-C4-C5-N2})(64)$	-	-	30	0.15	0.85

ν , stretching; τ , torsion; β , in-plane bending; γ , out-of-plane bending; I_{IR} , IR intensity (km/mol); S_{Raman} , Raman scattering activity; PED, potential energy distribution

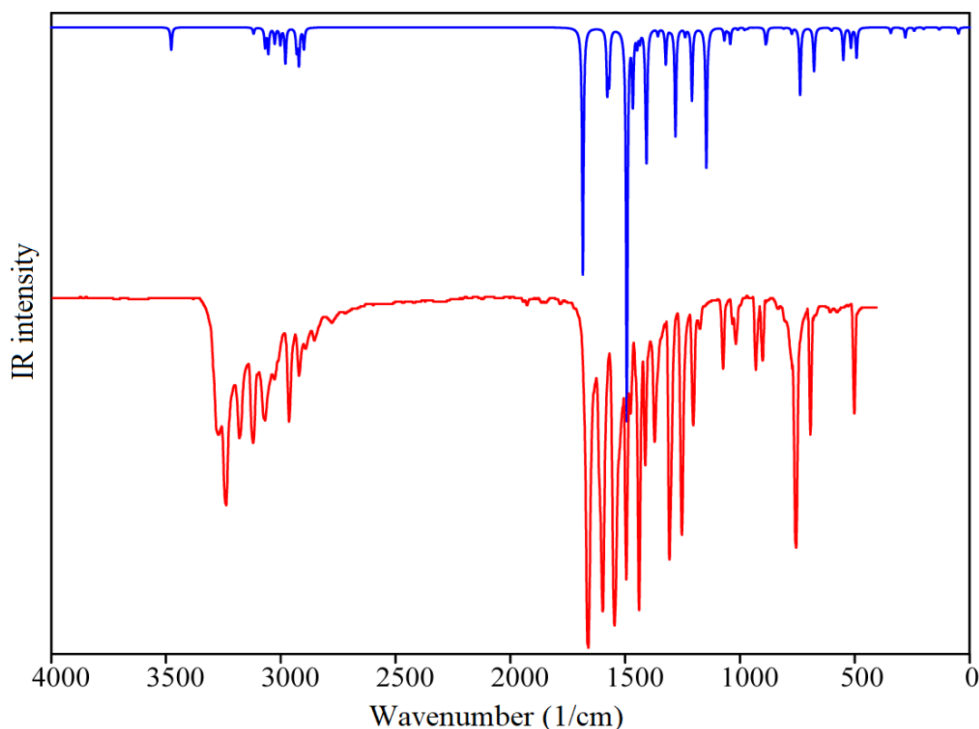


Figure 2. The sim. (top) and exp. (bottom) IR spectra of N-phenylpropanamide.

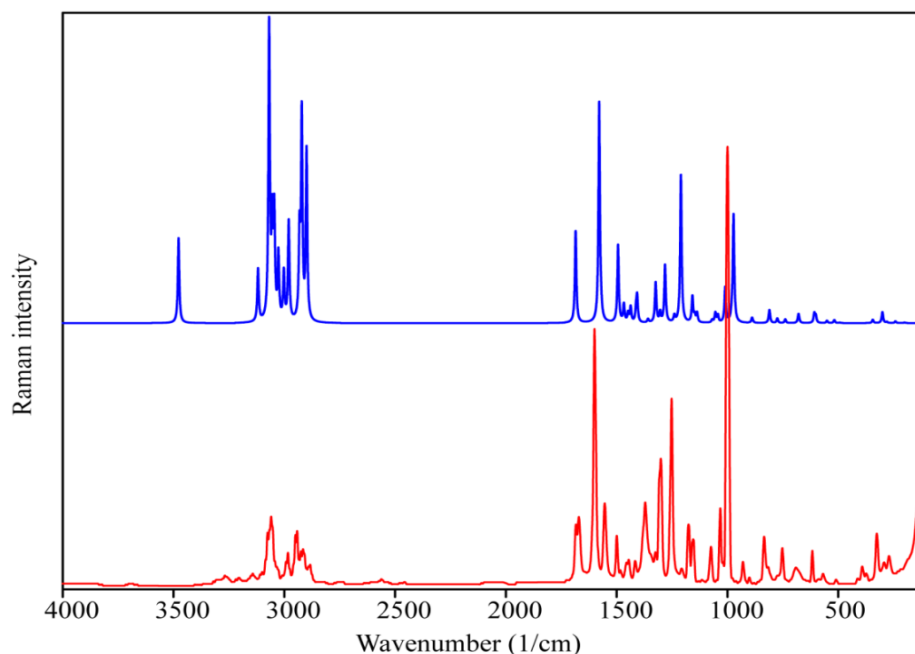


Figure 3. The sim. (top) and exp. (bottom) Raman spectra of N-phenylpropanamide.

NMR Chemical Shift Analysis

The experimental ^1H and ^{13}C NMR isotropic chemical shift values recorded in CDCl_3 were taken from (AIST, 2018) and (Watanabe et al., 1984). In order to make a

comparison of experimental values and calculated data, NMR chemical shifts calculated via GIAO method with the B3LYP/6-311+G(d,p) level in chloroform using IEFPCM solvent model were listed in Table 3.

Table 3. The experimental and computed NMR chemical shifts of N-phenylpropanamide.

Atoms	Exp.1*	Exp.2**	Calc.	Atoms	Exp.1*	Exp.2**	Calc.
C3	139.1	138.3	148.0	H12	2.34	2.35	2.54
C4	29.5	30.5	35.7	H13	2.34	2.35	2.22
C5	171.8	173.2	178.4	H14	8.41	7.90	6.95
C6	118.9	120.4	122.5	H15	7.03-7.56	7.50	6.96
C7	118.9	120.4	124.4	H16	7.03-7.56	7.50	9.13
C8	9.6	9.9	11.2	H17	1.17	1.21	0.96
C9	128.4	128.8	135.1	H18	1.17	1.21	1.02
C10	128.4	128.8	136.0	H19	1.17	1.21	1.70
C11	122.7	124.1	129.0	H20	7.03-7.56	7.27	7.52
				H21	7.03-7.56	7.27	7.64
				H22	7.03-7.56	7.06	7.29

*Taken form Watanabe et al.

**Taken form AIST

Due to the effect of quite electronegative O atom, carbons in carbonyl groups resonance in 160-220 ppm region (Lambert et al., 1987; Anderson et al., 2004; Pavia et al., 2009). Due to bonding with the oxygen and nitrogen atoms, NMR chemical shifts for C5 carbon atom was occurred at 171.8/173.2 ppm experimentally and

computed at 178.4 ppm as the highest chemical shift in ^{13}C NMR spectrum. From the same reason, the chemical shift of C3 atom in phenyl ring was observed at 139.1/138.3 ppm and calculated at 148.0 ppm. Usually, the aromatic ring carbons with sp^2 hybrid resonate in the range of 175-100 ppm, depending on the

substitute groups connected them (Lambert et al., 1987; Anderson et al., 2004; Pavia et al., 2009). The phenyl carbons excepting C3 in the compound were recorded at the interval of 118-129/120-129 ppm and chemical shifts of carbons excepting C3 were calculated in the region of 122-136 ppm. The measured and computed NMR chemical shifts for C4 carbon atom were found at 29.5/30.5 ppm and 35.7 ppm, respectively. As expected for methyl carbon, the lowest chemical shift in ^{13}C NMR spectrum was observed for C8 carbon at 9.6/9.9 ppm and calculated at 11.2 ppm. Because of the phenyl rings produce broad deshielding effects and π -bonding electrons behave like a conductor, the hydrogens attached to carbon atoms in aromatic ring give resonance signals in the region of 6-8 ppm (Lambert et al., 1987; Anderson et al., 2004; Pavia et al., 2009). The aromatic protons in title molecule were found at 7.03-7.56/7.06-7.50 ppm as experimental, while they were computed at 6.96-7.64 ppm for the other hydrogens excepting H16 atom. The most deshielded proton (highest chemical shift) H16 atom in the phenyl ring shifted to 9.13 ppm in computations due to the effect of the electronegative O1 atom. The hydrogen bonded to nitrogen atom in the amide group can give signals in 5-9 ppm region under influence of solvent, concentration and temperature (Pavia et al., 2009). The H14 atom in NH group gave NMR signal at 8.41/7.90 ppm, while it was calculated at 6.95 ppm. The NMR chemical shifts for protons of methyl and methylene groups were observed at 1.17/1.21 and 2.34/2.35 ppm while they were computed at the interval of 0.96 and 1.70 ppm for methyl protons and 2.22 ppm and 2.44 ppm for methylene protons.

HOMO, LUMO and UV-Vis. Analyses

FMOs (frontier molecule orbitals), namely, HOMO (highest occupied molecular orbital) and LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) are very helpful in interpreting chemical reactions (Fukui, 1982). The HOMOs are donor

groups filled by electrons while the LUMOs are acceptor groups unfilled by electrons. They can be used for definition of charge transfer. The HOMOs (H and H-1) and LUMOs (L and L+1) plots and their energy values of N-phenylpropanamide were given in Figure 4. HOMO-LUMO energy difference is used as a simple indicator of chemical reactivity. A large HOMO-LUMO gap means high stability and low chemical reactivity (Manolopoulos et al., 1991; Liu et al., 1992). The energy values of HOMO-LUMO band gap was calculated as 5.560 eV. As seen from Figure 4, both HOMOs (H and H-1) and LUMOs (L and L+1) are mostly formed from bonding and anti-bonding pi molecular orbitals of aromatic ring, respectively. This situation indicates that H-1 \rightarrow L, H-1 \rightarrow L+1, H \rightarrow L and H \rightarrow L+1 transitions are probably $\pi\rightarrow\pi^*$ electronic transition.

The computations of UV-Vis. spectral features of N-phenylpropanamide were performed with the TD-DFT/B3LYP/6-311+G(d,p) level in chloroform by using IEFPCM solvation model. The computed wavelengths, excitation energies, oscillator strengths and major contributions were summarized in Table 4. The major contributions of electronic transitions corresponding to the computed wavelengths were obtained by using GaussSum 3.0 program (O'boyle et al., 2008). The measured (Bio-Rad, 2018) and simulated UV-Vis. spectra in 210-300 nm region of the molecule were depicted in Figure 5. The strong band observed at 242.0 nm in the experimental UV-Vis. spectrum of the N-phenylpropanamide can be assigned to $\pi\rightarrow\pi^*$ electronic transition that is resulted from delocalize pi electrons of aromatic ring. The computed wavelengths for the three excited states were found at 251.9, 244.0 and 239.5 nm, which are assigned to $\pi\rightarrow\pi^*$ transition. Hence, the most intense value computed of oscillator strength was obtained at value of 0.5097 in H \rightarrow L electronic transition.

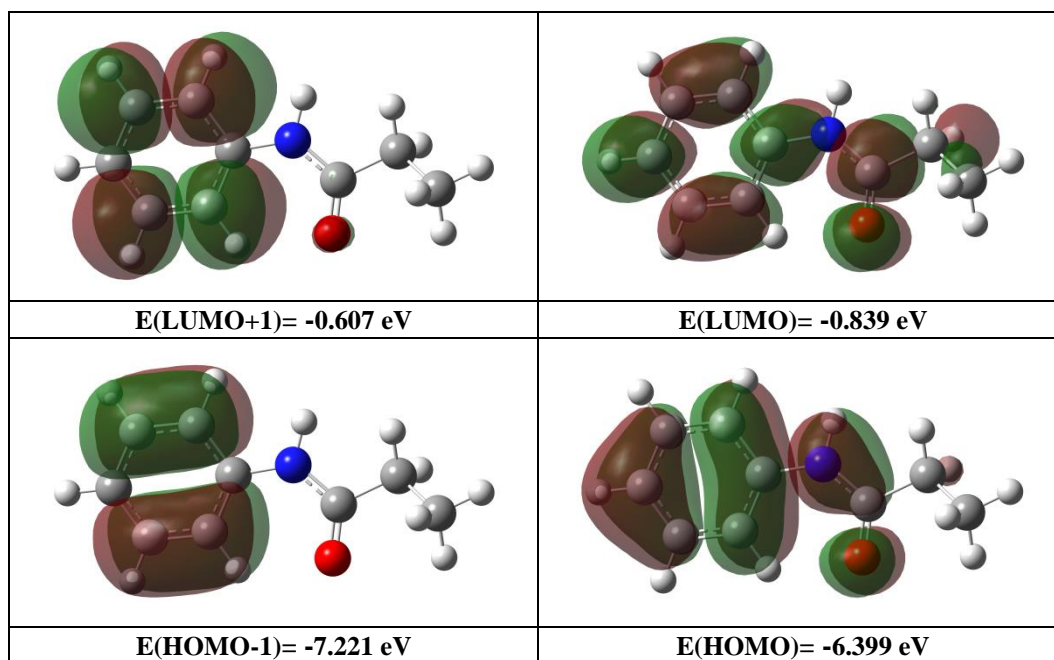


Figure 4. The simulated HOMOs and LUMOs plots of N-phenylpropanamide.

Table 4. The UV-Vis. parameters of N-phenylpropanamide in chloroform.

Wavelength (λ) (nm)		Transition	Excitation energy (eV)	Oscillator strengths (f)	Major contributions
Exp.*	Cal.				
	251.9		4.9224	0.0184	H \rightarrow L+1 (74%), H-1 \rightarrow L (23%)
242.0	244.0	$\pi\rightarrow\pi^*$	5.0806	0.5097	H \rightarrow L (95%)
	239.5		5.1780	0.0005	H-2 \rightarrow L (88%)

*Taken from Bio-Rad

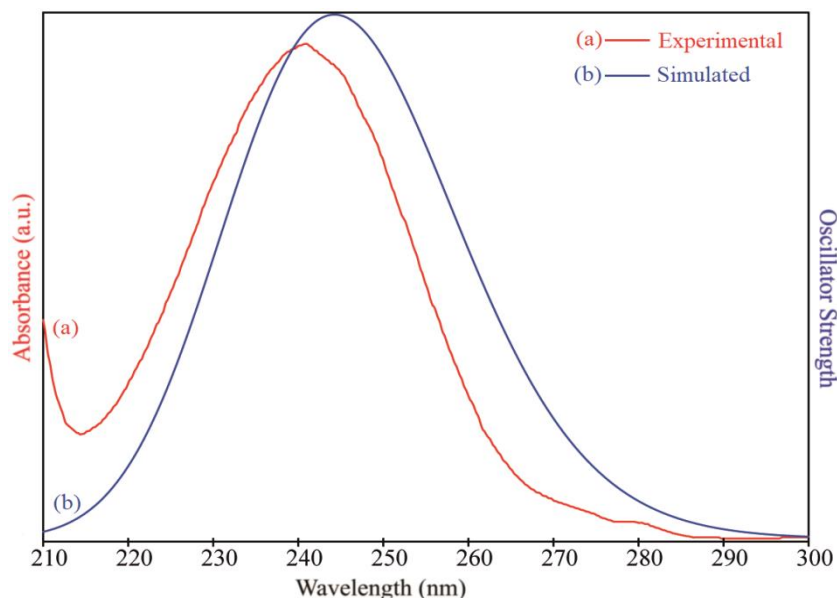


Figure 5. (a) Experimental and (b) simulated UV spectrum of N-phenylpropanamide.

Molecular Electrostatic Potential

The electrostatic potential of a molecule is a good lead in evaluating the molecular

reactivity against positive or negatively charged reagents. The MEP surface has been computed at the B3LYP/6-311+G(d,p) level in gas phase to

define the electrophilic and nucleophilic sites of the N-phenylpropanamide molecule and it was given in Figure 6. The negative region of the MEP map in gas phase of molecule is mainly localized on the O atom and the value of electron

density is -0.0527 a.u. On the other hand, the positive region is especially localized on the amine hydrogen atom with 0.0586 a.u. value of electron density.

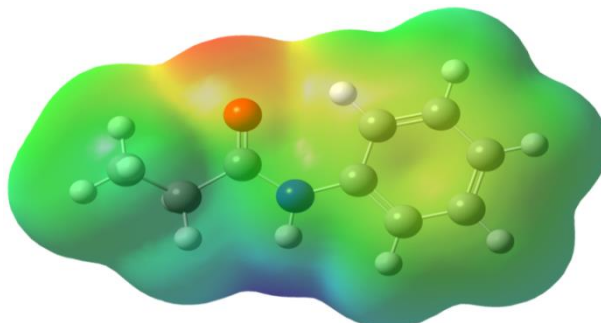


Figure 6. MEP map of N-phenylpropanamide.

CONCLUSION

The molecular structure, vibrational wavenumbers, proton and carbon-13 NMR isotropic chemical shifts, HOMO-LUMO analyses, UV-Vis. electronic absorption properties and molecular electrostatic potential (MEP) surface of N-phenylpropanamide were examined using experimental and computational methods. The experimental spectroscopic properties taken from literature (vibrational wavenumbers, UV-Vis. wavelengths and NMR chemical shifts) were supported by data computed with the DFT/B3LYP/6-311+G(d,p) level. The N-H, H \cdots O and N \cdots O bond distances and N-H \cdots O bond angle that are the N-H \cdots O intermolecular hydrogen bond parameters were obtained as 1.016 Å, 2.020 Å, 3.034 Å and 175.0° respectively. Similarly, the NH and C=O stretching frequencies were computed at 3374 cm $^{-1}$ and 1652 cm $^{-1}$ due to the N-H \cdots O intermolecular interaction. Due to bonding electronegative atoms, NMR chemical shifts for C3 and C5 carbon atom was occurred at 171.8/173.2 ppm and 139.1/138.3 ppm experimentally and computed at 148.0 ppm and 178.4 ppm as the highest chemical shift in ^{13}C NMR spectrum. The electronic transitions were confirmed with theoretical HOMO, LUMO and UV-Vis. analyses of the title molecule. Because

of the HOMOs and LUMOs are mostly formed from bonding and anti-bonding pi molecular orbitals of aromatic ring, respectively, transitions were explicated as $\pi \rightarrow \pi^*$ electronic transition.

REFERENCES

- AIST, 2018. Spectral Database for Organic Compounds, SDBS. <http://sdb.sdb.aist.go.jp> (Date of Access: 30 October 2018).
- Anderson MP, Uvdal P, 2005. New Scale Factors for Harmonic Vibrational Frequencies Using the B3LYP Density Functional Method with the Triple- ζ Basis Set 6-311+G(d,p). *The Journal of Physical Chemistry A*, 109: 2937-2941.
- Anderson RJ, Bendell DJ, Groundwater PW, 2004. *Organic Spectroscopic Analysis*. The Royal Society of Chemistry, Sanderland-UK.
- Becke AD, 1993. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98: 5648-5652.
- Bellamy LJ, 1975. *The Infrared Spectra of Complex Molecules*. Wiley, New York-USA.
- Bilkan MT, 2019. Quantum chemical studies on solvent effects, ligand-water complexes and dimer structure of 2,2'-dipyridylamine. *Physics and Chemistry of Liquids*, 57(1): 100-116.

- Bilkan MT, 2017. Structural and spectroscopic studies on dimerization and solvent-ligand complexes of Theobromine. *Journal of Molecular Liquids*, 238: 523-532.
- Bio-Rad Laboratories, 2018. Inc. SpectraBase. http://spectrabase.com/ad?a=SPECTRUM_JWm7vAp51SI&r (Date of Access: 30 October 2018).
- Colthup NB, Daly LH, Wiberley E, 1964. *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*. Academic Press, New York-USA.
- Dennington R, Keith T, Millam J, 2009. GaussView, Version 5, Semichem Inc., Shawnee Mission KS.
- Diab MA, El-Sonbati AZ, El-Bindary AA, Abd El-Ghany HM, 2017. Thermal Stability and Degradation of Poly (N-phenylpropionamide) Homopolymer and Copolymer of N-Phenylpropionamide with Methyl Methacrylate. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(2): S3732–S3739.
- Ditchfield R, 1974. Self-Consistent Perturbation Theory of Diamagnetism. *Molecular Physics*, 27(4): 789-807.
- Edreva AM, Velikova VB, Tsonev TD, 2007. Phenylamides in Plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54(3): 287-301.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery JA Jr., Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin A.J, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Martin RL, Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas O, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J, Fox DJ, 2009. Gaussian 09, Revision A.1, Gaussian, Inc., Wallingford CT-USA.
- Fukui K, 1982. The Role of Frontier Orbitals in Chemical Reactions (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie*, 21(11): 801–809.
- Jamr'oz MH, 2004. *Vibrational Energy Distribution Analysis VEDA4*, Warsaw-Poland.
- Klees TM, Sheffels P, Thummel KE, Kharasch ED, 2005. Pharmacogenetic Determinants of Human Liver Microsomal Alfentanil Metabolism and the Role of Cytochrome P450 3A5, *Anesthesiology*, 102(3): 550-556.
- Lambert JB, Shurvell HF, Cooks RG, 1987. *Introduction to Organic Spectroscopy*. Macmillan Publishing, New York-USA.
- Lee C, Yang W, Parr RG, 1988. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula Into a Functional of the Electron Density. *Physical Review B*, 37: 785-789.
- Liu L-F, Liu H, Pi H-J, Yang S, Yao M, Du W, Deng W-P, 2011. Facile AlCl₃-Promoted Catalytic Beckmann Rearrangement of Ketoximes. *Synthetic Communications: An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry*, 41(4): 553-560.
- Liu X, Schmalz TG, Klein DJ, 1992. Favorable Structures for Higher Fullerenes. *Chemical Physics Letters*, 188(5-6): 550-554.
- London F, 1937. Théorie Quantique Des Courants Interatomiques Dans Les Combinaisons Aromatiques. *Journal of Physical Radium*, 8(10): 397-409.
- Manolopoulos DE, May JC, Down SE, 1991. Theoretical Studies of the Fullerenes: C₃₄ to C₇₀. *Chemical Physics Letters*, 181(2-3): 105-111.

- Mierina I, Gudelis E, Stepanovs D, Jure M, Mishnev A, Kolympadi M, Marković D, 2016. Crystal structure of 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-N-phenylpropanamide, C₁₆H₁₇NO₃. *Zeitschrift für Kristallographie - New Crystal Structures*, 231(2): 657-659.
- Miertus S, Scrocco E, Tomasi J, 1981. Electrostatic Interaction of a Solute with a Continuum. A Direct Utilization of AB Initio Molecular Potentials for the Prediction of Solvent Effects. *Chemical Physics*, 55(1): 117-129.
- Na A, Hongjun P, Lifeng L, Wenting D, Weiping D, 2011. A Mild and Highly Efficient Catalyst for Beckmann Rearrangement, BF₃•OEt₂. *Chinese Journal of Chemistry*, 29(5): 947-950.
- Nowrouzi N, Jonaghani MZ, 2012. Highly Selective Mono-N-benylation and Amidation of Amines with Alcohols or Carboxylic Acids Using the Ph₂PCI/I₂/imidazole Reagent System. *Canadian Journal of Chemistry*, 90(60): 498-509.
- O'boyle NM, Tenderholt AL, Langner KM, 2008. CcLib: A Library for Package-Independent Computational Chemistry Algorithms. *Journal of Computational Chemistry*, 29, 839-845.
- Öztürk N, Özdemir T, Alpaslan YB, Gokce H, Alpaslan G, 2018. Experimental (FT-IR, Raman and NMR) and Theoretical (B3LYP, B3PW91, M06-2X and CAM-B3LYP) Analyses of P-Tert-Butylphenyl Salicylate. *Bilge International Journal of Science and Technology Research*, 2(1): 56-73.
- Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS, Vyvyan JR, 2009. *Introduction to Spectroscopy*. Brooks/Cole Cengage Learning, USA.
- Priyadharsini P, Dhanasekaran D, Kanimozhi B, 2013. Isolation, Structural Identification and Herbicidal Activity of N-phenylpropanamide from *Streptomyces* sp. KA₁-3, *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 46(3): 364-373.
- Runge E, Gross EKV, 1984. Density-Functional Theory for Time-Dependent Systems. *Physical Review Letters*, 52(12): 997-1000.
- Silverstein RM, Webster FX, 1998. *Spectroscopic Identification of Organic Compounds*. 6th ed., John Wiley & Sons, New York-USA.
- Stuart BH, 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, England.
- Watanabe Y, Tsuji Y, Kondo T, Takeuchi R, 1984. Platinum Complex Catalyzed Reductive N-Acylation of Nitro Compounds. *The Journal Of Organic Chemistry*, 1984, 49(23): 4451-4455.
- Wolinski K, Hinton JF, Pulay P, 1990. Efficient Implementation of the Gauge-Independent Atomic Orbital Method for NMR Chemical Shift Calculations. *Journal of the American Chemical Society*, 112(d): 8251-8260.
- Yıldırım MH, 2018. Infrared and NMR Spectral Analyses and Computational Studies of 2-amino-3-methylbenzoic acid. *Bilge International Journal of Science and Technology Research*, 2(1): 74-82.

Effects of (0.01Ni-PVA) interlayer, interface traps (D_{it}), and series resistance (R_s) on the conduction mechanisms(CMs) in the Au/n-Si (MS) structures at room temperature

Seçkin Altındal YERİŞKİN^{1*}

ABSTRACT: In order to determine effects of interlayer, D_{it} , and R_s on the CMs, both Au/n-Si and Au/(0.01Ni-PVA)/n-Si (MPS) structures were fabricated on the n-Si wafer and their electrical parameters were extracted from the current-voltage ($I-V$) and capacitance-voltage ($C-V$) measurements. The ideality factor (n), zero-bias barrier height (Φ_{Bo}), rectifying rate (RR at $\pm 5V$), R_s , shunt resistances (R_{sh}), and density of D_{it} (at 0.40eV) values were found from the $I-V$ data as 1.944, 0.733 eV, 3.50×10^3 , 64.8 Ω , 0.23 M Ω , 1.62×10^{13} eV⁻¹cm⁻² for MS and 1.533, 0.818 eV, 1.15×10^7 , 5.0 Ω , 57.5 M Ω , 8.82×10^{12} eV⁻¹cm⁻² for MPS. Fermi energy (E_F), barrier height ($\Phi_B(C-V)$), depletion-layer width (W_D) values were obtained from the $C-V$ data as 0.239 eV, 0.812 eV, 1.14×10^{-4} cm for MS and 0.233 eV, 0.888 eV, 9.31×10^{-5} cm for MPS. These results indicated that the MPS structure has lower R_s , D_{it} , leakage current and higher RR , R_{sh} , BH compared with MS and so this interlayer can be successfully used instead of conventional insulator interlayer. The Ln(I)-Ln(V) plot at forward-bias region has three linear parts corresponding to the low, intermediate, and higher voltages. In these regions; conduction mechanism (CM) is governed by ohmic, trap charge-limited current (TCLC) and space charge-limited current (SCLC), respectively.

Keywords: Comparison of the MS and MPS structures, Polymer interlayer, Conduction mechanisms (CMs), Energy dependent interface trap density,

¹ Seçkin Altındal YERİŞKİN (Orcid ID: 0000-0002-9772-1212), Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Gazi University, Ankara, Turkey

*Sorumlu Yazar: Seçkin Altındal Yerişkin, e-mail: seckin.ay19@gmail.com

INTRODUCTION

Today, the main scientific and technical problems of metal-semiconductor (MS) structures or Schottky diodes (SDs) with and without an oxide or organic/polymer is relevant to the improving quality/performance of them by reduce unwanted interface traps/states (D_{it}), series resistance (R_s), and leakage current. However a complete description of CMs of them through barrier and understanding the nature of barrier-height (BH) between metal and semiconductor still remain a challenging problem yet. Since interfacial oxide or polymer layer is higher than a few hundred angstroms, MOS/MIS and MPS structures transforms to capacitor. These structures contain a native or deposited interlayer sandwiched a metallic rectifier/gate and metallic ohmic contact and can be stored mores electric charges or energy. In recent years, polymers/organic materials are used widely in industrial applications such as electronic/electrochromic equipment's such as SDs, light-emitting diodes (LEDs), photo diodes (PDs), and field effect transistor (FETs) because of their good flexible, easy processing, and low molecular weight, low cost when compared to the traditional oxide interlayer. (Abthagir and Saraswathi, 2001; Gupta and Singh 2004; Yeriskin et al., 2011; Gokcen et al., 2012; Akhlaghi et al., 2018; Badali, et al., 2018; Çetinkaya et al., 2018).

Among polymer materials, PVA is more interesting due to its high dielectric constant, good charge storage capacity, and solubilized crystalline structure polymer in water and can be acquired industrially by the alkaline hydrolysis of solutions of poly(vinyl acetate) (PVAc) due to hydrogen bonds between hydroxyl groups on the chain and water molecules. Therefore, in this

study, (0.01Ni-PVA) solution was grown on the n-Si wafer by electrospinning method which has some advantages compared with the spin coating such as cost effective and easier for us. First, during the electrospinning process, metal can be dispersed homogenously in polymeric material. Additionally, nano-sized particles (nanofibers) are produced instead of micro-sized materials via electrospinning technique. Moreover, semiconductor wafers can be coated more uniform compared with spin coating.

The performance of MS, MIS and MPS structures are depend on the existence of D_{it} level, BH and interlayer inhomogeneity at M/S interface, and R_s of them (Card and Rhoderick, 1971; Sze, 1981; Sharma, 1984). In this respect, it is more important, the investigation effects of D_{it} , interlayer, and R_s on the performance of these structures. An insulator layer formed by the traditional methods at M/S interface cannot passivate the active dangling-bonds at surface. Therefore, in the last two decades, high-dielectric materials such as ferroelectric and polymer composites began used instead of insulator layer to increase quality of MS (Demirezen et al., 2012; Durmuş et al., 2013; Reddy, 2014; Reddy et al., 2014; Ersoz et al., 2016; Yeriskin et al., 2017; Ulasan et al., 2018). Such doped metal in the polymer leads to increases of the conductivity due to high physical interactions between organic polymer chains, via H-bonding at hydroxyl dopant materials interface and so the conduction mechanisms become quite different from the classic MS structures (Demirezen et al., 2012; Yeriskin et al., 2017).

The main goal of this study is to determine the effects of (0.01Ni-doped PVA) interlayer, interface traps (D_{it}), and series resistance (R_s) on the (CMs) and performance of MS and MPS structures. For this purpose, both the MS and MPS structures were fabricated on the same n-Si wafer and their main physical parameters were obtained from the I-V and

C-V data and obtained results compared. Experimental results show that the MPS type structure has lower R_s, D_{it}, leakage current and higher RR, R_{sh}, BH when compared with MS structure. The double-logarithmic I-V plot shows three linear regimes with different slopes which correspond to the low, intermediate, and higher bias voltages and in these regions current transport governed by ohmic, TCLC, SCLC mechanisms, respectively.

MATERIALS AND METHODS

The Au/(0.01 Ni-doped PVA)/n-Si structures were performed on the Phosphor-doped Si (n-type) wafer with (100) orientation, 5.08 cm diameter, 1-5 Ω.cm resistivity and 280 μm thickness. Firstly, wafer was cleaned with RCA cleaning procedure in the ultrasonic bath and after rinsed deionize-water with 18 Ω.cm it dried with N₂ gas. Immediately, the cleaned n-Si was transferred in the vacuum chamber to perform back ohmic contact. Secondly, high-pure (99.999%) Au metal with 120 nm thick was evaporated onto the back side of n-Si wafer at 10⁻⁶ Torr and then was annealed at 500 °C in nitrogen ambient at 5 minutes to get low-resistivity ohmic contact. After that the prepared (0.01 Ni-PVA) solution was grown on the wafer using electrospinning-method. Finally, the circular dots with 7.85x10⁻³cm² and 120 nm

thickness of high-purity Au rectifier contacts were evaporated on the (0.01 Ni-PVA) interlayer. In this way, the performed processes of Au/(0.01 Ni-d PVA)/u-Si structures were completed. For electrical measurements, the fabricated MS and MPS structures were pasted onto the Cu-holder by a silver dag. Through an IEEE-488 AC/DC converter card, the I-V and C-V measurements were fulfilled by utilizing a source-meter (Keithley 2400) and an impedance analyzer (HP 4192 A LF), respectively.

RESULTS AND DISCUSSIONS

A. Current-Voltage (I-V) Characteristics

The ln(I)-V plots of the MS and MPS structures were drawn to determine the influence of (0.01Ni-doped PVA) interlayer, D_{it}, and R_s series resistance on the on the CCMs and presented in Fig. 1. It is clear that the ln(I) vs V plot of the MPS structure has a good rectifier behavior, i.e. while the value of current is almost independent from the voltage in the reverse bias region and it increases as exponentially with increasing voltage in forward bias region when compared with MS structure. However, lnI-V plot of the MS structure is quite deviated from the linearity for high-voltages (V ≥ 0.5V) due to the effect of high R_s rather than MPS structure. The relation between I and V for these structures on the base of thermionic emission (TE) theory (V ≥ 3kT/q) is given as follow (Sze, 1981; Sharma, 1984)

$$I = AA^*T^2 \exp\left(-\frac{q}{kT} \Phi_{Bo}\right) \left[\exp\left(\frac{q(V - IR_s)}{nkT}\right) - 1 \right] \quad (1)$$

In Eq.1, A* is the Richardson constant (112 A/(cm²K² for n-type Si), A is the diode area (7.85

x10⁻³ cm²), and I₀ in the front of brackets is the reverse-bias saturation current.

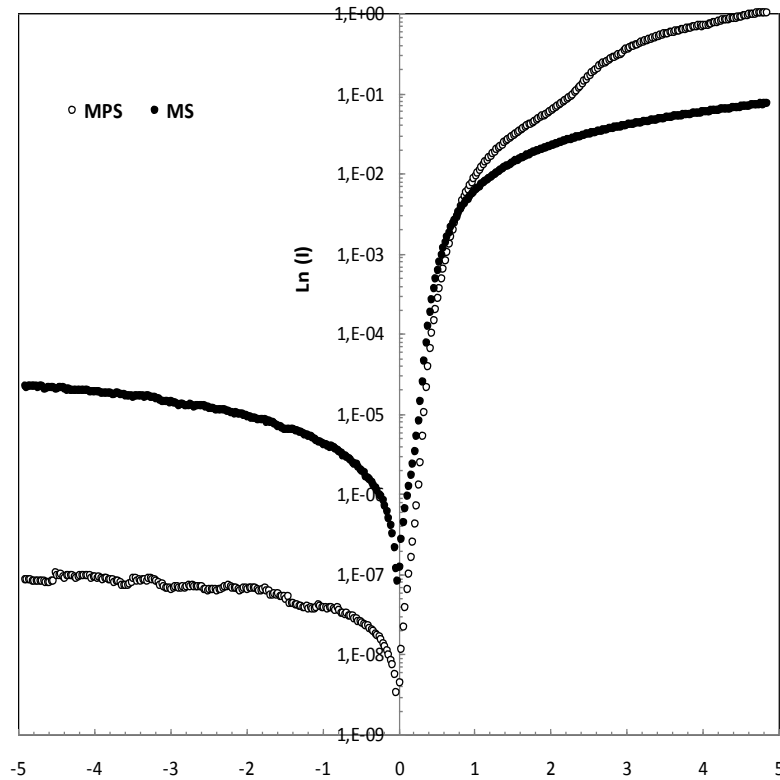


Figure 1. The semi-logarithmic I-V plots for the Au/n-Si and Au/(0.01Ni-PVA)/n-Si structures.

Both the I_0 and n values for MS and MPS structures were estimated from the intercept and

slope of the linear part Ln(I)-V plot, respectively, through the relation.

$$n = \frac{q}{kT} \left(\frac{dV}{d(\ln I)} \right) \quad (2a)$$

$$\Phi_{Bo} = \frac{kT}{q} \ln \left(\frac{AA^* T^2}{I_0} \right) \quad (2b)$$

The I_0 , n , Φ_{Bo} , and RR values were found from the linear regions of the ln(I)-V plots as 3.97×10^{-8} A, 1.944, 0.733 eV, 3.50×10^3 for MS and 1.46×10^{-9} A, 1.533, 0.818 eV, 1.150×10^7 for MPS structure, respectively. The of R_s and R_{sh} value were also determined from the Ohm's law ($R_i = dV_i/dI_i$) which are corresponding to the

enough high forward (+5V) and enough low reverse (-5V) bias voltage, respectively. They were found as 64.8 Ω and 5.0 Ω for MS, and 0.23 M Ω and 57.5 M Ω for MPS structure, respectively. All these experimental electrical parameters which are determining the performance or quality of these structures were given in Table 1.

Table 1. The obtained some main experimental I_0 , n , Φ_{B0} , R_s , R_{sh} , RR , and D_{it} values for the MS and MPS structures at room temperature.

Samples	I_0 (A)	n	Φ_{B0} (eV)	R_s at 5V (Ω)	R_{sh} at 5V ($M\Omega$)	RR at $\pm 5V$ (I_F/I_R)	D_{it} at 0.4 eV ($eV^{-1}.cm^{-2}$)
MS	3.97×10^{-8}	1.940	0.733	64.8	0.23	3.50×10^3	1.62×10^{13}
MPS	1.46×10^{-9}	1.533	0.818	5.0	57.5	1.15×10^7	8.82×10^{12}

It is clear that the value of n for MS and MPS is higher than unity due to the native (SiO_2) and grown (0.01Ni-PVA) interlayer, interface traps, image-force lowering, generation-recombination, tunneling through the BH or via traps, and the presence of some patches or lower-barriers at M/S interface (Werner et al., 1988; Durmus et al., 2013; Alialy et al., 2015; Tan, 2017). In other words, the existence of the barrier inhomogeneity which contains low-BHs or patches leads to an increase in the value of n . The double-logarithmic I-V plots for the MS and MPS structures were drawn to determine the possible CMs in the whole forward bias regime were given in Fig. 2.

It can be clearly seen in Fig.2, these plots show three different linear parts with different slopes (m) for the MS and MPS structures obey power-law behavior ($I \sim V^m$) (Aydoğan et al., 2005). For part I, the values of m were found as 1.32 for MS and 1.80 for MPS type structures which are lower than and so imply the ohmic conduction is dominate for lower voltages. This is a result of the insertion of charge-carriers from the electrode into the p-Si (Forrest, 1997). For part II, the values of m were found as 6.67 for MS and 8.29 for MPS type structures which are much higher than the unity or two and so imply the CM is governed by the TCLC with an exponential

interface trap distribution because of an increase in amount of injected-electrons causes filling of traps and increase of the space charges (Ocak et al., 2009). For part III, the values of m were found as 2.76 for MS and 4.41 for MPS type structures which indicate that the device moves towards “trap-filled” limit because of the electrons injection, which are escape from the traps and contribute to the SCLC (Yeargan and Taylor, 1968; Nagaraju, 2017).

Usually, many defects/impurities can be occurred at M/S interface during the elaboration of these MS and MIS or MPS structures. All these defects are called as interface states/traps (N_{ss} or D_{it}) and they can alter the quality of these devices. These traps can be also originated dangling bonds depend on the chemical composition of the interface between inter-layer and semiconductor (Card and Rhoderick, 1971; Sze, 1981; Sharma, 1984; Reddy, 2014; Yerişkin et al., 2017). Therefore, a special density distribution of these traps was obtained from the forward bias I-V by considering the V-dependent BH and n both MPS and MPS structures and represented in Fig. 3. According to Card and Rhoderick (1971), n and effective BH (Φ_e) values in the forward bias region are function of voltage due to the existence of interlayer, D_{it} , and barrier in-homogeneities.

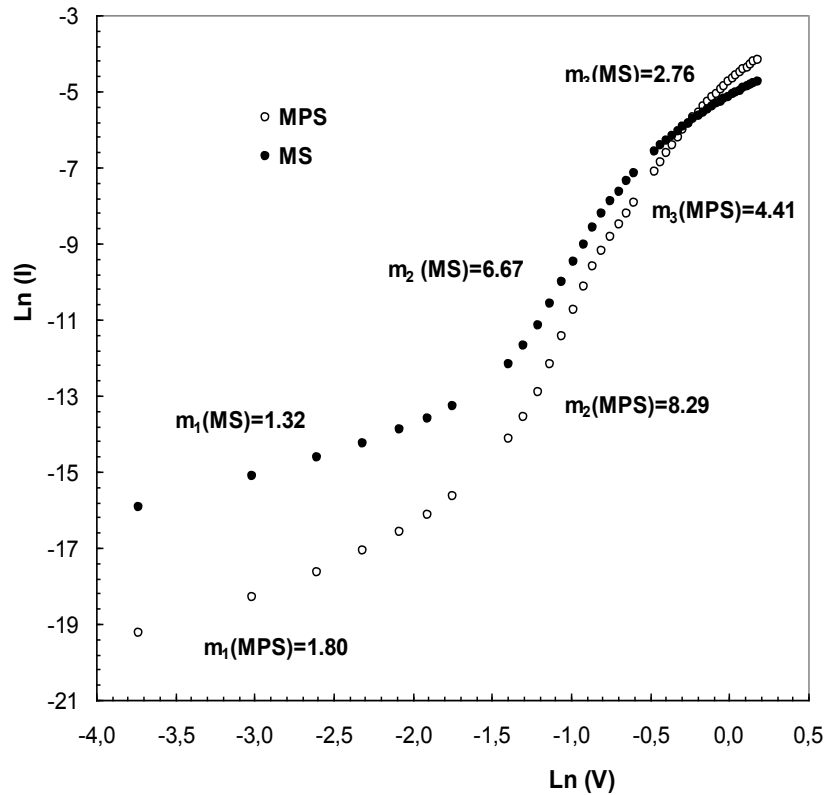


Figure 2. The double-logarithmic forward bias I-V plots for the MS and MPS structures.

$$n(V) = \frac{qV}{kT \cdot \ln(I/I_0)} = 1 + \frac{\delta}{\varepsilon_i} \left[\frac{\varepsilon_s}{W_D} + qN_{ss}(V) \right] \quad (3a)$$

$$\Phi_e = \Phi_{Bo} + \alpha(V) = \Phi_{Bo} + \left(1 - \frac{1}{n(V)} \right) V \quad (3b)$$

In Eq. 3 (a) and (b); the quantities of α ($=d\Phi_e/dV$), W_D , ε_s , and ε_i are the voltage coefficient of the BH, the depletion layer thickness, the dielectric of semiconductor and inter-layer, respectively. In addition, the energy of traps (E_{ss}) for n type semiconductor are estimated with respect to the E_c of it is given as Eq.4 (Card and Rhoderick, 1971; Sze, 1981).

$$E_c - E_{ss} = q(\Phi_e - V) \quad (4)$$

Thus, the N_{ss} vs ($E_c - E_{ss}$) profiles of the MS and MPS structures and represented in Fig.3. It is clearly that the values of interface traps show an exponential growth from mid-gap of E_g towards the bottom of E_c . The values of N_{ss}/D_{it} at 0.40 eV was found as $1.62 \times 10^{13} \text{ eV}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ for MS and $8.82 \times 10^{12} \text{ eV}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ for MPS, respectively.

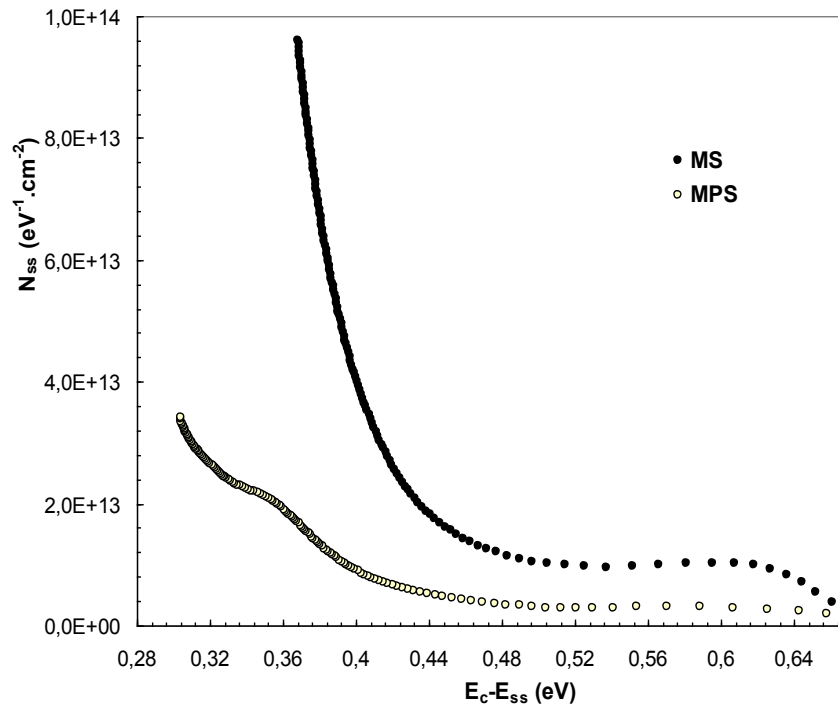


Figure 3. The energy-dependent profile of D_{it} for the MS and MPS) structures.

As can be clearly seen in Fig.3, the magnitude of D_{it} for the Au/(0.01Ni-PVA)/n-Si (MPS) structure is considerably lower than the MS structure in the whole band gap of semiconductor because of the saturation dangling-bonds by (0.01Ni-PVA) polymer layer. Similar results have been reported by Gökçen et al., (2012) in the Au/(Co-PVA)/n-Si, Badalı et al., (2018) in the Ag/(Ru-PVP)/n-Si, Yerişkin et al., (2017) in the Au/(graphene-PVA)/n-Si, and Reddy et al., (2014) in the Au/PVDF/n-InP (MPS) structures.

B. Capacitance-Voltage (C-V) Characteristics

The experimental C-V plot of the MS and MPS structures at 1 MHz were given in Fig. 4. It is clear that the C-V plot show a peak behavior for both the MS and MPS structure. But, the observed two peaks for the MPS structure is the result of a special distribution of D_{it} in the bend gap of Si. These anomalous peaks in the forward bias C-V

curves was also observed by various researchers and usually it was attributed to the existence of D_{it} , R_s , and minority-carrier injection in the literature (Werner et al., 1988; Lin et al., 2008; Bilkan et al; 2015; Kaya, 2015; Orak and Koçyiğit, 2016; Taşçıoğlu et al., 2017; Yeriskin et al., 2017; Karabulut, 2018).

Here, N_c is the effective density of states in the conduction band of Si ($2.8 \times 10^{19} \text{ cm}^{-3}$ for n-Si). The value of W_D was also calculated by using N_D and $V_D (=V_0+kT/q)$ by using the following relation (Sze, 1981).

$$W_d = (2\epsilon_s\epsilon_0 V_d / qN_D)^{1/2} \quad (7)$$

As can be seen in Fig.5, the existence of native or deposited inter-layer and interface traps leads to a large intercept of intercept voltage. In this case, the obtained higher value of BH can be

modified by using the c_2 ($=N_D(\text{exp.})/N_D(\text{theor.})$) constant which is the ratio of the obtained experimental value of $N_D(\text{exp.})$ to its theoretical value $N_D(\text{theor.})$ as following form (Card and Rhoderick, 1971).

$$1/n \approx c_2 = \epsilon_i / (\epsilon_i + qN_{ss}) \quad (8)$$

Thus, the value of Φ_B (C-V) was calculated for the fabricated MS and MPS structure as follow:

$$\Phi_B(\text{C-V}) = (c_2 V_0) + kT/q + E_F \quad (9)$$

The obtained V_0 , N_D , E_F , W_D and $\Phi_B(\text{C-V})$ values from the C^2 -V plot were given in When Table 1 and 2 are compared, the value of $\Phi_B(\text{C-V})$ is higher than the $\Phi_B(\text{I-V})$ almost as E_F level due to the nature of measure method and so voltage dependent of BH.

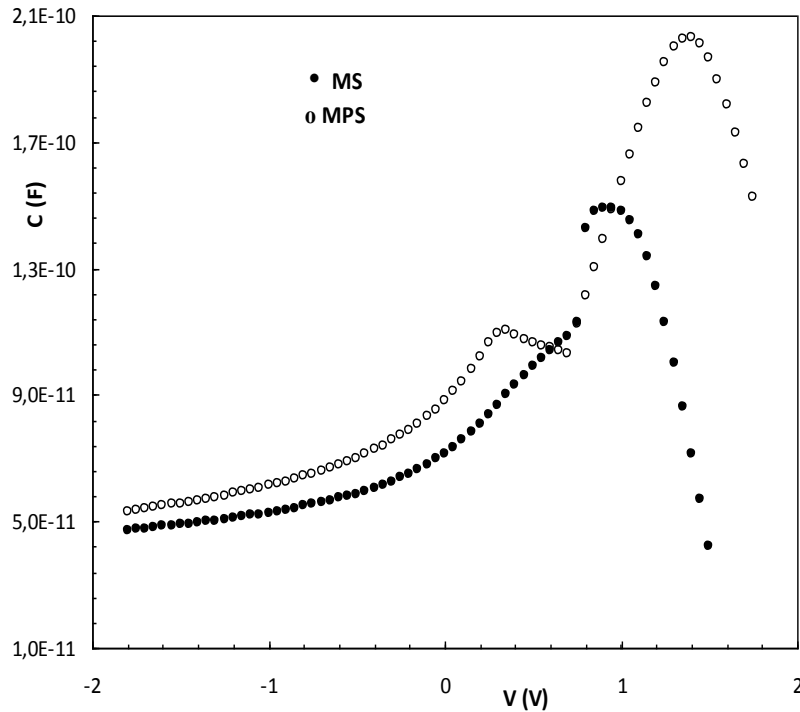


Figure 4. The C-V plots for the MS and MPS structures.

Table 2. The qV_0 , N_D , E_F , W_D , c_2 , $\Phi_B(\text{C-V})$, and D_{it} values of the MS and MPS structures.

Samples	qV_0 (eV)	N_D (cm^{-3})	E_F (eV)	W_D (cm)	c_2	$n \approx 1/c_2$	$\Phi_B(\text{C-V})$ (eV)	D_{it} at 0.4 eV ($\text{eV}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$)
MS	0.970	9.77×10^{14}	0.239	1.14×10^{-4}	0.565	1.77	0.812	0.83×10^{13}
MPS	0.849	1.28×10^{15}	0.233	9.31×10^{-5}	0.743	1.35	0.889	1.96×10^{12}

Additionally, the value of D_{it} was calculated from the Eq.8 for MS and MPS structure and was also given in Table 2. It is clear that the values of D_{it} for the MPS structures are lower than the MS structure. In conclusion, all these experimental results are confirmed that the use of (0.01Ni-PVA) interfacial organic layer at Au/n-Si (MS) interface leads to an increase the performance of the Au/n-

Si (MS) structure in respect of lower values of R_s , N_{ss} or D_{it} , leakage current and higher values of RR , R_{sh} , BH , and capacitance. The high values of capacitance is also means that more and more electronic charges or energy storage capacity. Therefore, it can be successfully used an alternative to the oxide layer.

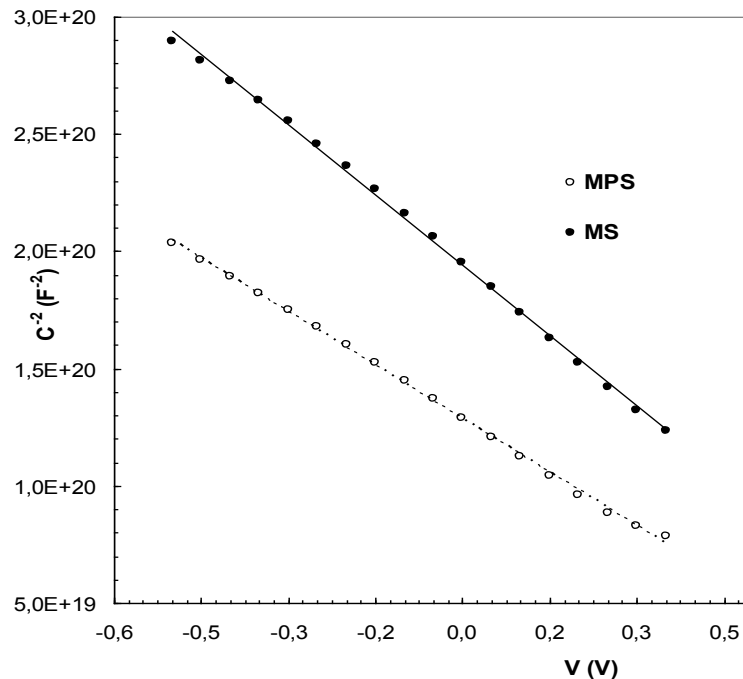


Figure 5. The C^{-2} -V plots for the MS and MPS structures.

CONCLUSION

In order to determine the effects of (0.01Ni-PVA) interlayer, D_{it} , and R_s on the CMs, both the Au/(0.01Ni-PVA)/n-Si and Au/n-Si structures were performed on the same n-Si wafer and then their main electrical parameters obtained from the I-V and C-V measurements. The obtained experimental value of BH from the C^{-2} -V plots for MPS and MS structures were found higher than those from forward bias $\ln(I)$ -V plots because of the nature of measurement method and voltage

dependent. The RR ($=I_F/I_R$) for MPS structure 3286 times higher than MS structure. The $\ln(I)$ - $\ln(V)$ plot was also drawn and they have three linear regimes for low, intermediate, and higher voltages and in these regimes CM is governed by ohmic, TCLC, and SCLC, respectively. The experimental values of D_{it} for the MPS structures were obtained both the I-V and C-V data were also considerably lower than MS structure. The obtained all experimental results are confirmed that the (Ni-doped PVA) organic layer causes

quite decrease in the values of D_{it} and R_s and increase in R_{sh} , RR and BH . In conclusion, (Ni-PVA) inter-layer can be successfully used an alternative to the oxide layer regarding the enhancements in device parameters.

ACKNOWLEDGMENTS

This work is supported by Gazi University Scientific Research Projects (Project Number: GU-BAP.05/2018-10 and GU-BAP.06/2018-05)

REFERENCES

- Abthagir PS, Saraswathi R, 2001. Junction properties of metal/polypyrrole Schottky barriers *J Appl Polym Sci*, 81:2127-2135.
- Alialy S, Kaya A, Marıl E, Altındal Ş Uslu İ, 2015. Electronic transport of Au/(Ca_{1.9}Pr_{0.1}Co₄O_x)/n-Si structures analysed over a wide temperature range, *Philos. Mag.* 95: 1448-1461.
- Aydogan S, Saglam M, Turut A, 2005. The effects of the temperature on the some parameters obtained from current–voltage and capacitance–voltage characteristics of polypyrrole/n-Si structure. *Polymer*, 46(2): 563
- Altındal Yerişkin S, Sarı B, Ünal Hİ, 2011. Electrical and dielectric characteristics of Al/polyindole Schottky barrier diodes. II. Frequency dependence. *J.Appl. Pol. Sci.*, 120: 390-396.
- Altındal Yerişkin S, Balbaşı M, Orak İ, 2017. The effects of (graphene doped-PVA) interlayer on the determinative electrical parameters of the Au/n-Si (MS) structures at room temperature. *J. Mater. Sci: Mater Electron*, 28: 14040-14048.
- Akhlaghi EA, Badali Y, Altındal S, Azizian-Kalandaragh, Y, 2018. Preparation of mixed copper/PVA nanocomposites as an interface layer for fabrication of Al/Cu-PVA/p-Si Schottky structures, *Physica B-Condensed Matter*, 546: 93-98.
- Badali Y, Nikravan A, Altındal S, Uslu I, 2018. Effects of a thin Ru-doped PVP interface layer on electrical behavior of Ag/n-Si structures, *Journal of Electronic Materials*, 47: 3510-3520.
- Bilkan Ç, Gümüş A, Altındal Ş, 2015. The source of negative capacitance and anomalous peak in the forward bias capacitance-voltage in Cr/p-Si Schottky barrier diodes (SBDs). *Materials Science in Semiconductor Processing* 39: 484-491.
- Büyükbaş Ulaşan A, Altındal Yerişkin S, Tataroğlu A, Balbaşı M, Kalandaragh YA, 2018. Electrical and impedance properties of MPS structure based on (Cu₂O-CuO-PVA) interfacial layer. *Journal of Material science: Materials in Electronics* 29:16740-16746
- Card HC, Rhoderick EH, 1971. Studies of tunnel MOS diodes I. Interface effects in silicon Schottky diodes. *J. Phys. D, Appl. Phys.*, 4(10): 1589-1601.
- Çetinkaya HG, Altındal Ş, Orak İ, Uslu İ, 2017. Electrical characteristics of Au/n-Si (MS) Schottky Diodes (SDs) with and without different rates (graphene+Ca_{1.9}Pr_{0.1}Co₄O_x doped poly(vinyl alcohol)) interfacial layer. *J Mater Sci: Mater Electron*, 28 (11): 7905–7911.

- Demirezen S, Sönmez Z, Aydemir U, Altındal S, 2012. Effect of series resistance and interface states on the I-V, C-V and G/ω -V characteristics in Au/Bi-doped polyvinyl alcohol (PVA)/n-Si Schottky barrier diodes at room temperature, *Curr Appl Phys*, 12: 266-272.
- Durmuş P, Yildirim M, Altındal S, 2013. Controlling the electrical characteristics of Al/p-Si structures through $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ interfacial layer, *Curr Appl Phys*, 13: 1630-1636.
- Ersoz G, Yucedag I, Azizian-Kalandaragh Y, Orak I, Altındal S, 2016. Investigation of Electrical Characteristics in Al/CdS-PVA/p-Si (MPS) Structures Using Impedance Spectroscopy Method, *IEEE Transaction Electron Dev*, 63: 2948-2955.
- Forrest SR. 1997. Ultrathin organic films grown by organic molecular beam deposition and related techniques. *Chem Rev*, 97(6): 1793
- Gökçen M, Tunç T, Altındal Ş, Uslu İ, 2012. Electrical and photocurrent characteristics of Au/PVA (Co-doped)/n-Si photoconductive diodes, *Mater. Sci. and Eng. B.*, 177: 416-420.
- Gupta, RK, Singh RA, 2004. Schottky diode based on composite organic semiconductors. *J Mater Sci. and Semicond Process*, 7:83-87.
- Forrest SR. 1997. Ultrathin organic films grown by organic molecular beam deposition and related techniques. *Chem Rev*, 97(6): 1793
- Karabulut A, 2018. Dielectric Characterization of Si-Based Heterojunction with TiO_2 Interfacial Layer. *Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.* 8(3): 119-129.
- Kaya A, 2015. On the anomalous peak in the forward bias capacitance and conduction mechanism in the Au /n-4H SiC(MS) Schottky diodes (SDs) in the temperature range of 140-400 K. *Int. J. Mod. Phys. B.*, 29: 1550010.
- Lin SD, Ilchenko VV, Marin VV, Panarin KY, Buyanin AA, Tretyak OV, 2008. Frequency dependence of negative differential capacitance in Schottky diodes with InAs quantum dots. *Appl. Phys. Lett.*, 93: 103103.
- Nagaraju G, Reddy KR, Reddy VR, 2017. Electrical transport and current properties of rareearth dysprosium Schottky electrode on p-type GaN at various annealing temperatures. *Journal of Semiconductors*, 38 (11): 114001/1-9.
- Ocak YS, Kulakci M, Kılıcoglu T, Turan R, Akkılıc K, 2009 The Electrical Properties of Al/Methylene-Blue/n-Si/Au Schottky Diodes. *Synth. Met.* 159:1603-1607.
- Orak İ, Koçyiğit A, 2016. The Electrical Characterization Effect of Insulator Layer between Semiconductor and Metal. *Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.* 6(3): 57-67.
- Reddy VR, 2014. Electrical properties of Au/polyvinylidene fluoride/n-InP Schottky diode with polymer interlayer. *Thin Solid Films*, 556: 300-306.
- Reddy VR, Manjunath V, Jandarhanam V, Kil Y-H, Choi C-J, 2014. Electrical Properties and Current Transport Mechanisms of the Au/n-GaN Schottky Structure with Solution-Processed High-k BaTiO_3 Interlayer. *Journal of Electronic Materials*, 43: 3499-3507

- Sze SM, 1981. Physics of Semiconductor Devices. Wiley and Sons, New York 832p.
- Sharma BL, 1984. Metal-semiconductor Schottky barrier junctions and their application, Plenum Press, New York, 376p.
- Tan SO, 2017. Comparison of graphene and zinc dopant materials for organic polymer interfacial layer between metal semiconductor structure. IEEE Trans. Electron Devices 64 : 5121–5127.
- Taşçıoğlu İ, Tüzün Özmen Ö, Şahban HM, Yağlıoğlu E, Altındal Ş, 2017. Frequency Dependent Electrical and Dielectric Properties of Au/P3HT:PCBM:F4-TCNQ/n-Si Schottky Barrier Diode. Journal of Electronic Materials, 46 (4): 2379–2386.
- Yeargan JR, Taylor HL, 1968. The Poole-Frenkel effect with compensation present. J Appl Phys, 39(12): 5600-5604.
- Yerişkin S, Balbaş M, Orak İ, 2017. Frequency dependent electrical characteristics and origin of anomalous capacitance -voltage (C-V) peak in Au/(graphene-doped PVA)/n-Si capacitors. J. Mater. Sci: Mater Electron. 28:7819-7826.
- Werner J, Levi AFJ, Tung RT, Anslowar M, Pinto M, 1988. Origin of the Excess Capacitance at Intimate Schottky Contacts. Phys Rev Lett, 60:53-56.

Effect of Molar Concentration on Structural, Morphological and Optical Properties of CdO Thin Films Prepared by Chemical Bath Deposition Method

Sibel MORKOÇ KARADENİZ^{1*}

ABSTRACT: Cadmium Oxide (CdO) thin films were grown on Indium Tin Oxide (ITO) coated glasses by Chemical Bath Deposition (CBD) technique. The concentration of aqueous bath was varied between 0.03 M and 0.05 M. The films were annealed at 400 °C for 2 h. Structural, morphological and optical properties of the CdO thin films were investigated with XRD, SEM and Uv-Vis measurements. Additionally, the hydrophobic and hydrophilic nature of the films were studied with the water contact angle (WCA) measurements. The CdO thin films showed cubic crystal phase diffraction peaks in the spectra. The surface of CdO thin films changed from prism-like morphology to network-like (nano-fibrous) morphology with increasing concentration. The optical band gaps of thin films were calculated between 3.816-3.857 eV by Uv-Vis spectra. The Prisma-like morphology exhibited maximum transmittance above 65%. Nature of the CdO thin film surface changed from hydrophobic to hydrophilic, depending on changing morphology with increasing the precursor concentration.

Keywords: Cadmium Oxide, Chemical Bath Deposition, the Effect of Concentration.

Kimyasal Banyo Biriktirme Metodu ile hazırlanmış CdO İnce Filmlerin Yapısal, Morfolojik ve Optik Özellikleri Üzerinde Molar Konsantrasyonu Etkisi

ÖZET: Kadmiyum Oksit (CdO) ince filmler, farklı konsantrasyonlardaki solüsyonlar kullanılarak İndiyum Kalay Oksit (ITO) kaplamalı camlar üzerine Kimyasal Banyo Biriktirme (CBD) yöntemi ile sentezlenmiştir. CdCl₂'nin sulu banyosunun konsantrasyonu 0.03 M ile 0.05 M arasında değişmektedir. Filmler 400 °C 'de 2 saat tavlansmıştır. CdO ince filmlerin yapısal, morfolojik ve optik özellikleri araştırılmıştır. Ek olarak, filmlerin hidrofobik ve hidrofilik yapısı, su temas açısı (WCA) ölçümleriyle çalışılmıştır. Bütün filmler kübik kristal yapıdan elde edilmiş, ancak ince filmlerin yüzey morfolojisi artan konsantrasyon ile, prizma benzeri yapılardan ağsı (nano lifli) yapılara dönüşmüştür. Optik bant boşluğu Uv-Vis spektrumları kullanılarak değerleri 3.816-3.857 eV aralığında hesaplanmıştır. Prizma benzeri morfoloji %65 üzerinde maximum geçirgenlik göstermiştir. Konsantrasyonun artmasıyla, CdO ince filmlerin yüzey doğası, morfolojide meydana gelen değişikliklere bağlı olarak hidrofobik yapıdan hidrofilik yapıya dönüşmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum Oksit, Kimyasal Banyo Biriktirme, Konsantrasyon Etkisi

¹ Sibel MORKOÇ KARADENİZ (Orcid ID: 0000-0002-3215-1300), Department of Physics, Faculty of Arts and Sciences, Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, Turkey

*Sorumlu Yazar: Sibel MORKOÇ KARADENİZ, e-mail: morkocsibel@gmail.com

INTRODUCTION

CdO has used some applications due to having unique electrical and optical properties depending on vacancies and crystal structure such as wide bandgap (2.5 eV direct and 1.98 eV indirect), high transparency in the visible and near infrared rays (NIR) (Jung et al., 2014; Ahmed, 2017). It is one of TCO, II-IV group metal oxide semiconductor with FCC Bravais lattice cubic crystal structure which makes it similar to the NaCl crystal structure (Ahmed, 2017). CdO structures can be synthesized by several methods such as spin coating (Thambidurai et al., 2015), solvothermal synthesis (Ghosh and Rao, 2004), spray pyrolysis (Usharani et al., 2015), chemical bath deposition (Bulakhe and Lokhande, 2014). Among them, the CBD method is very easy, low cost, large area and repeatable technique (Morkoç Karadeniz et al., 2016).

In this paper, it was reported that thin films in form of CdO were synthesized by using simple CBD method at different precursor concentrations. Effect of the precursor concentration on structural, morphological and optical properties of the CdO thin films was investigated.

MATERIALS AND METHODS

In the present study, CdO thin films were grown on clean ITO substrates in the bath with 0.03, 0.04 and 0.05 M concentration. The bath was prepared using Cadmium Chloride (CdCl_2), Ammonia Hydroxide (NH_4OH - 26% NH_3 in H_2O) chemical compounds and distilled water. After mixing CdCl_2 and distilled water (50 ml) for ten minutes, NH_4OH was dropped

slowly in the bath until getting a clear solution (9-10 pH). The ITO substrates were cleaned with methanol and deionized water in an ultrasonic cleaner for ten minutes respectively. Then, the substrates were dried at 100 °C for 1 hour in an air oven. The clean ITOs were immersed in the bath for 4 days at the room temperature. The as-deposited $\text{Cd}(\text{OH})_2$ films were dried at 100 °C for 15-20 min. The reaction of CBD synthesis was given as follow;



Then, the samples were annealed at 400 °C for 2 hours to obtain the CdO thin films. The white $\text{Cd}(\text{OH})_2$ thin films converted to brown CdO thin films with an annealing process. The crystal structures of the films were studied using a Panalytical Empyrean X-Ray diffractometers (XRD) measurements operated at 45 kV, 40 mA with $\text{CuK}\alpha$ radiation ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). The morphological properties of the films were studied using an FEI Inspect S50 Model Scanning Electron Microscopy (SEM). The optical properties of the thin films were studied using a PerkinElmer Lambda-35 Ultraviolet-Visible Spectrophotometer (Uv-Vis) and the water contact angles of the thin films were observed using an Optical Tensiometer (Attension, Theta Lite) method.

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows XRD patterns of the CdO thin films. The XRD peaks were in good agreement with the cubic CdO crystal system with (111) preferential orientation (Morkoç Karadeniz et al., 2016; Güney and İskenderoğlu, 2019).

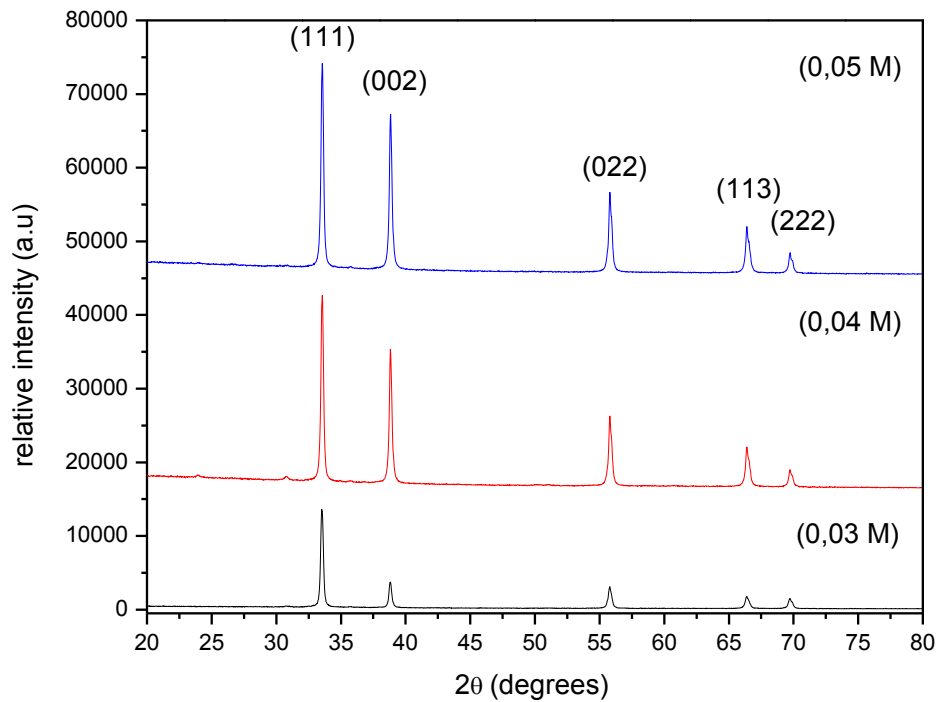


Figure 1. XRD spectra of the CdO thin films

The (002), (022), (113), (222) peaks also emerged in the fig.1 (JCPDS file No. 05-0640). The crystallinity of the thin film was improved with increasing concentration. The quantitative improvement in the crystallinity can be understood from the calculation of the grain size (D) using Scherrer's formula is given as Equation 1;

$$D = 0.9\lambda / \beta \cos\theta \quad (1)$$

where λ is the x-ray wavelength (1.5406 Å for CuK α), θ is the diffraction angle and β is the full width half maximum (FWHM). XRD parameters of the films are given in Table 1.

Table 1. XRD parameters of the CdO thin films

Concentration (M)	$2\theta^\circ$	d-spacing Å	a (Å)	FWHM	D (nm)
0.03	33.2224	2.69675	4.67077	0.205	42
0.04	33.5141	2.67174	4.62745	0.183	47
0.05	33.5185	2.67139	4.62648	0.178	48

Figure 2 shows SEM images of the CdO thin films. In previous studies, it was obtained CdO nanoplates for 0.1 M concentration with 12 pH on glass substrates (Bulakhe and Lokhande, 2014) and CdO nanolayers for 0.03 M concentration with 9-10 pH on ITO substrates (Morkoç Karadeniz et al., 2016) in the same bath for different conditions. In the present study, prism-like morphology with porous was obtained for 0.03 M concentration in the bath. Then, network-like (nano-fibrous) structures were grown on the prism-like structures with increasing precursor concentration (0.04 M). Distribution density of the CdO network-like (nano-fibrous) structures on the surface increased for 0.05 M concentration. Although the morphology of the

thin films changed with increasing solution concentration, preferential orientation of the crystal structure didn't change.

$\text{Cd}(\text{OH})_2$ ions get closer to each other to start the nucleation process in the bath, after nucleation of $\text{Cd}(\text{OH})_2$ molecules are aligned in one direction. Then, aggregated $\text{Cd}(\text{OH})_2$ ions merge into each other and finally, in stacking process, a collection of $\text{Cd}(\text{OH})_2$ molecules aggregates form prism-like morphology (Bulakhe and Lokhande, 2014). With increasing precursor concentration, the cadmium content in solution increases and saturate over the surface. Since the higher concentration causes higher viscosity and more complex structures, network-like (nano-fibrous) agglomeration is formed.

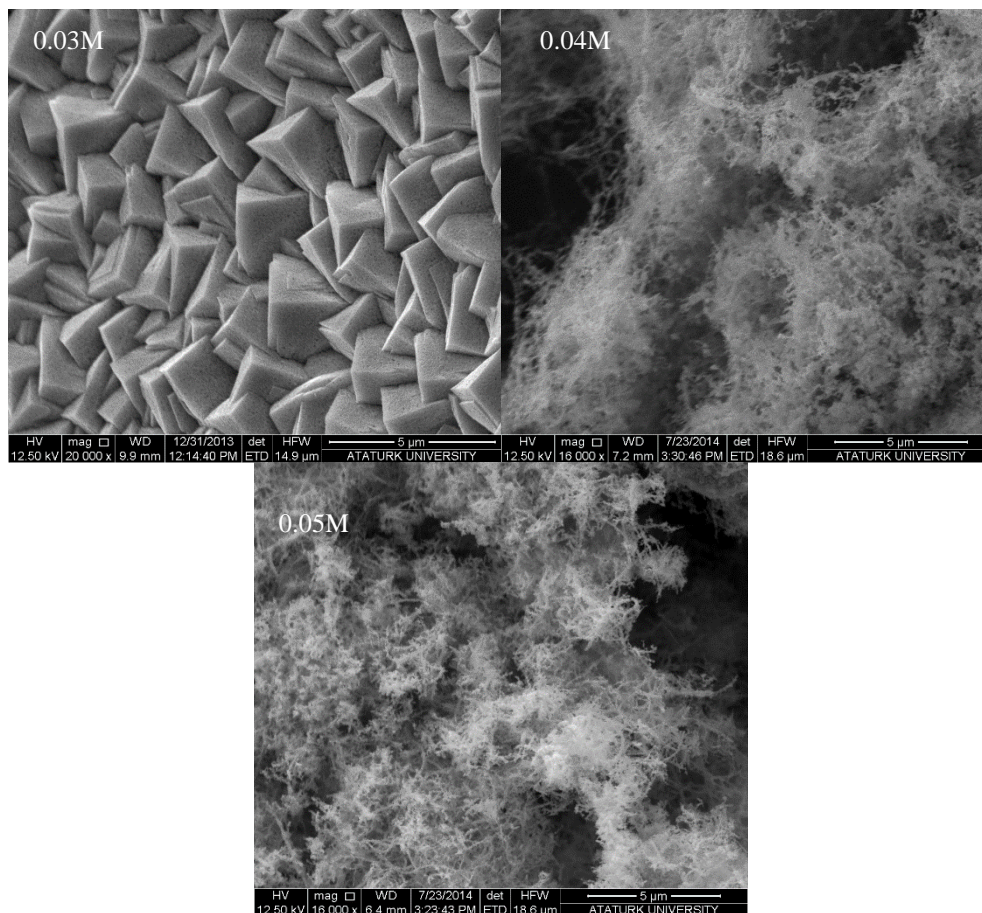


Figure 2. SEM images of the CdO thin films

Prism-like CdO thin films can be used for solar cell applications as a TCO film if it has high transmittance value (Chala et al., 2015). Also, It is known that prism-like and network-like (nano-fibrous) CdO thin films can be used for gas sensor applications (Bulakhe and Lokhande, 2014; Salunkhe et al., 2008). It is reported that if the thickness of the film increases, gas sensor performance of the films increases (Chandiramouli and Jeyaprakash, 2013).

Figure 3 shows UV-Vis Transmittance (%T) and Absorbance (A) spectra (Wavelength range in 300–700 nm) of the CdO thin films. It was determined that the optical transmittance decreases, due to the increased film thickness of thin films. In the present study, CdO thin film which was grown on TCO substrate in the bath with 0.03 M concentration, shows high transmittance (69 %). Therefore, it can be used solar cell applications (Chala et al., 2015).

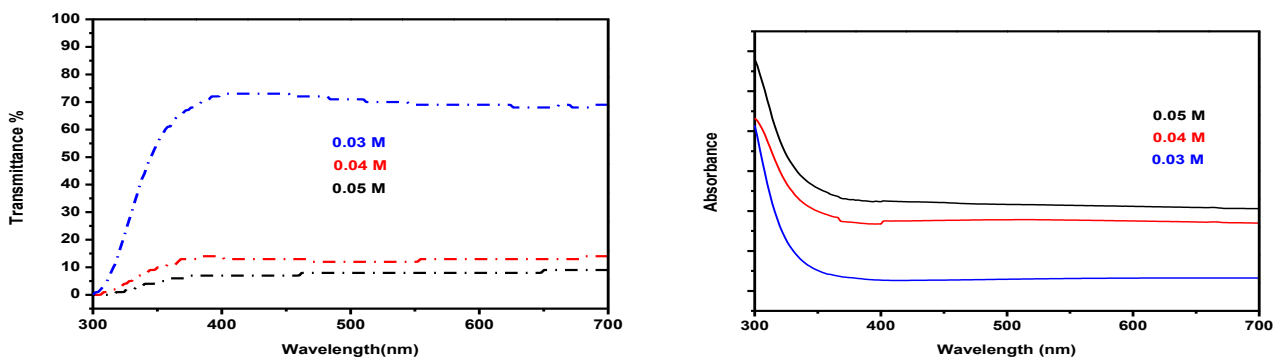


Figure 3. Transmittance (T %) and Absorbance (A) spectra of the CdO thin films

Figure 4 shows $(\alpha h\nu)^2$ versus $h\nu$ diagrams of the CdO thin films plotted by using Eqs. 2 and 3. Tauc Equation is given as Equation 2;

$$\alpha h\nu = A(h\nu - E_g)^n \quad (2)$$

where $h\nu$ is photon energy, it has been given as Equation 3;

$$h\nu = 1240 / \lambda \quad (3)$$

The optical band gap (E_g) was obtained using the linear part of the graph in figure 4. The point which cuts x-axis, that belongs to the linear part gives the E_g values.

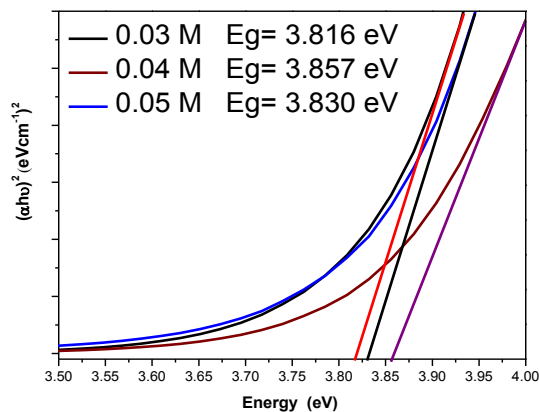


Figure 4. $(\alpha h\nu)^2$ vs. $h\nu$ spectra of the CdO thin films

In this study, it was obtained higher optical band gaps than the bulk CdO band gap due to Burstein - Moss effects in the

semiconductors (Yousefi et al., 2012). Approximate T % and E_g (eV) values of the CdO thin films were given in Table 2.

Table 2. Transmittances (T %) and Optical band gaps (E_g) of the CdO thin films

Concentration (M)	T (%) ($\lambda \sim 600$ nm)	E_g (eV)
0.03	69	3.816
0.04	13	3.857
0.05	8	3.830

Figure 5 shows WCA images of the CdO thin films. The chemical composition of the surface determines its surface energy: whereas surfaces rich in non-polar groups have low surface energies and, thus, are hydrophobic, surfaces with a high density of polar groups

exhibit high surface energies and are hydrophilic. If the thin film has a hydrophobic nature, it shows less wettable. With regard to surface topography, an increase in the surface roughness enhances the surface hydrophobicity for the thin films (Jakaria et al., 2014).

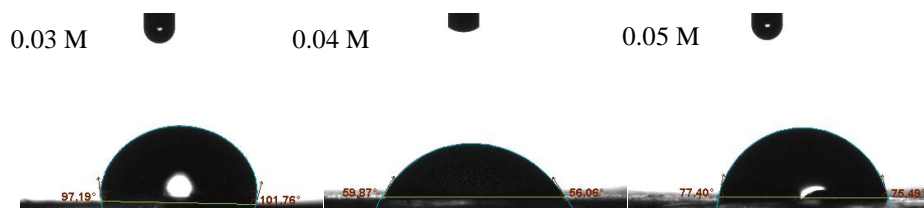


Figure 5. WCA images of the CdO thin films

If WCA of the film is larger than 90° , the structure becomes hydrophobic nature and if WCA of the film is smaller than 90° , the structure becomes hydrophilic nature (Myint et al., 2013). Also, the highly hydrophilic (WCA $< 10^\circ$) coating can be desirable for some applications (Kenanakis et al., 2008).

It is known that thin films give a larger contact angle if they have a higher surface to volume ratio, smaller WCA indicates larger particles or the absence of a nanostructures on the surface of the substrate, the asymmetry exhibited by the angles is attributed to the irregular distribution of nanoparticles on the

surface (Rashidzadeh et al., 2016). The Prisma-like CdO structures had a larger contact angle because of their higher surface to volume ratio and the increasing concentration decreased their contact angle and lotus effect. The hydrophilic nature for network-like (nano-fibrous) structure is attributed to the irregular distribution of nanoparticles (agglomeration) on the surface of the substrate with increasing concentration. So, the CdO thin films lost hydrophobic nature with losing Prisma-like shapes of the nanostructures. Left, right, mean WCAs of the CdO thin films were given in Table 3.

Table 3. WCAs of the CdO thin films

Concentration (M)	Contact Angles (CA°)		
	Left	Right	Mean
0.03	96.91	101.56	99.24
0.04	62.12	59.28	60.70
0.05	77.84	76.10	76.97

CONCLUSION

In this study, CdO thin films were grown by the CBD method at different precursor concentration. All of the CdO thin films showed a cubic crystal structure. The (111) peak intensity of the patterns increased with increasing concentration. As a function of increasing concentration, the prism-like morphology structures of the CdO thin films were coated with network-like (nano-fibrous) structures. The hydrophobic CdO prism-like structures with high transmittance (69%) and wide optical band gap (3.81 eV) is desirable as a TCO metal oxide for solar cell and gas sensor applications. Additionally, CdO thin films with nano-fibrous morphology can be used for LPG gas sensors due to high thickness.

ACKNOWLEDGMENT

Thanks to the research laboratory of Atatürk University for SEM microphotographs and thank to the research laboratories of Erzincan Binali Yıldırım University for other characterization techniques.

REFERENCES

- Ahmed HH, 2017. Variation of the structural, optical and electrical properties of CBD CdO with processing temperature. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 66:215–222.
- Bulakhe RN, Lokhande CD, 2014. Chemically deposited cubic structured CdO thin films: Use in liquefied petroleum gas sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 200:245-250.
- Chala S, Sengouga N, Yakuphanoglu F, 2015. Modeling the effect of defects on the performance of an n-CdO/p-Si solar cell. *Vacuum*, 120:81-88.
- Chandiramouli R, Jeyaprakash BG, 2013. Review of CdO thin films. *Solid State Sciences*, 16: 102-110
- Ghosh M, Rao CNR, 2004. Solvothermal synthesis of CdO and CuO nanocrystals. *Chemical Physics Letters*, 393:493-497.
- Güney H, İskenderoğlu D, 2019. The effect of Zn doping on CdO thin films grown by SILAR method at room temperature. *Physica B: Condensed Matter*, 55:119-123
- Jakaria A, Kateryna B, Michael O, Mohan VJ, 2014. Wetting, Solubility and Chemical Characteristics of Plasma-Polymerized 1-Isopropyl-4-Methyl-1,4-Cyclohexadiene Thin Films. *Coatings*, 4:527-552
- Jung Y, Baek SH, Park JI, 2014. Controllable deposition of cadmium oxide and hydroxide nanostructures on silicon using a hydrothermal method. *Journal of Alloys and Compounds*, 595:46-50.

- Kenanakis G, Stratakis E, Vlachou K, Vernardou D, Koudoumas E, Katsarakis N, 2008. Light-induced reversible hydrophilicity of ZnO structures grown by aqueous chemical growth. *Applied Surface Science*, 254: 5695-5699.
- Morkoç Karadeniz S, Kılınç T, Bozkurt Çırak B, Irmak Sakaoğlu T, Çırak Ç, Ertuğrul M, Ekinci A.E, 2016. Structural, Morphological and Optical Properties of Well-Ordered CdO nanostructures Synthesized by Easy-Economical Chemical Bath Deposition Technique. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 36:1998-2000.
- Myint MTZ, Kumar NS, Hornyak GL, Dutta J, 2013. Hydrophobic/hydrophilic switching on zinc oxide micro-textured surface. *Applied Surface Sciences*, 264: 344-348.
- Rashidzadeh M, Carbajal-Franco G, Tiburcio-Silver A, 2016. Hydrophobic Coatings Composed by Cubic-Shaped CdO Nanoparticles Grown by a Novel and Simple Microwave Method. *Journal of Nanoparticles*, 2016:1-6.
- Salunkhe RR, Shinde VR, Lokhande CD, 2008. Liquefied petroleum gas (LPG) sensing properties of nanocrystalline CdO thin films prepared by chemical route: Effect of molarities of precursor solution. *Sensors and Actuators B*, 133:296–301
- Thambidurai M, Muthukumarasamy N, Ranjitha A, Velauthapillai D, 2015. Structural and optical properties of Ga-doped CdO nanocrystalline thin films. *Superlattices and Microstructures*, 86:559-563.
- Usharani K, Balun AR, Nagarethinam VS, Suganya M, 2015. Characteristic analysis on the physical properties of nanostructured Mg-doped CdO thin films—Doping concentration effect. *Progress in Natural Science: Materials International*, 25: 251–257.
- Yousefi R, Jamali-Sheini F, Khorsand ZA, Mahmoudian MR, 2012. Effect of indium concentration on morphology and optical properties of In-doped ZnO nanostructures. *Ceramics International*, 38:6295-6301

Agar ve Selüloz Gam İlavesinin Kavılca (*Triticum Spelta* L.) Un ve Ekmeğinin Reolojik ve Dokusal Özellikleri Üzerine Etkisi

Ferhat YÜKSEL^{1*}

ÖZET: Bu çalışmanın amacı farklı konsantrasyonlarda (% 0-0.5 ve 1) hem agar hem de selüloz gam ile zenginleştirilmiş kavılca (*Tr. Spelta* L.) unundan yapılan hamur ve ekmeklerin bazı reolojik ve tekstürel özelliklerini araştırmaktır. Hamurların reolojik özellikleri için creep-recovery (sürünme-geri kazanım) analizi gerçekleştirilmiştir. Örneklerin elastik özellikleri % 24.30 ile % 30.53 aralığında değişim göstermiştir. Agar ve selüloz gamları ile zenginleştirilmiş hamurların sürünme ve geri kazanım analiz sonuçları istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Tekstür profil analiz (TPA) sonuçlarına göre ilave edilen gamlar ekmek örneklerinin sertlik, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değerlerini artırmıştır ($p<0.05$). Agar ve selüloz gamların kavılca unu ekmeği üzerine etkileri önemsiz bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kavılca unu (*Tr. Spelta* L.), agar ve selüloz gum, reolojik ve dokusal özellikler

The Effect of Addition of Agar and Cellulose Gums on the Rheological and Textural Properties of Kavılca (*Triticum Spelta* L.) Flour and Bread

ABSTRACT: The aim of this study was to investigate some rheological and textural properties of dough and bread made by kavılca flour (*Tr. Spelta* L.) enriched with either agar or cellulose at three different concentrations (0-0.5 and 1%). The creep-recovery analysis was conducted for the doughs rheological properties. The elastic properties of samples were in the range of 24.30-30.53 %. Our results revealed that addition of agar or cellulose gums did not significantly impact the rheological properties of dough. According to the results of texture profile analysis, the firmness, stickiness and chewiness properties of bread samples were increased with the addition of gums ($p<0.05$). Addition of agar and cellulose gums did not significantly change the bread quality characteristics.

Keywords: Kavılca flour (*Tr. Spelta* L.), agar and cellulose gums, rheological and textural properties

¹Ferhat YÜKSEL (Orcid ID: (Orcid ID: 0000-0003-1995-9820), Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 29100, Gümüşhane, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ferhat Yüksel, e-mail: fyuksel@gumushane.edu.tr

GİRİŞ

Milattan önce 5000 yıllarında ekiminin yapıldığı bilinen kavılca (*Tr. Spelta* L.) çeşidi buğdayların günümüzde hala tarımı devam etmektedir. İçermiş olduğu yüksek besin değerleriyle kavılca buğdayı son yıllarda araştırmacıların ilgi alanına girmiş ve birçok gıda ürününde kullanılmıştır (Zielijski ve ark., 2008; Coda ve ark., 2010). *Triticum spelta* buğdayı % 62-67 karbonhidrat, % 14.7-17 protein, % 5.7-9.1 lif, % 2.1-2.7 yağ, mineraller, vitaminler içermektedir (Erdem, 2009; Boukid ve ark., 2018). Sahip olduğu yüksek protein, lif ve fitokimyasallar ile kavılca buğdayının, başta ekmek olmak üzere birçok fırıncılık ürününde kullanılabilmesi ve beslenme içerikleri zenginleştirilmiş gıdalar üretilebileceği görülmektedir.

Antik bir çeşit olan kavılca 20. yüzyılın başlarına kadar Almanya, İsviçre ve Avusturya gibi ülkeler başta olmak üzere pek çok bölgede yaygın bir biçimde üretilip tüketilmeydi. 21. yüzyılda ise *Tr. aestivum*'un ekmek üretiminde en çok tercih edilen buğday olmasından dolayı kavılca tipi buğdayların üretimi ve tüketimi kısıtlı bölgelerde devam etmiştir. Son yıllarda tüketicilerdeki bilinçlenme ve gelişen gıda endüstrisi ile birlikte daha sağlıklı ve fonksiyonel ürünlerin tüketim alışkanlıklarımızdaki yerini almaya başlaması kavılca buğdayları üzerine yapılan çalışmaları artırmıştır. Bu çalışmalar kavılca buğdayının besinsel kalitesini, protein (glüten) içeriğini, kavılca unundan elde edilen hamurların reolojik ve tekstürel özelliklerini kapsamaktadır. Kavılca ununun sahip olduğu gluten modern buğdaylardakine göre daha az elastik karakterlidir. Bu nedenle kavılca ile elde edilen hamurlar daha zayıf özellik sergilemektedirler. Bu özellik, kavılca buğdayının sahip olduğu yüksek gliadin ve düşük glutenin oranı ile açıklanmaktadır (Schober ve ark., 2006). Günümüzde yaygın bir biçimde kullanılan

modern buğday unlarına ilave edilen kavılca unları, hazırlanan ekmeklere çok güçlü bir koku, iyi bir hacim, özel bir tat, uzun süren tazelik ve yumuşaklık kazandırmaktadır. Fakat yalnızca kavılca unlarının kullanıldığı ekmeklerde hacim, tekstür, renk ve duyu anlamında sorunlar yaşanabilmektedir (Bojnanska ve Francakova, 2002). Yapılan bir çalışmada buğday unu ve kavılca unundaki gluten miktarı ile bu glutenlerin şişme karakteristikleri incelenmiştir. Buğday unu ve kavılca unu yaş gluten içerikleri sırasıyla; % 31.55 ve % 41.0 bulunmuştur. Yaş glutence daha zengin olan kavılca unu aynı kaliteyi gluten şişme analizinde gösterememiştir. Buğday unu gluten şişme analizi sonucu 18 cm³ iken kavılca ununda bu oran 6 cm³ olarak bulunmuştur. Bu durumun kavılca buğdayı gluteninin çok az esnek ve çok fazla dağılmış olmasından kaynaklandığı belirtilmektedir (Bojnanska ve Francakova, 2002; Schober ve ark., 2006).

Bu çalışmada agar ve selüloz gamları ile zenginleştirilmiş kavılca unu (*Tr. Spelta* L.) hamuruna creep-recovery (sürünme-geri kazanım) testi ve elde edilen ekmeklere tekstür profil analizleri uygulanmıştır. Hidrokolloidlerin hamurun dokusundaki etkileri ve kullanılan bu gamların gluten kalitesi düşük kavılca unu hamurundaki reolojik ve tekstürel etkilerini olumlu etkileyip etkilemediği araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan kavılca unu (Bob's Red Mill Spelt, %13.3 protein, %3.3 yağ, %13 diyet lif) ile selüloz (Aqualon) ve agar (Wildpower) gamları internetten temin edilmiştir (www.amazon.com). Hamur yapımında kullanılan maya, tuz ve diğer katkı maddeleri bölgesel marketlerden temin edilmiştir (Gümüşhane, Türkiye).

Hamur ve ekmeklerin üretimi

Reolojik ölçümlerde kullanılacak hamurlar Çizelge 1 de verilen çalışma planına göre hazırlanmıştır (hamurlar herhangi bir katkı maddesi kullanılmadan üretilmişlerdir). Hamurların su kaldırma kapasiteleri ön denemeler neticesinde 60 ± 2 mL olarak belirlenmiştir (Swanson-Working mixograph (National Mfg. Co., Lincoln, NE, USA). Tekstür profil analizinde kullanılan ekmekler, Yuksel ve

Kayacier (2016)'in kullandıkları metoda bazı modifikasyonlar uygulanarak hazırlanmıştır. Un (100 g), maya (3 g), tuz (1.5 g) ve su (60 ± 2 mL) karıştırılarak (Mixograph, National Mfg. Co., Lincoln, NE, USA) elde edilen hamurlar $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 45 dk 1. fermantasyona bırakılmışlardır. Daha sonra hamurlar $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 60 dk 2. fermantasyona bırakılmışlardır. Ardından şekil verilerek $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 20 dk fırında pişirilen hamurlar dinlendirilip analizler gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Çalışma planı

Örnek No	Kavılca (<i>Tr. Spelta</i> L.) Un (g)	Agar (g)	Selüloz (g)
1	100	0	0
2	100	0.5	0
3	100	0	0.5
4	100	0.5	0.5
5	100	1	0
6	100	0	1

Hamurların reolojik analizleri

Hamurların creep-recovery (Sürünme-geri kazanım) testleri Yılmaz ve ark. (2012)'de yaptıkları çalışmaya göre belirlenmiştir. Creep-recovery analizi için ARG-2 Model (From TA instrument, Newcastle, DE, USA) Reometre kullanılmıştır. Örnekler 40 mm çaplı paralel plate kullanılarak test edilmiştir. Çizelge 1'e göre taze hazırlanmış hamur örneklerinden paralel plate üzerine yerleştirilen hamurların fazla kısmı tıraşlanmış ve analiz gerçekleştirilmiştir. Plate aralığı 2 mm olarak belirlenmiştir. Creep-recovery testi $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ de oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Creep-recovery testi için süre 240 saniye olarak belirlenmiş olup bu sürenin ilk 120 saniyesi creep sonraki 120 saniyesinde recovery verileri elde edilmiştir. Hamurların deformasyonu için creep test 50 Pa 'da 120 saniye baskıya maruz bırakılmıştır. Ardından üzerindeki baskı kaldırılarak recovery analizi gerçekleştirilmiştir. Her bir ölçüm 3 kez

tekrar edilmiştir. Creep compliance (uyum) $J(t)$ aşağıdaki 1 numaralı eşitlik ile belirlenmiştir:

$$J(t)=\gamma(t)/\sigma \quad (1)$$

Burada γ shear strain (kayma gerinimi) ve σ shear stress (kesme gerinimi) dir. $J(t)$ ise zamana karşı toplanan compliance datalarıdır.

Son recovery ve viskozite oranları da aşağıdaki eşitlik 2 ve 3 kullanılarak belirlenmiştir:

$$\% R = \left[\frac{(J_{MAX} - J_{\infty})}{J_{MAX}} \right] \times 100 \quad (2)$$

$$\% V = (J_{\infty} - J_{MAX}) \times 100 \quad (3)$$

J_{MAX} 120 saniye sonraki maksimum deformasyonu ifade etmektedir. J_{∞} ise sistemdeki sonsuz compliance'ı ifade etmektedir.

Ekmeğin Tekstür Profil analizlerinin (TPA) analizi

Ekmeğin tekstürel özellikleri tekstür analiz cihazı (TA instrument, Newcastle, DE, USA) kullanılarak belirlenmiştir. 2×2×2 (en×boy×yükseklik) şeklinde kesilen ekmeğin örnekleri cihazın platform kısmına konulmuştur. Analiz için 50 kg yük hücresi ile 25.4 mm çaplı silindirik prob kullanılmıştır. Tetikleyici kuvveti 5 g olarak ayarlanmıştır. Test öncesi hız 5 mm s⁻¹, test hızı 1 mm s⁻¹ ve test sonrası hızı 5 mm s⁻¹ olarak uygulanmıştır. Her ölçüm 5 kez tekrar edilmiştir. Analiz sonunda tekstür yorumlayıcı program kullanılarak şu veriler elde edilmiştir; sertlik (kg), yapışkanlık (kg×mm), sakızimsılık (kg), çiğnenebilirlik (kg), esneklik (%) ve elastikiyet. Sertlik örneklerin sıkıştırılmasında gerekli olan maksimum kuvveti ifade eder, elastikiyet örneklerin geri kazanım oranlarının bir ölçüsüdür, esneklik örnek üzerine uygulanan kuvvet kaldırıldığında onun geri orijinal formuna dönme yeteneğini ifade eder, sakızimsılık örneklerin çiğnenmesi için gerekli enerjiyi belirtir, yapışkanlık örneklerin çiğnenirken dişlere yapışma kuvvetini gösterir ve çiğnenebilirlik örneklerin ağıza alındığında dişler tarafından parçalanabilmesi için gerekli olan enerjiyi göstermektedir.

İstatistiksel analiz

Tüm istatistiksel analizler SAS istatistiksel paket programı genel lineer model prosedürü kullanılarak analiz edilmiştir (Version 8.2, SAS 2002; SAS Institute inc., Carry, NC, USA). Elde edilen verilerde sonuçlar üzerine faktörlerin etkisi varyans analizi ile tespit edilmiş, çoklu karşılaştırmalar ile grup ortalamaları karşılaştırılmıştır (p<0.05).

BULGULAR VE TARTIŞMA

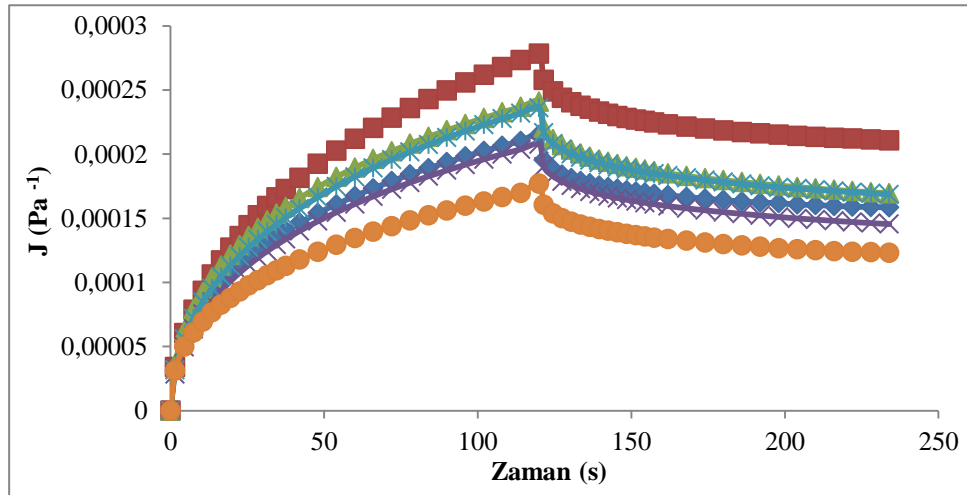
Örneklerin su kaldırma kapasitesi yapılan ön denemeler neticesinde literatürdeki çalışmalara benzer olarak 60±2 mL bulunmuştur (Çizelge 1). Spelt hamurları üzerine yapılan bazı

çalışmalarda su kaldırma kapasiteleri şu şekilde belirlenmiştir; % 57.7 (Pruska-Kedzior ve ark., 2008), % 69.3 (Kohajdová ve Karovičová, 2007), % 60 (Bonofaccia ve ark., 2000). Hamur örneklerinin geri kazanım fazları, viskozite ve elastikiyet oranlarını gösteren değerler Çizelge 2 de verilmiştir. Hamur örneklerine agar ve selüloz gamların ilavesinin örneklerin geri kazanım fazları üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (p>0.05). Elde edilen verilere göre kontrol örneklerinin J_{MAX} ve J_∞ değerleri sırasıyla şu şekilde tespit edilmiştir, 2.10×10⁻⁴ ve 1.6×10⁻⁴. En düşük J_{MAX} ve J_∞ değerleri 100 g una 1 g selüloz gamı ilavesinde bulunurken en yükseği ise 100 g una 0.5 g agar gamı eklendiğinde tespit edilmiştir. Hamur örneklerine ait viskozite oranları % 75.7 ile % 69.5 aralığında değişim göstermiştir. Elastikiyet oranları ise % 30.53 ile % 24.30 aralığındadır. Örneklere ait en yüksek ve en düşük viskozite ve elastikiyet değerleri de 100 g una 0,5 g agar gamı ve 1,0 g selüloz gamı ilaveli formülasyonlarda görülmüştür.

Sürünme-geri kazanım kurvelerinin gösterildiği Şekil 1'de en düşük değerlerin 100 g una 1 g selüloz gam ilavesiyle elde edildiği, en yüksek ise 100 g una 0.5 g agar gam ilavesiyle elde edildiği gözlemlenmiştir. Kavılca unlarının viskoelastik özellikleri içermiş oldukları gluten matriksine bağlı olarak değişmektedir. Kavılca ununda gliadin oranının yüksek ve glutenin oranının düşük olduğu bildirilmiştir. Modern buğday ile kavılca (spelt) unu karşılaştırıldığında kavılca unun çok daha fazla viskoz olduğu, fakat daha az elastik özellik gösterdiği belirtilmiştir (Kohajdová ve Karovičová, 2008; Lacko-Bartošová ve Korczyk-Szabó, 2011; Schober ve ark., 2006). Yapılan bazı çalışmalarda kavılca unlarından elde edilen hamurların elastik özelliklerinin çalışmamızdaki bulgulara benzer şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir (Schober ve ark., 2002; Pruska-Kedzior ve ark., 2008).

Çizelge 2. Hamur örneklerin geri kazanım fazları, viskozite ve elastikiyet oranları

Örnek No	$J_{MAX} \times 10^{-4}$	$J_{\infty} \times 10^{-4}$	Viskozite (%)	Elastikiyet (%)
1	2.10±0.38 ^a	1.60±0.26 ^a	73.73	26.27
2	2.80±0.45 ^a	2.10±0.52 ^a	75.70	24.30
3	2.40±0.64 ^a	1.70±0.60 ^a	70.35	29.65
4	2.10±0.48 ^a	1.50±0.66 ^a	70.06	29.94
5	2.40±0.03 ^a	1.70±0.01 ^a	71.38	28.62
6	1.80±0.00 ^a	1.20±0.00 ^a	69.47	30.53

**Şekil 1.** Hamurların creep-recovery (sürünme-geri kazanım) kurveleri. (◇; 1. Örnek, □; 2. Örnek, Δ; 3. Örnek, ×; 4. Örnek, *; 5. Örnek, ○; 6. Örnek)

Çizelge 1'e göre hazırlanmış hamur formülasyonlarından üretilen ekmeklere ait tekstür profil analiz sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir. Tekstür profil analiz sonuçlarına göre esneklik, sakızimsılık ve elastikiyet değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir ($p > 0,05$). Ekmek formülasyonuna ilave edilen gam miktarları arttıkça örneklerin sertlik ve yapışkanlık değerlerinin de yükseldiği belirlenmiştir. Çiğnenabilirlik değerlerinde ise en düşük değer gam ilave edilmemiş ekmek örneklerinde

gözlemlenirken Çizelge 1'e göre yapılan formülasyon sıralamasına göre bir artış tespit edilmiştir. Bojňanská ve ark., (2016) da yaptıkları bir çalışmada buğday unu (%70)+*Triticum spelt* unu (%30) karışımına guar ve ksantan gam ilave ederek örneklerin reolojik ve tekstürel özelliklerini incelemişlerdir. Guar gam ve ksantan gam ilavesinin ekmeklerdeki somun hacim (loaf volume) özelliklerini artırdığını, geri kazanım (recovery) fazlarında iyileşmeler yaptığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 3. Ekmeklerin tekstür profil analiz (TPA) sonuçları

Örnek No	Sertlik (kg)	Yapışkanlık (%)	Esneklik (%)	Sakızimsılık (kg)	Çiğnenabilirlik (kg)	Elastikiyet
1	205.48±18.9 ^b	22.68±0.9 ^b	0.22±0.02 ^a	78.17±5.1 ^a	17.22±2.0 ^b	0.07±0.002 ^a
2	259.99±27.3 ^a	22.16±5.1 ^a	0.23±0.02 ^a	97.31±15.3 ^a	22.42±4.6 ^{ab}	0.07±0.01 ^a
3	284.53±8.30 ^a	34.77±12.8 ^a	0.23±0.01 ^a	103.90±6.33 ^a	24.30±2.3 ^a	0.06±0.001 ^a
4	263.13±12.1 ^a	29.46±6.1 ^a	0.22±0.02 ^a	93.54±5.57 ^a	20.64±2.8 ^{ab}	0.07±0.003 ^a
5	293.38±34.4 ^a	16.51±1.4 ^a	0.23±0.01 ^a	96.50±7.50 ^a	22.37±2.2 ^{ab}	0.06±0.01 ^a
6	265.70±19.6 ^a	30.07±1.1 ^a	0.24±0.02 ^a	105.74±11.0 ^a	25.86±4.2 ^a	0.07±0.003 ^a

Her bir sütundaki farklı harfler örneklerin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$).

SONUÇ

Bu çalışmada kavılca (*Tr. Spelta* L.) buğdayı ununa agar ve selüloz gam ilave ederek elde edilen hamurların reolojik özellikleri ile sonrasında elde edilen ekmeklerdeki tekstür profil analizleri incelenmiştir. Hamur örneklerinin viskozite değerleri bir miktar azalma sergilerken, elastikiyet oranlarında ise artma gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak ekmeklerdeki sertlik, yapışkanlık ve çiğnenebilirlikte de artışlar görülmüştür. İnsanların beslenme alışkanlıklarının değiştiği günümüzde kavılca ve siyez gibi besleyici içeriği yüksek buğdaylara ve ürünlerine olan rağbet gittikçe artmaktadır. Bu çalışma ile kavılca unundan ekmek elde etmek için kullanılacak hidrokolloidlerin tek başına yeterli olmadığı ve arzulanan tekstürde ekmek elde edebilmek için kavılca unun ekmeçlik buğday unları ile desteklenmesinin gerektiği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Bonafaccia G, Galli V, Francisci R, Mair V, Skrabanja V, Kreft I, 2000. Characteristics of spelt wheat products and nutritional value of spelt wheat-based bread. *Food Chemistry*, 68: 437-441
- Bojňanská T, Francakova H, 2002. The use of spelt wheat (*Triticum spelta* L.) for baking applications. *Rostlinna Vyroba*, 48 (4): 141-147.
- Bojňanská T, Šmitalová J, Vollmannová A, 2016. Effect Of The Addition Of Hydrocolloids On The Rheological And Baking Properties Of The Products With Added Spelt Flour (*Triticum Spelta* L.). *Potravinarstvo*, 10 (1): 157-163
- Boukid F, Folloni S, Sforza S, Vittadini E, Prandi B, 2018. Current Trends in Ancient Grains-Based Foodstuffs:

- Insights into Nutritional Aspects and Technological Applications. *Comprehensive Reviewsin Food Science Food Safety*, 17: 123-136.
- Coda R, Nionelli L, Rizzello CG, De Angelis M, Tossut P, Gobbetti M, 2010. Spelt and emmer flours: characterization of the lactic acid bacteria microbiota and selection of mixed starters for bread making. *Journal of Applied Microbiology*, 108: 925–935
- Erdem H, 2009. *Triticum spelta* buğdayında tane çinko konsantrasyonu yüksek ve çinko eksikliğine dayanıklı genotiplerin belirlenmesi ve karakterize edilmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Adana.
- Kohajdová Z, Karovičová J, 2007. Effect Of Incorporation Of Spelt Flour On The Dough Properties And Wheat Bread Quality. *Nauka Technology Jakość*, 4 (53): 36 – 45
- Kohajdová Z, Karovičová J 2008. Nutritional Value And Baking Applications Of Spelt Wheat. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Aliment*, 7 (3): 5-14
- Lacko-Bartošová M, Korczyk-Szabó J, 2011. Indirect baking quality and rheological properties of spelt wheat (*Triticum Spelta* L.). *Research Journal of Agriculture Science*, 43, 1, 73-78.
- Pruska-Kedzior A, Kedzior Z, Klockiewicz-Kaminska E, 2008. Comparison of viscoelastic properties of gluten from spelt and common wheat. *European Food Research Technology*, 227:199–207
- Schober TJ, Clarke CI, Kuhn M, 2002. Characterization of functional properties of gluten proteins in spelt cultivars using rheological and quality factor measurements. *Cereal Chemistry*, 79 (3): 408-417.

- Schober TJ, Beana SR, Kuhn M, 2006. Gluten proteins from spelt (*Triticum aestivum ssp. spelta*) cultivars: A rheological and size-exclusion high-performance liquid chromatography study. *Journal of Cereal Science*, 44: 161–173.
- Yilmaz TM, Karaman S, Dogan M, Yetim H, Kayacier A, 2012. Characterization of O/W model system meat emulsions using shear creep and creep recovery tests based on mechanical simulation models and their correlation with texture profile analysis (TPA) parameters. *Journal of Food Engineering*, 108: 327–336.
- Yuksel F, Kayacier A, 2016. Utilization of stale bread in fried wheat chips: Response surface methodology study for the characterization of textural, morphologic, sensory, some physicochemical and chemical properties of wheat chips. *LWT-Food Science Technology*, 67: 89-98.
- Zielijski H, Ceglijska A, Michalska A, 2008. Bioactive compounds in spelt bread. *European Food Research Technology*, 226: 537–544.

Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) Ununun Tavuk Köfte Üretiminde Kullanım Olanakları

Osman KILINÇÇEKER^{1*}, Ali Mücahit KARAHAN¹

ÖZET: Bu çalışmada keçiboynuzu unu ve galeta unundan farklı oranlarda hazırlanan karışımların %5 seviyesinde tavuk köftelere ilavelerinin bazı özellikler üzerine etkileri araştırılmıştır. Kızartılmamış örneklerde renk değerleri belirlenirken, 175 °C'de 5 d kızartılan köftelerde verim, çap azalması, renk değerleri, nem tutma oranları, yağ emme oranları ve duyuşsal özellikler saptanmıştır. Çalışma sonunda keçiboynuzu ununun kızartılmamış örneklerde kırmızılık (*a*) değerini artırdığı gözlenmiştir. Ayrıca kızartılan örneklerde verim ve nem tutma oranlarını artırmış, duyuşsal değerlerde ise düşük oranlarda kullanımlarında alternatif bir malzeme olabileceğini göstermiştir. Bütün sonuçlara bağılı olarak, tavuk köftelere 1:2 ve 2:1 oranlarında keçiboynuzu unu:galeta unu karışımlarının tavsiye edilebileceği anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Keçiboynuzu unu, tavuk köfte, kızartma, duyuşsal kalite

Usage Possibilities of Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Flour in Producing of Chicken Meatballs

ABSTRACT: In this study, mixtures at different ratios of carob flour and breadcrumbs were added in chicken meatballs at level of 5% and their effects on some properties were investigated. Color values of raw samples were determined whereas yield, diameter reduction, color values, moisture retention ratios, fat absorption ratios and sensory properties of fried meatballs at 175 °C for 5 min were established. In the end of the study, it was observed that carob flour increased the *a* value of raw samples. However, it increased the yield and moisture retention ratios whereas showed that it may be an alternative material in low ratios for sensory properties. Based on the results, it was understood that carob flour: breadcrumbs mixtures can be recommended at 1:2 and 2:1 ratios in chicken meatballs.

Keywords: Carob flour, chicken meatball, frying, sensory properties

Osman KILINÇÇEKER (Orcid ID: 0000-0002-5222-1775), Ali Mücahit KARAHAN (Orcid ID: 0000-0001-8779-4349), Adıyaman Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, 02000, Adıyaman, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Osman Kılınççeker, e-mail: okilincceker@adiyaman.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 29.06.2018
Kabul tarihi / Accepted: 15.12.2018

GİRİŞ

Et ve ürünleri protein, yağ ve mineral madde gibi besin içeriklerinden dolayı birçok çalışmada insanlar için besleyici değeri yüksek gıdalar olarak belirtilmişlerdir. Özellikle beyaz etler hem ucuz hem de kaliteli protein ve düşük yağ oranlarından dolayı tavsiye edilmiş, elzem amino asit ve yağ asidi içerikleri birçok çalışmada avantaj olarak gösterilmiştir (Soyer ve ark., 1999; Kılınççeker, 2017).

Bu nedenlerle, bu tarz etlerde gıda üretimi yapan firmalar çeşitli üretim tekniklerini veya katkı maddelerini kullanarak bahsedilen kaliteyi korumayı ve tüketimi artırmayı amaçlamaktadırlar. Araştırmalarında çeşitli katkıları kullanırken, özellikle bitkisel kökenden gelen hammaddeleri kullanarak, üretimde görülebilen hataları azaltmayı ve insanlara farklı alternatifler sunmayı hedeflemektedirler. Özellikle bu tarz ürünlerin hazırlanmasında ve tüketiminde görülebilen dağılma, şekil bozuklukları, fire kaybı ve renk kusurlarını iyileştirerek üretimde kolaylık sağlayıp, tüketicinin de dikkatini çekmeye çalışmaktadırlar (Serdaroğlu and Değirmencioğlu, 2004; Demirci et al., 2014; Kurt and Kılınççeker, 2012; Kılınççeker et al., 2015).

Bu problemleri gidermek için çeşitli koruyucuların, renk maddelerinin veya yapı düzenleyicilerin kullanımı örnek olarak gösterilebilirken, son zamanlarda kullanımı yaygınlaşan diğer bir grup ise bitkisel kökenli malzemelerden elde edilen unların kullanımındır (Dogan et al., 2005; Santhi and Kalaikannan, 2014).

Farklı et ürünlerinin üretimi için buğday, yulaf ve mısır gibi tahılların farklı uygulamaları kullanılırken, nohut ve mercimek gibi baklagil unlarının kullanımı da söz konusu olmuştur. Hatta domates tozu veya patates unu gibi sebze unlarının kullanımı da örnek olarak verilmiştir (İkhlis et al., 2011; Kılınççeker et al., 2015)

Bu tarz malzemelerin yapısındaki protein ve karbonhidrat gibi bileşenlerin yapı düzenleyici özellikleri ve mineral madde gibi besleyici değeri artırıcı özellikleri ile üretilen köftelerin besin kalitelerini artırdığı belirtilmiştir. Bahsedilen malzemelerin yapılarındaki diyet özellikteki liflerin beslenme için faydaları vurgulanırken, ürün yapısında tutulan suyu artırmaları ile pişme esnasında fire kaybını azalttıkları, köfte tekstürünü ve yeme kalitesini de iyileştirebildikleri saptanmıştır. Ayrıca doğal renk maddeleri ile köfte rengine olumlu etkileri de belirtilmiştir (Egbert et al., 1991; Giese, 1992; Talukder and Sharma, 2010).

Bitkisel kökenli malzemelere başka bir örnek de keçiboynuzudur. Keçiboynuzu *Fabales* sınıfından *Fabaceae* familyasına ait bir bitkinin meyvesidir. Özellikle Akdeniz ikliminin görüldüğü yerlerde yetişmektedir. Yaklaşık % 90 meyve eti ve % 10 çekirdekten oluşan keçiboynuzu kuru madde bazında; ortalama % 52-62 şeker içerirken, 100 g keçiboynuzu 25.83 g diyet lif, 4.18 g protein ve 0.69 g yağ içermektedir. Ayrıca mineral madde ve fenolik bileşiklerce de oldukça zengin olan bu meyve etken madde olarak D-pihitol içermektedir. D-pihitolün de insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkileri olduğu belirtilmiş ve birçok araştırmaya konu olmuştur. Ancak yapılan literatür araştırmalarında bu meyvenin et ve ürünlerinde kullanımı ile ilgili çalışmaların oldukça yetersiz olduğu anlaşılmıştır. (Karkacier ve Artık, 1995; Pazır ve Alper, 2016).

Anlatılanlara bağlı olarak, bu çalışmada keçiboynuzunun bahsedilen özellikleri göz önüne alınmış ve tavuk köfte yapımında kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu tarz ürünlerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan galeta unu ile farklı oranlarda karıştırılarak bileşime katılmış, ham ve kızarmış örneklerde bazı özellikler üzerine etkisi ortaya çıkarılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) unu piyasadan temin edilmiştir. Tavuk göğüs eti ve diğer malzemeler Adıyaman'da yerel firmalardan alınmışlardır. Taze olarak alınan tavuk etleri köfte yapılına kadar -18 °C'de depolanmışlardır. Donmuş etler 4 °C'de 14-16 saat çözünmeye bırakılmış ve Tefal marka kıyma makinasının 3'lük aynasında kıyılarak köfte yapımında kullanılmışlardır. Kızartma işlemlerinde mini kızartma makinası (Tefal) ve Güçlü marka (Türkiye) sıvı ay çiçek yağı kullanılmıştır. Başlangıç aşamasında keçiboynuzu unu ve galeta unundan: % 100 galeta unu (kontrol), 1:2 keçiboynuzu unu:galeta unu, 2:1 keçiboynuzu unu:galeta unu ve % 100 keçiboynuzu unu olacak şekilde karışımlar hazırlanmıştır. Bu karışımlardan alınarak % 92.5 kıyılmış et + % 5 un karışımı + % 1.5 tuz + % 1 ayçiçek yağı olacak şekilde asıl örnekler

hazırlanmıştır. Örnekler iyice yoğurulduktan sonra 20 d 4 °C'de dinlendirilmiş, sonra 19 g ağırlığında ve 29-30 mm çap aralığında olan yuvarlak köfteler haline getirilmişlerdir. Her bir muamele için hazırlanan 4 adet köfte, eşit miktardaki yağ içerisinde, 175 °C'de 5 d kızartılmışlardır. Bu süreçte ham ve kızarmış köftelerde renk değerleri (*L*, *a*, *b*) kolorimetre (Konica Minolta, Inc., Osaka, Japan) kullanılarak ölçülmüştür. Kızartma sonrası verim değerleri hassas terazi, çap değişimleri ise dijital kumpas kullanarak Kurt and Kılınççeker (2012)'in aşağıdaki Eşitlik 1 ve 2'de belirttiği şekilde hesaplanmıştır. Ham örneklerde ağırlık ve çaplar ölçüldükten sonra kızartma işleminden yaklaşık 1 d sonra uygulanan ağırlık ve çap azalması ölçümlerinde her bir örnek için 4'er köfte kullanılmıştır. Ayrıca kumpasla ölçümler her bir köftede 3 farklı noktadan olacak şekilde yapılmıştır.

$$\text{Kızartma verimi (\%)} = \frac{\text{Kızarmış köfte ağırlığı}}{\text{Çiğ köfte ağırlığı}} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Çap azalması (\%)} = \frac{\text{Çiğ köfte çapı} - \text{Kızarmış köfte çapı}}{\text{Çiğ köfte çapı}} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

Köftelerdeki nem tayinleri kızartma öncesi ve kızartma sonrası örnekler alınarak, 105 °C'de etüvde kurutma ile, yağ oranları ise hegzan kullanarak soxhelet ekstraksiyon metodu

ile yapılmıştır (Anonim, 2002). Bu değerlere bağlı olarak hesaplanan nem tutma ve yağ emilim oranları aşağıdaki eşitliklere göre hesaplanmıştır.

$$\text{Nem tutma (\%)} = \frac{\text{Kızarmış köftedeki nem (\%)}}{\text{Çiğ köftedeki nem (\%)}} \times \text{verim} \dots\dots\dots(3)$$

$$\text{Yağ emilim (\%)} = \text{kızarmış köftedeki yağ (\%)} - \text{çiğ köftedeki yağ (\%)} \dots\dots\dots(4)$$

Son olarak pişmiş köftelerin duyu analizlerinde, her bir örnek için 6'şar köfte hazırlanarak 175 °C'de 5 d kızartılmışlardır. Kızartma işleminden 2 d sonra, kısa bir eğitime

tabi tutulmuş 8 kişilik gıda işleme bölümü öğrencisine, Gökalp ve ark., (1999)'nın kitabında belirtildiği gibi, hedonik beğeni derecelendirme metoduna bağlı olarak 1-9

arasında puan vermeleri istenmiştir. Çalışma iki tekerrür ve üç paralel olarak yürütülmüştür. Analizler için SPSS 16.0 (2007) istatistik paket programı kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına varyans analizi uygulanmış, istatistiksel olarak önemli çıkan ortalamalar $P<0.01$ ve $P<0.05$ düzeyinde Duncan çoklu karşılaştırma testine tabii tutulmuş ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir (SPSS, CHICAGO, IL, USA).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Köfte gibi genellikle hızlı bir şekilde hazırlanıp satışı yapılan gıdalarda önemli özelliklerden bir tanesi renktir. Hem satışta hem de tüketim esnasında tüketicilerin dikkatini ilk olarak çekerek satışta önemli etkiye sahiptir. Genel olarak, parlak kırmızı renk tercih edilirken bu durum kullanılan katkı maddelerine göre değişim göstermektedir (Kılınççeker, 2017). Yapılan çalışmada kıvartılmamış örneklerdeki

renk değerleri Çizelge 1'de sunulmuştur. Çizelgeye göre keçiboynuzu ununun miktarının artması parlaklığı (*L*) ve sarılığı (*b*) azaltırken, kırmızılık (*a*) değerini artırmıştır ($p<0.01$). En yüksek sonuçlar parlaklık için 49.83 olarak kontrol grubunda, kırmızılık için 7.64, 7.78 ve 7.81 olarak keçiboynuzu içeren bütün örneklerde, sarılık değerleri için ise 13.58 ve 12.22 olarak kontrol ve 1:2 K:G içeren köftelerde ortaya çıkmıştır. Benzer şekilde yapılan çalışmalara bakıldığında; Demirci et al. (2014) farklı gamlar ile, Cava et al. (2012) farklı lifler ile hazırladıkları beyaz et ürünlerinde pişmemiş örneklerin renk değerlerinin etkilendiğini belirlemişlerdir. Ortaya çıkan farklılığın gamlar ve liflerin yapısındaki doğal renk maddelerinden olduğunu vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda da keçiboynuzu ununun doğal koyu-kırmızısı renginin parlaklık ve sarılığı azaltırken, kırmızılığı artırdığı düşünülmektedir.

Çizelge 1. Keçiboynuzu ununun kıvartılmamış köftelerdeki renk değerleri üzerine etkisi

Bileşen	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
Kontrol	49.83 \pm 0.43 ^a	3.47 \pm 0.12 ^b	13.58 \pm 0.10 ^a
1:2 K:G	37.65 \pm 0.08 ^b	7.81 \pm 0.88 ^a	12.22 \pm 0.39 ^a
2:1 K:G	30.37 \pm 2.01 ^c	7.64 \pm 0.61 ^a	9.68 \pm 0.97 ^b
% 100 K	29.17 \pm 0.26 ^c	7.78 \pm 0.31 ^a	8.96 \pm 0.36 ^b

K: Keçiboynuzu unu; G: galeta unu; a-c: her bir sütündeki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P<0.05$)

Isıl işlem uygulama ile et ve ürünlerinde oluşan önemli değişimlerden bazıları elde edilen verim, çap veya şekil değişimi ve oluşan renk özellikleridir. Verim ve şekil değişimi satılabilir ağırlık ve ambalajlama üzerinde etkili olduğundan çoğunlukla üretici ve satıcıları etkilerken, ısı ile oluşan renk ise tüketici tercihinde önemli etkiye sahiptir. Bu nedenle bu tarz ürünlerde özellikle belirlenmeleri tavsiye edilmektedir (Demirci et al., 2014; Kılınççeker, 2017). Bu değerlere ait sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığı zaman

keçiboynuzu unu katmanının örneklerdeki kıvartma sonrası verim değerlerini kontrole göre önemli oranda artırdığı anlaşılmış, ama keçiboynuzu unu içeren örneklerin kendi arasında farksız oldukları gözlenmiştir ($p<0.01$). Kıvartma sonrası çap azalmaları muamelelerden etkilenmezken ($p>0.05$), parlaklık, kırmızılık ve sarılık değerlerinin azaldığı saptanmıştır ($p<0.01$). En yüksek verim oranı % 89.59, % 90.09 ve % 90.24 olarak keçiboynuzu unu içeren bütün örneklerde ortaya çıkmıştır. Çap azalması değerlerinin -0.92 ile 2.36 aralığında olduğu

belirlenmiştir. Buna karşın, en yüksek renk değerleri ise parlaklık için 44.15, kırmızılık için 13.72 ve sarılık için 21.46 olarak kontrol grubunda ölçülmüştür. Benzer şekilde yapılan çalışmalara bakıldığında; Kurt and Kılınççeker (2012)'in araştırmalarında farklı bitkisel unların köftelerde pişirme sonrası verimi artırdıkları belirtilmiştir. Ayrıca Talukder and Sharma (2010) ile Cava et al. (2012)'nin çalışmalarında da tavuk ürünlerine lif katılması sonucu pişme sonrası verimlerin arttığı saptanmıştır. Bahsedilen çalışmalarda verim üzerinde kullanılan unların protein ve lif içerikleri ile

bitkisel liflerin toplam lif oranlarının etkili olduğu vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda da keçiboynuzu ununun protein içeriği ve özellikle lif içeriğinin verim artışına sebep olduğu düşünülmektedir. Kızartma işlemi ile renk değerlerinin düşmesi kızarmamış örneklerde de belirtildiği gibi keçiboynuzunun doğal renginden dolayıdır. Kızartma ile birlikte renk bileşenleri denatüre olarak bu değerlerde düşüşe sebep olmuştur. Bu sonuçlara benzer veriler Demirci et al. (2014) ile Kılınççeker ve Yılmaz (2016) tarafından yapılan köfte çalışmalarında da bulunmuştur.

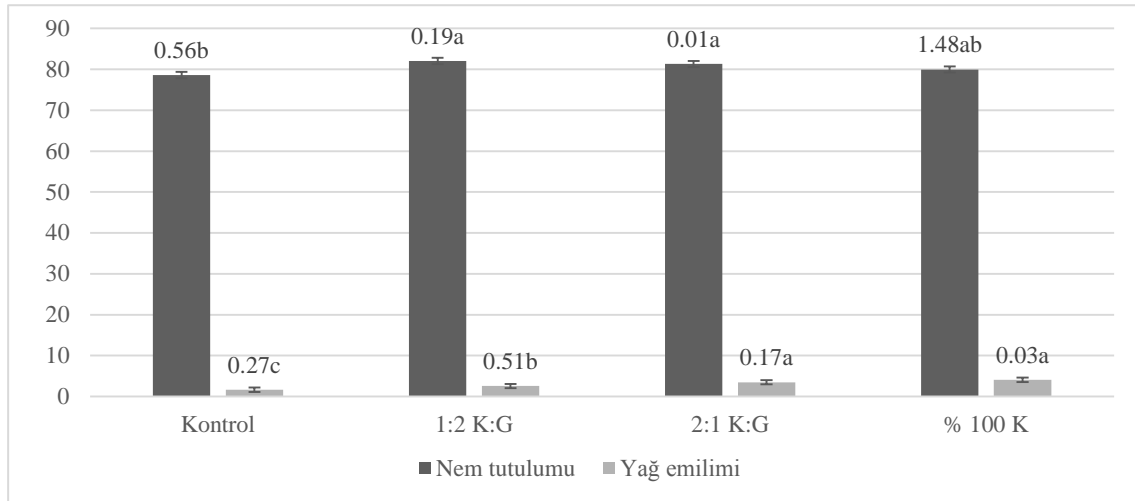
Çizelge 2. Keçiboynuzu ununun kızarmış köftelerdeki verim, çap azalması ve renk değerleri üzerine etkisi

Bileşen	Verim (%)	Çap azalması (%)	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
Kontrol	87.38±0.10 ^b	2.36±0.40 ^a	44.15±0.10 ^a	13.72±0.00 ^a	21.46±0.01 ^a
1:2 K:G	90.09±0.51 ^a	1.03±0.93 ^a	33.10±0.75 ^b	11.49±0.51 ^b	13.62±0.59 ^b
2:1 K:G	89.59±0.37 ^a	0.47±2.45 ^a	27.73±0.48 ^c	9.92±0.25 ^c	9.95±0.39 ^c
% 100 K	90.24±0.68 ^a	-0.92±4.21 ^a	26.96±0.28 ^c	8.95±0.18 ^d	8.61±0.31 ^d

K: Keçiboynuzu unu; G: galeta unu; a-d: her bir sütündeki istatistiksel farklılığı göstermektedir (P<0.05)

Kızartılarak tüketilen et ürünlerinde en önemli kalite kriterlerinden ikisi nem ve yağ içerikleridir. Direk kalori değeri ile ilgili olan bu nitelikler tüketiciler tarafından artık daha fazla dikkate alınmaktadır. Dolayısıyla hazır yemek sektöründe kızartma uygulanan gıdalarda yapıdaki suyu koruyacak ve emilen yağ azaltacak bileşenler tercih edilmektedir (Pinero et al., 2008; Kılınççeker, 2017). Bu çalışmada kızartılan köftelere ait nem tutma ve yağ emme oranları Şekil 1'de gösterilmiştir. Sonuçlara göre keçiboynuzu unu katmanının tutulan nem oranını artırdığı (p<0.05) buna karşın emilen yağ oranını da yükselttiği (p<0.01) anlaşılmıştır. En yüksek nem tutma oranları % 82.04 ve % 81.31 olarak 1:2 K:G ve 2:1 K:G un karışımları ile hazırlanan köftelerde saptanmıştır. En düşük yağ emme oranı ise % 1.66 olarak kontrol grubunda ortaya çıkmıştır. Benzer şekilde Kurt and Kılınççeker (2012)'in farklı bitkisel unlar ile yaptıkları

köftelerde pişirme sonrası nem tutma oranlarının arttığı gözlenmiştir. Kılınççeker (2017)'de farklı gamlar ile hazırladığı tavuk köftelerde gam eklemenin kızartma esnasında tutulan nemi artırdığını, emilen yağ ise azalttığını gözlemiştir. Bu sonuçlar unların yapısındaki proteinlerin ve lifler ile gamların hidrofilik özelliğinden dolayı su tutma yeteneğine bağlanmıştır. Ayrıca ısı işlem ile proteinlerdeki denatürasyon ve gamlardaki jelatinize olma gibi yapısal değişimlerinde bariyer görevi görerek buna destek sağladığı vurgulanmıştır. Benzer sonuçlar Demirci et al. (2014) ile Soltanzadeh and Ghiasi-Esfahani (2015)'in çalışmalarında da ortaya çıkarken, bu çalışmada kızartma esnasında emilen yağ oranlarının artması keçiboynuzu ilavesi ile oluşan yumuşak yapıya bağlanabilir. Oluşan yumuşak yapı suyu tutarken, yağın içeriye nüfuzunu engelleyememiştir.



Şekil 1. Keçiboynuzu ununun kızarmış köftelerdeki nem tutma ve yağ emilim değerleri üzerine etkisi

Yeni geliştirilen gıdalarda bütün özellikler kadar önemli olan bir grup da son üründe oluşan duyuşal niteliklerdir. Ar-Ge çalışmalarında tüketici tercihi ölçmek için mutlaka uygulanan kalite belirteçleridirler. Çalışmamızda bu özelliklere ait puanlar Çizelge 3'te gösterilmiştir. Çizelgeden de anlaşılacağı üzere genel olarak kontrol, 1:2 K:G ve 2:1 K:G karışımları ile hazırlanan köftelerdeki duyuşal puanlar % 100 K ile hazırlanan örneklerdeki puanlardan yüksek çıkarken ($p < 0.05$), kendi aralarında istatistiksel olarak farksız oldukları anlaşılmıştır. Sadece keçiboynuzu katmanının koku puanları üzerindeki etkisi önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$). En yüksek puanlar görünüş için 7.43-7.68, renk için 7.25-7.62, tat için 7.43-8.06 ve tekstür için ise 7.68-8.06 aralığında olacak şekilde kontrol, 1:2 K:G ve 2:1 K:G içeren örneklerde ortaya çıkmıştır. Duyuşal özellikler üzerinde keçiboynuzunun rengi, oluşturduğu yumuşak yapı ve kendine özgü tadı etkili olmuştur. Bahsedilen bu

özellikler belirli bir seviyeye kadar tercihi olumlu etkilerken, bu seviyeden sonra duyuşal puanları düşürdüğü anlaşılmıştır. Benzer sonuçlar Kurt ve Kılınççeker (2012)'in çalışmasında bitkisel unlar ile hazırlanan köftelerde de gözlenmiştir. Katılan unların bazıları puanları artırırken, sarımercimek unu gibi kendine özgü kokusu ve tadı olanların puanları düşürdüğü saptanmıştır. Bilek and Turhan (2009) tarafından yapılan bir çalışmada ise köftelere keten tohumu unu katmanın duyuşal puanları düşürdüğü, ancak belirli seviyede kullanmanın sağlıklı beslenme için olumlu olacağı söylenmiştir. Başka bir çalışmada ise Kılınççeker (2015) tarafından balık köftelere çeşitli bitkisel unları katarak hazırlanan köftelerdeki duyuşal puanların kabul edilebilir seviyede fakat istatistiksel olarak farksız oldukları belirlenmiştir. Bizim çalışmamızdaki duyuşal özelliklere ait sonuçlar bahsedilenler ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 3. Keçiboynuzu ununun kızarmış köftelerdeki duyuşal değerler üzerine etkisi

Bileşen	Görünüş	Renk	Koku	Tat	Tekstür
Kontrol	7.43±0.26 ^{ab}	7.56±0.08 ^a	7.43±0.80 ^a	8.06±0.26 ^a	8.00±0.00 ^a
1:2 K:G	7.62±0.00 ^a	7.25±0.00 ^{ab}	6.18±0.44 ^a	7.43±0.61 ^a	7.68±0.61 ^a
2:1 K:G	7.68±0.26 ^a	7.62±0.71 ^a	6.68±0.26 ^a	7.62±0.17 ^a	8.06±0.08 ^a
% 100 K	6.93±0.26 ^b	6.37±0.18 ^b	6.81±0.08 ^a	6.43±0.10 ^b	6.81±0.08 ^b

K: Keçiboynuzu unu; G: galeta unu; a-b: her bir sütündeki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$)

SONUÇ

Yapılan çalışma sonucunda keçiboynuzu ununun tavuk köftelerde bazı özellikleri etkileyebileceği anlaşılmıştır. Ham örneklerde özellikle kırmızılık (*a*) değerini artırırken, düşük oranlarda kullandıklarında parlaklık (*L*) ve sarılık (*b*) değerleri içinde alternatif malzeme olabileceği anlaşılmıştır. Kızarmış örneklerde renk değerlerinde düşüşe sebep olsa da, verimi ve nem tutma oranlarını artırmada kullanılabilmesi, ayrıca köftelerin duysal kalitesini geliştirmede düşük oranda kullanımında avantaj sağlayabileceği gözlenmiştir. Bütün sonuçlara bağlı olarak özellikle 1:2 K:G ve 2:1 K:G karışımları tavsiye edilebilirken, keçiboynuzu ununun farklı gıdalarda kullanım olanaklarının araştırılmasının önemli olduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi için maddi destek sağlayan Adıyaman Banvit Şirketi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2002. Official Methods of Analysis (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Bilek AE, Turhan S, 2009. Enhancement of the Nutritional Status of Beef Patties by Adding Flaxseed Flour. *Meat Sciences*, 82(4): 472-477.
- Cava R, Ladero-Cantero L, Ramirez VR, 2012. Assessment of Different Dietary Fibers (tomato fiber, beet root fiber, and inulin) for the Manufacture of Chopped Cooked Chicken Products, *Journal of Food Sciences*, 77(4): 346-352.
- Demirci ZO, Yılmaz I, Demirci AŞ, 2014. Effects of Xanthan, Guar, Carrageenan, and Locust Bean Gum Addition on Physical, Chemical, and Sensory Properties of Meatballs, *Journal of Food Sciences and Technology*, 51(1): 936-942.

- Dogan S, Sahin S, Sumnu G, 2005. Effects of Soy and Rice Flour Addition on Batter Rheology and Quality of Deep-fat Fried Chicken Nuggets. *Journal of Food Engineering*, 71(1): 127-132.
- Egbert RW, Huffman DL, Chen C, Dylewski P. 1991. Development of Low-fat Ground Beef. *Food Technology*, 45(6): 64-73.
- Giese J, 1992. Developing Low-fat Meat Products. *Food Technology*, 46(4): 100-108.
- Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y, Zorba O, 1999. Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yay No: 318, Erzurum, Turkey.
- İkhlâs B, Huda N, Noryati I, 2011. Chemical Composition and Physicochemical Properties of Meatballs Prepared from Mechanically Deboned Quail Meat Using Various Types of Flour. *International journal of Poultry Science*, 10(1): 30-37.
- Karkacıer M, Artık N, 1995. Keçiboynuzunun (*Ceratonia siliqua*) Fiziksel Özellikleri, Kimyasal Bileşimi ve Ekstraksiyon Koşulları. *Gıda*, 20(3): 131-136.
- Kılınççeker O, 2015. Some Quality Characteristics of Fish Meatballs Manufactured with Different Vegetable-based Flours. *Gıda*, 4(2): 61-67.
- Kılınççeker O, 2017. Tara, Tragakant ve Agar Agar Gamlarının Tavuk Köftelerde Kullanımı. *Gıda*, 42(3): 219-228.
- Kılınççeker O, Hepsağ F, Kurt S, 2015. The Effects of Lentil and Chickpea Flours as the Breeding Materials on Some Properties of Chicken Meatballs During Frozen Storage. *Journal of Food Sciences and Technology*, 52(1): 580-585.
- Kılınççeker O, Yılmaz MT, 2016. Farklı bitkisel liflerin çığ ve kızartılmış tavuk köftelerdeki bazı kalite özellikleri üzerine etkileri. Türkiye 12. Gıda Kongresi, 5-7 Ekim 2016, Edirne.

- Kurt Ş, Kılınççeker O, 2012. The Effects of Cereal and Legume Flours on the Quality Characteristics of Beef Patties. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18(5): 725-730.
- Pazır F, Alper Y, 2016. Keçiboynuzu Meyvesi (*Ceratonia siliqua* L.) ve Sağlık. Akademik Gıda, 14(3): 302-306.
- Pinero MP, Parra K, Huerta-Leidenz N, Moreno LA, Ferrer M, Araujo S, Barboza Y 2008. Effect of Oat's Soluble (β -glucan) as a Fat Replacer on Physical, Chemical, Microbiological and Sensory Properties of Low-fat Beef Patties. Meat Science, 80(3): 675-680.
- Santhi D, Kalaikannan A, 2014. The Effect of Addition of Oat Flour in Low-fat Chicken Nuggets. Journal of Nutrition and Food Sciences. 4(1): 1-4.
- Serdaroğlu M, Değirmencioğlu Ö, 2004. Effects of Fat Level (5%, 10%, 20%) and Corn Flour (0%, 2%, 4%) on Some Properties of Turkish Type Meatballs (koefte). Meat Sciences, 68(2): 291-296.
- Soltanzadeh N, Ghiasi-Esfahani H, 2015. Qualitative Improvement of Low Meat Beef Burger Using Aloe vera. Meat Science, 99(1): 75-80.
- Soyer A, Kolsarıcı N, Candoğan K, 1999. Tavuk Etlerinin Baz Kalite Özellikleri ve Besin Ögelerine Geleneksel ve Mikrodalga ile Pişirme Yöntemlerinin Etkisi. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 23(2): 289-296.
- Talukder S, Sharma DP, 2010. Development of Dietary Fiber Rich Chicken Meat patties Using Wheat and Oat Bran, Journal of Food Science and Technology - Mysore, 47(2): 224-229.

Farklı Görünüm Oranlı Bazalt Liflerin Betonun Mekanik Özelliklerine Etkisi

Meral OLTULU^{1*}, Hasan OKTAN¹

ÖZET: Performans özelliklerini içerdiği bileşen türü, bileşen miktarları ve farklı katkılarla değiştirebildiğimiz betonun en fazla kullanılan özel halinden biri de lifli betonlardır. Lif türü açısından bazalt liflerin özellikleri ve betona uyumu çoğu lif türüne göre daha iyidir. Çalışmada lifsiz kontrol betonlarına göre farklı görünüm oranlarında bazalt lif içeren betonların mekanik özelliklerinin değişimi araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, su/çimento oranı 0.46 olan, 400 dozlu, %5 filler katkılı lifli ve lifsiz beton numuneler üretilmiştir. 3mm, 12 mm ve 24 mm uzunluğunda üç farklı l/d oranlı (160, 630 ve 1263) bazalt lifler beş farklı hacimsel oranda %0.025, 0.05, 0.10, 0.15 ve 0.20 betona eklenmiştir. Bazalt lifli betonların basınç dayanımı için l/d oranından bağımsız olmak üzere genelde hacimce %0.05 oranından yüksek oranların kullanılması olumsuz sonuçlar vermiş, eğilmede çekme dayanımı için ise hemen hemen tüm grupların dayanım değerleri artmıştır. Çalışmadan çıkan bir diğer sonuçta mekanik özellikler açısından genel itibari ile iyi sonuçlar veren 3 mm (l/d:160)'lik liflerin kullanılması gerektiğidir.

Anahtar kelimeler: bazalt lif, lifli beton, mekanik özellikler

Effect of Aspect Ratio of Basalt Fiber on the Mechanical Properties of Concrete

ABSTRACT: One of the most used special types of concrete we can change with component types, component quantities and different additives that are included in performance characteristics is fiber concrete. In terms of fiber type, the properties of basalt fibers and their compatibility with concrete are better than most fiber types. In the study, the change of the mechanical properties of concrete containing basalt fiber at different aspect ratios according to non-fiber (control) concrete was investigated. For this purpose, samples of fiber and non-fiber concrete with a water/cement ratio of 0.46, 400 doses, 5% filler added were produced. Three different l/d ratios (160, 630 and 1263) of basalt fibers in 3 mm, 12 mm and 24 mm lengths were added to the concrete in 0.025%, 0.05, 0.10, 0.15 and 0.20 in five different volumes. For compressive strength of basalt fiber concretes, the use of higher ratio of 0.05% by volume, which is independent of l/d ratio, gave negative results and almost all groups have increased resistance values for bending tensile strength. As a result, 3 mm (l/d: 160) fibers, which give good results in terms of mechanical properties, should be used.

Keywords: basalt fiber, fiber concrete, mechanical properties

¹Meral OLTULU (Orcid ID: 0000-0002-3779-6888), Hasan OKAN (Orcid ID: 0000-0002-2680-6390), Atatürk Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Mühendisliği, Erzurum, Türkiye

*Sorumlu yazar/Corresponding Author: Meral Oltulu, e-mail: mroltulu@atauni.edu.tr

* Bu çalışma Hasan OKTAN'ın Yüksek Lisans tezinin bir bölümüdür

GİRİŞ

Günümüzde betonda aranan başlıca üç temel özellik; işlenebilirlik, dayanım ve dayanıklılıktır (Baradan ve ark., 2012). İstenen özelliği sağlaması ve düşük çekme, eğilme dayanımı gibi dezavantajlarının ortadan kaldırılması adına gerektiğinde farklı katkı malzemeleri ile kullanım amacına uygun beton dizaynları geliştirilmiştir. Bu amaçla hafif beton, ağır beton, su altında dökülebilen beton, prepakt beton, kendiliğinden yerleşen beton ve lifli betonlar olmak üzere birtakım özel beton türleri geliştirilmiştir. 1960'lı yıllardan itibaren betona taze halde iken çeşitli yöntemlerle, değişik miktarlarda eklenen belirli bir (boy/çap) narinlik oranına sahip, süreksiz, farklı tiplerde liflerin katılmasıyla oluşturulan lifli beton kavramı günümüze kadar gelişerek gelmiştir (Mindess ve ark., 2003). Lif olarak tanımlanan malzemeler metal, polimer, mineral esaslı olabilmektedirler (Osman ve ark., 2007).

Lifli beton, normal betonun özellikle çekme gerilmesi altında kırılma yapısını değiştirmek için ortaya çıkmış beton türüdür. Rastgele dağılan lifler beton içerisine karıştırıldığında (kırılmaya sebep olan) çatlaklarda köprü kurarak çatlağın genişlemesini durdurabilirler. Böylece normal betona liflerin eklenmesi betonun mekanik davranışını artırabilir (Branston ve ark., 2016). Lifler betonların tokluk, yorulma, ilk çatlak dayanımı gibi özelliklerini iyileştirmektedirler (Song ve Hwang, 2005; Nili ve Afroughsabet, 2010).

Lif türü ve oranı bu konuda en önemli parametreler olmak üzere yapılan çalışmalarda metalik, polimer ve seramik lifler (çelik, polipropilen, poliamid, polietilen, bazalt vb. lifler) gibi farklı kimyasal ve fiziksel yapıya sahip liflerin etkileri, optimum kullanılma oranları araştırılmıştır (Oltulu ve ark., 2007; Nili ve Afroughsabet, 2010).

Betonda en çok kullanılan lif türlerinden bazalt lifler; bazalt kayalarının 1400°C'de eritilmesiyle elde edilen maliyet açısından

avantajlı, toksik olmayan ve yalıtım açısından iyi liflerdendir. Bazalt ve cam liflerin her ikisi de silikattır, üretim süreçleri benzerdir. Camın aksine bazalt lifler ikinci malzeme içermez. Üretimde kullanılan teknoloji basittir (Girgin ve Yıldırım, 2016). Cam ve karbon life göre üretiminde katkı maddesi kullanılmadığından dolayı daha ucuzdur, daha az enerji maliyeti gerektirir (Girgin ve Yıldırım, 2016, Fiore ve ark., 2015).

Bazalt lifler cam elyaflara göre daha yüksek çekme dayanımı, karbon fiberlere göre daha yüksek kopma uzamasına sahiptir. Bununla birlikte, darbeye ve yangına karşı yüksek dayanım gösterir ve üretiminde kimyasal madde etkileri ve yangınla açığa çıkan zehirli gazlar daha azdır (Çevik, 2014). Gerilme mukavemeti cam liflerden yüksektir (Branston ve ark., 2016). Taramalı elektron mikroskopları ile bazalt lif ve matris arasında erken yaşlarda çok iyi bir bağlanma görülmektedir. Fakat bu bağ daha sonraki yaşlarda zayıflamaktadır (Jiang ve ark., 2014).

Bazalt lifin kullanılma oranları yapılan çalışmalarda farklılık göstermekle beraber Ralegaonkar ve ark., 2018; harçlar için çimento ağırlığının %1-3'ü arasında oranın kullanılmasını tavsiye ederken, Erdoğan 2014; hacimce %0.25, 0.50, 0.75 ve 1 oranlarında, Borhan, 2012; %0.1, 0.3, 0.5 oranlarında Jiang ve ark., 2014; %0.05, 0.1, 0.3, 0.5 ve Kızıllıkanat ve ark., 2015; %0.25, 0.50, 0.75 ve 1 oranlarında, Arslan 2017; 0.5, 1, 2 ve 3 kg m⁻³ ve Kabay, 2014 ve Dong ve ark., 2017; 2 kg m⁻³ ve 4 kg m⁻³ oranlarında bazalt lif kullanarak çalışmalar yapmışlardır.

Bilindiği üzere lifli betonlarda sadece lif oranı değil aynı zamanda görünüm oranı, narinlik oranı adı verilen l/d özelliğinin de önemi büyüktür. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda daha çok 12 mm ve 24 mm uzunluğunda lifler kullanılmış olup boyu 12 mm' den kısa bazalt liflerle ilgili çalışma çok azdır (Afroz ve ark., 2017; Qin ve ark., 2018) ve l/d etkisine bağlı

olarak bazalt lifin betonun özelliklerine etkisinin incelendiği çalışma da bulunmamaktadır.

Bazalt liflerle ilgili yapılan çalışmalardan görüldüğü kadarı ile narinlik oranı (l/d) ve optimum kullanım oranı ile ilgili hem yerel hem de yabancı literatürde az sayıda çalışma vardır. Optimum kullanım oranı ve ideal narinlik oranı konularında herhangi bir görüş birliğine varılmamıştır. Ayrıca lif boyu olarak 3 mm'nin seçildiği çalışmanın yok denecek kadar olması nedeniyle farklı boy, l/d oranı ve hacimsel kullanılma oranları seçilerek optimum değerlere karar vermek literatürdeki bu eksiği giderebilmek adına çalışmanın temel amacıdır. Çalışmamızda üç farklı boy (3mm, 12 mm ve 24 mm) dolayısıyla l/d oranı (160, 630 ve 1263) ve beş farklı hacimsel oran (%0.025, 0.05, 0.10,

0.15, 0.20) seçilerek mekanik deneyler yapılmış, bazalt lif etkisi incelenmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Bazalt lif

Bu çalışmada kullanılan bazalt lifler; Şekil 1'de gösterilen 13-25 µm çapında 3 mm, 12 mm ve 24 mm boyunda olan monofilament liflerdir. Kullanılan lif miktarı betonun hacmi oranında eklenmiştir.

Çimento

Yapılan deneylerde bağlayıcı olarak TS EN 197-1'e uygun Portland Çimentosu (CEM II A-M (P-LL) 42,5 R) kullanılmış, kullanılan çimentonun kimyasal fiziksel ve mekanik özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Bazalt lif

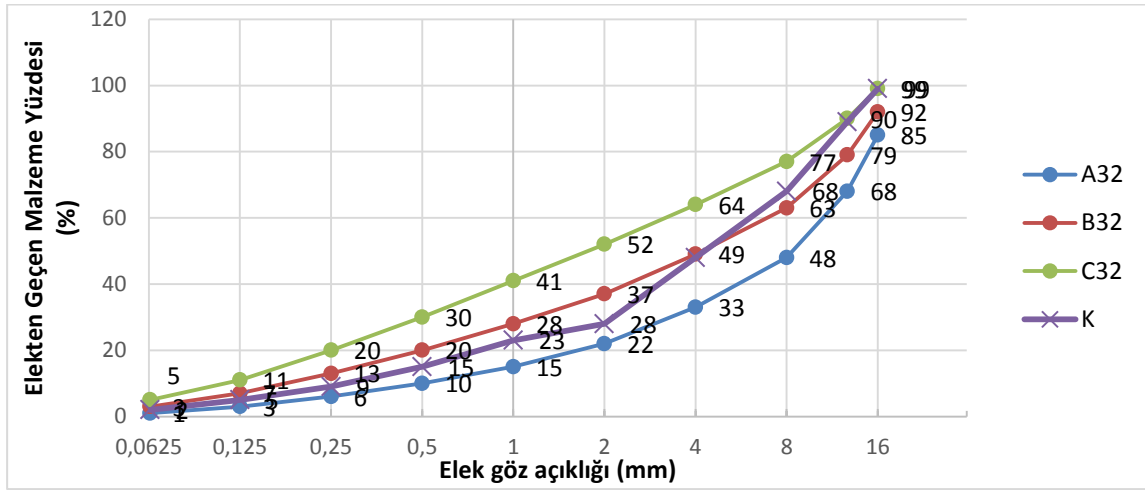
Çizelge 1. Çimentonun fiziksel ve mekanik özellikleri

Kimyasal Bileşen	Oran (%)	Fiziksel, mekanik özellikler	
SiO ₂	17.60	İncelik(45µm elek üstü %)	6.01
Al ₂ O ₃	4.45	Özgül Ağırlık (g cm ⁻³)	3.01
Fe ₂ O ₃	3.08	Özgül Yüzey (cm ² gr ⁻¹)	4403
CaO	60.02	Priz Başı (saat-dk)	2 sa – 36 dk
MgO	2.29	Priz Sonu (saat-dk)	3 sa – 24 dk
SO ₃	2.67	Hacim Genişlemesi (mm)	0.50
Kızdırma Kaybı	0.49	Su İhtiyacı (%)	29.80
Na ₂ O	0.22	Basınç Dayanımı (MPa) 2.gün	27.46
K ₂ O	0.63	Basınç Dayanımı (MPa) 28.gün	51.03
Cl	0.0144		
Ölçülemeyen	0.54		
Toplam	100		
Serbest CaO	0.69		

Agrega

Üretilen betonlarda kullanılan agregalar maksimum tane boyutu 16 mm olan kırma taş agregalar olup elek analizi sonucunda beton numuneleri için TS EN 933-1:2012(EN)'e uygun standart eğriler (Şekil 2) kullanılarak beton

karışım hesabı yapılmıştır. Ön çalışmalardan hareketle çalışmamızda yeterli işlenebilirlik ve kohezyon sağlanması (Aruntaş ve ark. 2007), liflerin daha homojen dağılması, segregasyon olmaması amacı ile atık mermer tozu karışıma iri agrega hacminin %5'i kadar ilave edilmiştir.



Şekil 2. Karışım hesabında kullanılan agrega granülometrisi

Süper akışkanlaştırıcı

Süper akışkanlaştırıcı olarak polikarboksilat bazlı bir süper akışkanlaştırıcı katkı kullanılmıştır. Ön denemeler yapılarak süper akışkanlaştırıcı tipine ve karışımdaki oranına karar verilmiş ve süper akışkanlaştırıcı çimento ağırlığının %1.2'si oranında ilave edilmiştir. Süper akışkanlaştırıcının rengi yeşil yoğunluğu ise; $1.045 \pm 0.02 \text{ gr cm}^{-3}$ dir.

Beton karışım hesabı

Özellikleri belirlenmek istenen numune grupları ve 1m^3 betondaki kullanılan malzemeler

Çizelge 2'de verilmiştir. Her bir grubun deney sonuçları 3 numunenin ortalamaları alınarak hesaplanmıştır. Numuneler isimlendirilirken kolaylık olması için kodlama yapılmıştır. Burada kodlardaki ilk harf kullanılan lif türünün baş harfini (Bazalt), sayısal değerlerden birincisi lif boyunu ikincisi ise hacimce kullanılma oranını göstermektedir. Beton numunelerinin karışım aşamaları Şekil 3'de verilmiştir. TS EN-206-1 standardına göre beton numunelerinin slump sınıfı S2 (50-90 mm çökme değeri) olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3. Beton karışımı hazırlama prosedürü

Çizelge 2. 1000 dm³ beton karışımında kullanılan malzeme miktarı

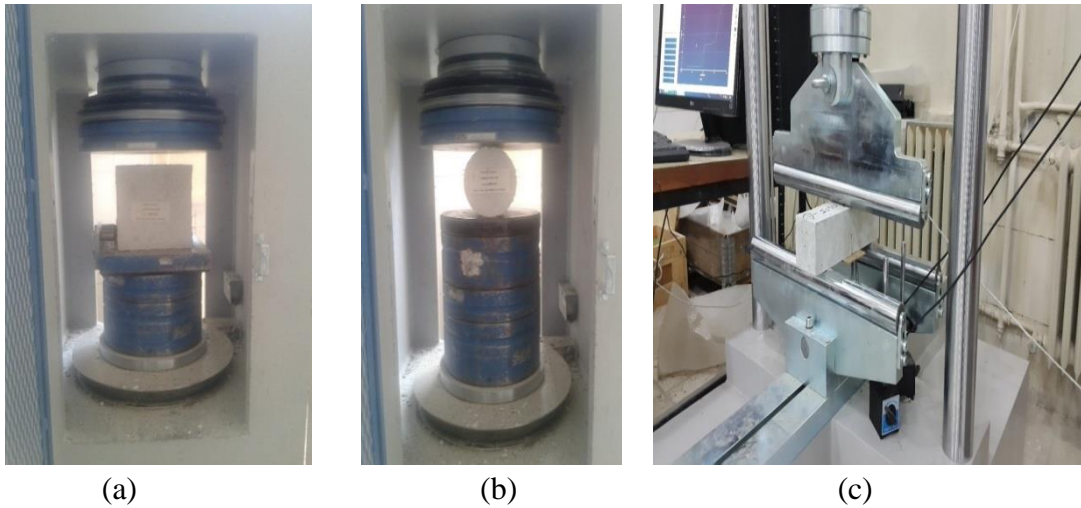
Malzeme	Numune Grupları					
	Referans	%0.025	%0.05	%0.10	%0.15	%0.20
Agrega	0-2 (kg)	510.3	510.3	510.3	510.3	510.3
	2-4 (kg)	264.6	264.6	264.6	264.6	264.6
	4-8 (kg)	331.1	331.1	331.1	331.1	331.1
	8-16 (kg)	381.7	381.7	381.7	381.7	381.7
	16-25(kg)	165.9	165.9	165.9	165.9	165.9
Çimento (kg)	400	400	400	400	400	400
Su (kg)	181.4	181.4	181.4	181.4	181.4	181.4
Akışkanlaştırıcı (kg)	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8	4.8
Filler (kg)	90.5	90.5	90.5	90.5	90.5	90.5
Bazalt lif 3 mm (kg)	0	0.59	1.17	2.35	3.52	4.69
Bazalt lif 12 mm (kg)	0	0.59	1.17	2.35	3.52	4.69
Bazalt lif 24 mm (kg)	0	0.59	1.17	2.35	3.52	4.69

Yöntem

Basınç dayanımı tayini

Basınç deneyleri, 150x150x150 mm'lik küp numuneler üzerinde 28. günde Şekil 4.a' da gösterilen düzenele yapılmıştır. Yapılan bütün

basınç deneyleri, sabit yükleme hızı altında gerçekleştirilmiş ve yükleme hızı TS EN 12390-3/AC (Anonim 2012)'ye göre 0.4 MPa s⁻¹ olarak alınmıştır. Basınç dayanımı deneylerinde elde edilen sonuçlar Bulgular kısmında verilmiştir.



Şekil 4. (a) Basınç dayanımı deney düzeneği, (b) Yarmada çekme dayanımı deney düzeneği (c) 3 nokta eğilme dayanımı deney düzeneği

Yarmada çekme dayanımı tayini

Yarmada çekme deneyleri, Ø100/200 mm'lik silindir numuneler üzerinde 28. günde Şekil 4.b'de gösterilen düzenele yapılmıştır. Betonların yarmada çekme dayanımları aşağıda verilen Eşitlik 1 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Çekme dayanımı} = \frac{2P}{\pi LD} \quad (1)$$

P: Yük (N), **L:** Silindirin yüksekliği (mm), **D:** Silindirin çapı (mm)

Eğilme dayanımı tayini

Eğilme deneyleri 70x70x280 mm'lik kiriş numuneler üzerinde 28. günde Şekil 4.c'de gösterilen düzenele 3 noktalı eğilme deneyi yapılmıştır. Betonların eğilme dayanımları aşağıda verilen Eşitlik 2 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$F = \frac{3PL}{2bd^2} \quad (2)$$

F: Eğilme dayanımı (MPa), **P:** Yük, (N), **L:** Mesnetler arası açıklık, **b,d:** numunenin enkesit uzunlukları, (mm)

BULGULAR ve TARTIŞMA

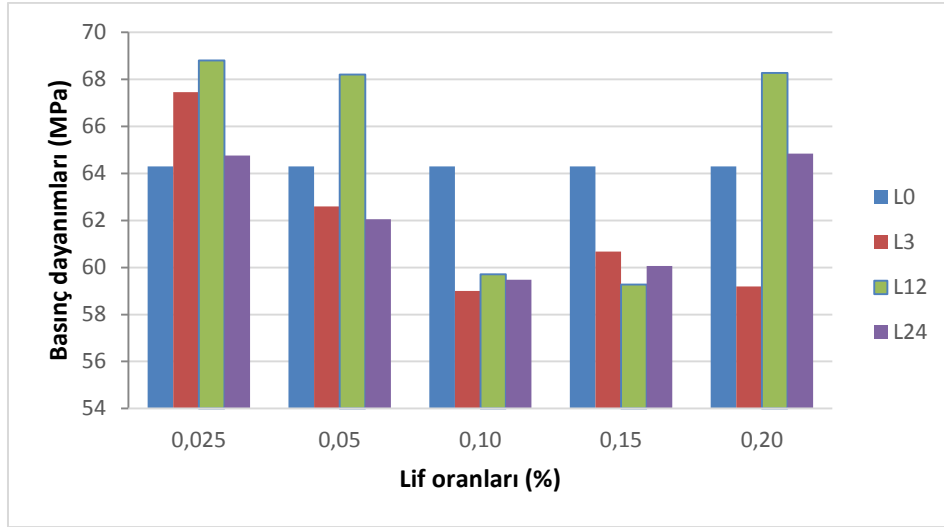
Yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar Çizelge 3’de verilmiştir. Bu çizelgede numune gruplarının tüm mekanik deneylerden elde edilen sonuçları ve kontrol grubuna göre değişim değerleri verilmiştir. Değerlerin grafiksel olarak gösterimi ise Şekil 5,6 ve 7’de gösterilmiştir.

Yüksek dayanımlı betonlarda basınç dayanımı açısından genelde bazalt lifli beton sonuçları çok iyi çıkmamakla birlikte kontrol grubuna göre %0.025 oranında lif içeren farklı boydaki bazalt lifli gruplardan en iyi sonucu %7 artış oranı ile 12 mm’lik lifler vermiştir. % 0.05 oranında lif içeren bazalt lifli gruplardan 12 mm lik boyuttaki liflerde ikinci sırada iyi sonuç vermiştir. Seçilen boy parametrelerinde daha yüksek oranlarda dayanım değerleri düşmüştür.

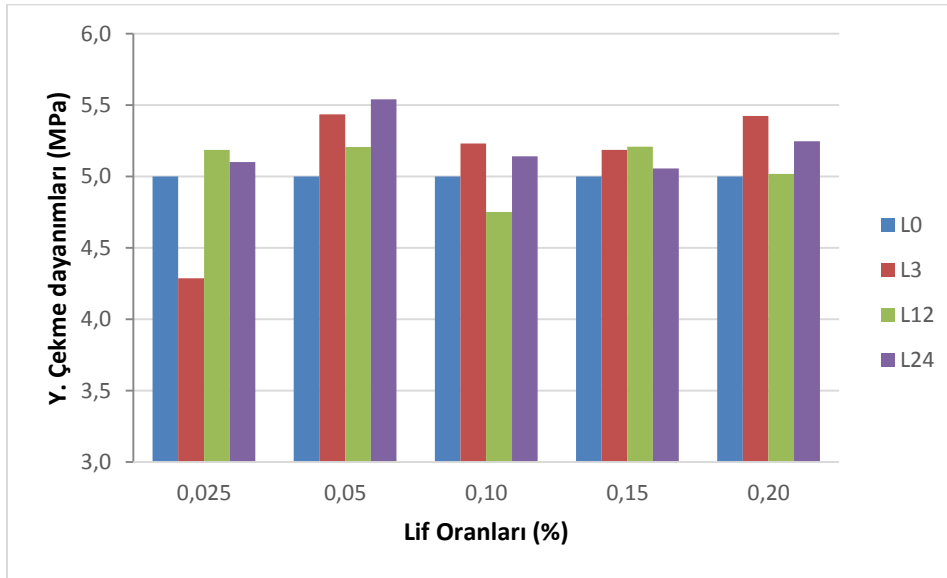
Artan lif oranı ile basınç dayanımında düşüş görülmesi literatürle uyumlu olmakla birlikte (Kabay, 2014) bu sonuç seçilen parametreler göz önünde tutularak basınç dayanımı için aslında boydan bağımsız olmak üzere genelde %0.05 oranının üstünün kullanılmaması gerektiğini göstermektedir. Literatürde 12 ve 22 mm lik bazalt lifler için 28. günde optimum oran %0.3 (Jiang ve ark., 2014) olmasına rağmen aynı çalışmada 90 günlük dayanımlarda da en iyi sonucu %0.05 oranı vermiştir. Sonuçlar yüksek oranda kullanılan bazalt liflerin yeterince homojen karışmaması ve topaklaşması nedeniyle basınç dayanımını düşürdüğünü gösterirken artan narinlik oranı ile basınç dayanımı değişiminin net bir ilişkisi olmadığı görülmüştür.

Çizelge 3. Beton gruplarının dayanım değerleri

Numune Grupları	Basınç dayanımı (MPa)	Kontrole göre değişim oranı (%)	Yarmada çekme dayanımı (MPa)	Kontrole göre değişim oranı (%)	Eğilmede çekme dayanımı (MPa)	Kontrole göre değişim oranı (%)
Referans	64.0	-	5.0	-	7.19	-
3B0.025	67.0	4.9	4.3	14.3	7.74	7.6
3B0.05	63.0	-2.7	5.4	8.7	7.46	3.6
3B0.1	59.0	-8.2	5.2	4.6	8.34	15.9
3B0.15	61.0	-5.6	5.2	3.7	8.46	17.5
3B0.20	59.0	-7.9	5.4	8.5	7.52	4.5
12B0.025	69.0	7.0	5.2	3.7	7.71	7.1
12B0.05	68.0	6.1	5.2	4.2	7.32	1.8
12B0.1	60.0	-7.2	4.7	-5.0	7.29	1.3
12B0.15	59.0	-7.8	5.2	4.2	7.70	7.0
12B0.20	68.0	6.2	5.0	0.4	8.03	11.6
24B0.025	65.0	0.7	5.1	2.0	7.58	5.4
24B0.05	62.0	-3.5	5.5	10.8	8.99	24.9
24B0.1	59.0	-7.5	5.1	2.8	7.03	-2.3
24B0.15	60.0	-6.6	5.1	1.1	7.70	7.1
24B0.20	65.0	0.8	5.2	4.9	7.86	9.2



Şekil 5. Basınç dayanımı deney grafiği



Şekil 6. Yarmada çekme dayanımı deney grafiği

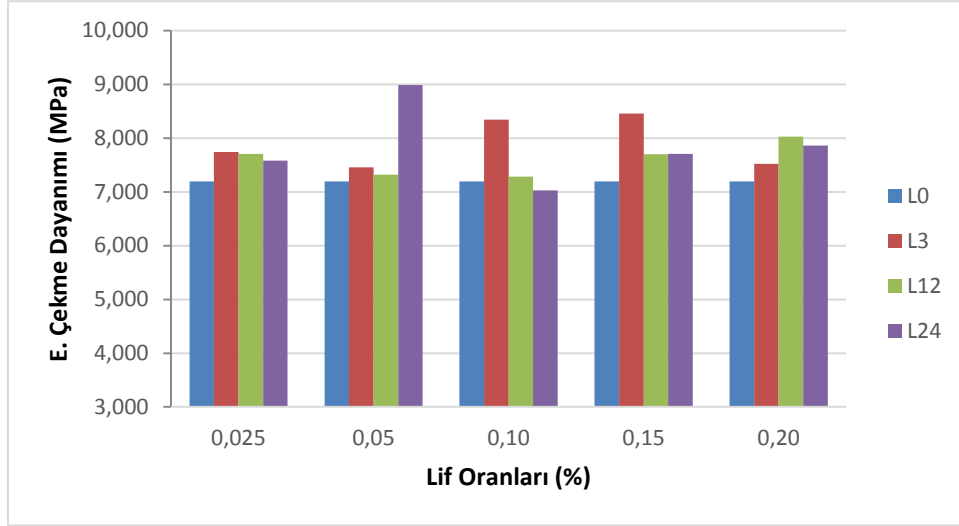
Yarmada çekme dayanımına göre tüm gruplar içinde en yüksek dayanımları %0.05 oranındaki lifler vermekte ve %0.05 oranındaki 24 mm liflerden en iyi sonuç elde edilmiştir. Bu oranın üzerinde dayanım değerleri düşmektedir. %0.10 oranında eklenen 12 mm'lik lifler dışında genelde tüm gruplar dayanımı artırmıştır. Artırma oranları %1-11 arasında değişmektedir. Literatürde de bazalt liflerin yarmada çekme dayanımını artırdığı bilinmekle beraber (Jiang ve ark., 2014; Dong ve ark., 2017) 3 mm boydaki liflerin %0.05 ve üstündeki oranlarda da dayanım artış görülmekte ve genelde lifler

çekme dayanımını artırmakta büyük rol üstlenmektedirler. Bunu da sonuçlardan çıkarabilmek mümkündür. Bu sonuç liflerin çatlakların gelişimini azaltması ve gelen gerilmeleri üzerine alabilmesi sonucu oluşmaktadır.

Eğilmede çekme dayanımına göre tüm gruplar oransal açıdan kendi içlerinde farklı sonuçlar göstermişlerdir. 3 mm boyundaki lifler için %0.15 oranı en iyi sonucu verirken ve bundan daha yüksek sonuçlarda eğilme dayanımı düşmektedir. 12 mm'lik lif oranlarının artışı ile ilginç bir artış gözlemlenmiş, %0.05 ve %0.10

oranlarında kontrole göre belirgin bir artış olmamış ama daha yüksek oranlar için (%0.15 ve %0.20) artış görülmüştür. 24 mm'lik lifler için %0.1 oranı haricindeki diğer gruplar

dayanımı artırmış en yüksek değer %0.05 oranlı gruplarda görülmüştür. Hatta bu oran tüm gruplardan daha yüksek sonuç vermiştir.



Şekil 7. Eğilmede çekme dayanımı deney grafiği

Genel itibari ile dayanımdaki değişimlerin boydan bağımsız olduğunu söylemek mümkünken yapılacak sonraki çalışmalarda farklı boydaki liflerle karma olarak üretilen beton numunelerindeki birleşik etkiye bakılması önerilmektedir. Literatürde bazalt lifle ilgili olarak çalışmalarda pek fazla göz önüne alınmamış olan 3 mm boyundaki liflerin eğilme dayanımını artırdığı ve yapılacak diğer çalışmalarda kullanılması ve değerlendirilmesi gerektiği görülmüştür.

Lifli betonlar değerlendirilirken lif tipi ve oranının yanı sıra l/d görünüm oranının da önemli bir rolü bulunmakta ve bu değerler açısından incelenmelidir.

SONUÇ

Çalışmadan çıkan sonuçlar ve sonraki çalışmalarda değerlendirilmek üzere tavsiyeler aşağıda sıralanmıştır:

1- Bazalt lifli betonların basınç dayanımı için l/d oranından bağımsız olmak üzere genelde %0.05 oranının üstü kullanılması olumsuz sonuçlar vermiş, bu oran üstünün topaklaşma ve aderans açısından liflerin sıkıntı oluşturmasından kaynaklanması ile ortaya

çıkmıştır. Daha yüksek oranlarda topaklaşma açısından tedbirler alınarak bazalt lifin kullanılması tavsiye edilmektedir.

- 2- Yarmada çekme dayanımı için yine aynı oranın iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Bu oranın üzerinde düşüşler görülmüştür. Dayanım artışları liflerin üzerine gelen kuvveti alıp köprü görevi görerek iletmesi nedeniyle gerçekleşmiştir.
- 3- Eğilmede çekme dayanımında 3 mm'lik lifler için %0.15 oranı en iyi sonucu vermiş, literatürde bazalt lifler için pek çalışılmamış olan bu boy parametresinin özellikle eğilmede çekme dayanımı için iyi olduğu görülmüştür.
- 4- Sonra yapılacak çalışmalar için; farklı boydaki bazalt liflerin karma olarak kullanıldığı ileri yaşlardaki mekanik özelliklerine bakıldığı çalışmalar yapılmalıdır.
- 5- Farklı boy/çap oranlı liflerle üretilen betonlarda özellikle lif matris arayüzeyinin gelişiminin ve boşluk yapısının değerlendirilmesi enstrümental analiz yöntemleri (XRD, SEM, MIP, BET,...vb.) ile desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

- Afroz M, Patnaikuni I, Venkatesan S, 2017, Chemical durability and performance of modified basalt fiber in concrete medium, *Construction and Building Materials* 154, 191–203
- Arslan ME, 2017, Bazalt liflerin geleneksel betonların mekanik özellikleri ve kırılma enerjilerine etkilerinin incelenmesi, *Pamukkale Univ Muh Bilim Derg.* 23(3)
- Aruntaş HY, Dayı M, Tekin İ, Birgül R, Şimşek O, 2007, Kendiliğinden Yerleşen Beton Özelliklerine Atık Mermer Tozunun Etkisi, Kimyasal katkı maddeleri, 2. yapı kimyasalları sempozyum ve sergisi, 12-13 Nisan 2007, Ankara, 174-180
- Baradan ve ark., 2012, Beton. D.E.Ü. Müh. Fak. Yayınları.
- Borhan MT, 2012, Properties of glass concrete reinforced with short basalt fibre. *Materials and Design*, 42:265-271,.
- Branston J, Das S, Sara YK, Taylor C, 2016, Mechanical behaviour of basalt fibre reinforced concrete, *Construction and Building Materials*, Volume 124, 15 October 2016, Pages 878-886
- Chaohua J, Ke F, Fei W, Da C, 2014, Experimental study on the mechanical properties and microstructure of chopped basalt fibre reinforced concrete, *Materials and Design* 58, 187–193
- Çevik N, 2014, Bazalt Elyafının Beton Yollarda Kullanılabilirliği, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dong JF, Wang QY, Guan ZW, 2017, Material properties of basalt fibre reinforced concrete made with recycled earthquake waste, *Construction and Building Materials* 130, 241–251.
- Erdoğan G, 2014, Bazalt Lif Katkılı betonların mekanik ve geçirimsizlik özelliklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Fiore V, Scalici T, Di Bella G, Valenza A, 2015, A review on basalt fibre and its composites, *Composites Part B* 74.
- Girgin ZC, Yıldırım MT, 2016, Usability of basalt fibres in fibre reinforced cement composite, *Materials and Structures*, 2016, 49:3309–3319.
- High C, Seliem HM, El-Safty A, Rizkalla SH, 2015, Use of basalt fibers for concrete structures, *Construction and Building Materials* 96, 37–46.
- Jiang C, Fan K, Wu F, Da C, 2014, Experimental study on the mechanical properties and microstructure of chopped basalt fibre reinforced concrete, *Materials & Design*, Volume 58, June 2014, Pages 187-193.
- Kabay N, 2014, Abrasion resistance and fracture energy of concretes with basalt fiber, *Construction and Building Materials*, Volume 50, Pages 95-101.
- Kızıllkanat AB, Kabay N, Akyüncü V, Erdoğan G, 2014, Basalt Fibers and Mechanical Properties of Basalt Fiber Reinforced concrete, *Journal of Engineering and Natural Sciences Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 32, 444-452.
- Mindess S, Young JF, Darwin D, 2003, *Concrete*, Prentice Hill, New Jersey.
- Nili, M, Afroughsabet, V, 2010, The effects of silica fume and polypropylene fibers on the impact resistance and mechanical properties of concrete, *Construction and Building Materials*, Vol.24, No.6, pp. 927-933.

- Oltulu M, Şahin R, Amil PA, 2007, Effect of polypropylene fibers on shrinkage and fire resistance of high strength concrete at later age, TÇMB 3rd International Symposium, Sustainability in Cement and Concrete, 21-23 May 2007, İstanbul.
- Osman Ü, Uygunoğlu T, ve Gençel O, 2007, Çelik Liflerin Beton Basınç Ve Eğilme Özelliklerine Etkisi, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, Vol.13, No.1, pp. 23-30.
- Qin X, Shen A, Guo Y, Li Z, Lv Z, 2011, Characterization of asphalt mastics reinforced with basalt fibers, Construction and Building Materials 159, 508–516.
- Ralegaonkar R, Gavali H, Aswath P, 2018, Abolmaali S., Application of chopped basalt fibers in reinforced mortar: A review, Construction and Building Materials 164, 589–602
- Song PS, Hwang S, ve Sheu BC, 2005, Strength properties of nylon- and polypropylene-fiber-reinforced concretes, Cement and Concrete Research, Vol.35, No.8, pp. 1546-1550.
- TS EN 933-1:2012(EN), Agregaların geometrik özellikleri için deneyler Bölüm 1: Tane büyüklüğü dağılımı tayini- Eleme metodu, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- TS EN-206, 2014, Beton- Bölüm 1: Özellik, performans, imalat ve uygunluk, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- TS EN 197-1, 2012, Çimento - Bölüm 1: Genel çimentolar - Bileşim, özellikler ve uygunluk kriterleri, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- TS EN 12390-3/AC, Beton - Sertleşmiş beton deneyleri - Bölüm 3: Deney numunelerinin basınç dayanımının tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Refrakter Yalıtım Malzemesi Üretimine Deneysel Olarak Araştırılması

Bekir GÜNEY^{1*}

ÖZET: Silis dumanı yüksek sıcaklık ürünü seramik bir malzemedir. Endüstriyel bir atık olan silis dumanına bu özelliği refrakter yapısı kazandırmaktadır. Endüstriyel atıklar tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de küçümsenmeyecek miktarlarda çevresel problemlere sebep olmaktadır. Bu atıkların değerlendirilmesi çevre problemlerinin çözümüne ve ekonomik girdilere katkı sağlamaktadır. Bu çalışmada, endüstriyel refrakter atık bir malzeme olan silis dumanı termal yalıtım malzemesi üretiminde kullanılmıştır. Üretilen yalıtım tuğlasında, silis dumanı, sönmüş kireç ve su kullanılmıştır. Tuğla macunu, silis dumanı atıkları, su ve kireç farklı ağırlık oranlarında karıştırılmak suretiyle kullanılmıştır. Üretilen ısı yalıtım malzemesinin özelliklerini değerlendirmek için, elde edilen tuğlanın fiziksel, mekanik ve mikro yapı özellikleri test edilmiştir. Bağlayıcılık oranına göre 1.2 oranında silis dumanı katılan tuğla düşük yoğunluk ve yüksek mekanik mukavemet bakımından iyi özellikler göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Endüstriyel atık, puzolan, silis dumanı, yalıtım tuğlası

Experimental Investigation of Refractory Insulation Material Production

ABSTRACT: The silica fume which is the high temperature product is a ceramic material. A refractory structure gives that feature to the silica fume which is an industrial waste. Industrial wastes cause environmental problems in quantities that cannot be underestimated in our country as it is in the whole world. The utilization of these wastes contributes to the solution of environmental problems and to economic inputs. In this study, the silica fume which is an industrial refractory waste was used in thermal insulation material production. Silica fume, slaked lime and water were used in the insulation brick produced. The brick paste was prepared by mixing silica fume wastes, water and lime at different weight ratios. The physical, mechanical and microstructural properties of the produced brick were tested to evaluate the properties of the manufactured insulation material. According to the binder ratio, the brick which silica fume added in 1.2 ratio showed good properties in terms of low density and high mechanical strength.

Keywords: Industrial waste, pozzolan, silica fume, insulation brick.

¹Bekir GÜNEY (Orcid ID: 0000-0001-9764-9313), Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Karaman, Türkiye

*Sorumlu yazar/Corresponding Author: Bekir GÜNEY, e-mail: guneyb03@hotmail.com

GİRİŞ

Günümüzde binalar büyük enerji tüketen yapılardır. Farklı iklim şartlarında binaların ısıtılması ya da soğutulmasında büyük enerji sarf edilir. Binalarda sonradan iklimlendirme yapılarak istenilen konforun sağlanması yüksek maliyetler içermektedir. Bu maliyetlerin azaltılması binaların yapım aşamasında uygun şekilde tasarlanarak kullanılan malzemelerin yalıtım özelliğinin yüksek olması ile sağlanabilir (Al-Homoud, 2005).

Yalıtım malzemeleri, enerji tasarruflu binaların tasarlanması ve inşasında temel elemanlardır. Bu malzemelerin ısı ve ses yalıtım özelliği çevre ve kamu sağlığı açısından önemlidir. Son yıllarda yalıtım malzemelerinin özellikleri iyileştirilmiş olmasına rağmen nem ve yangın tehlikesi gibi problemlere çözüm aranmaktadır. Perlit, cam, pamuk, taş yünü, koyun yünü, mineral yün, selüloz, poliüretan, polistiren köpük ve ahşap gibi malzemeler bu arayışların sonucu olarak ısı, ses ve nem yalıtım malzemesi olarak kullanılmaktadır (Papadopoulos, 2005; Júlio ve ark., 2016; Al Zaidi ve ark., 2019). Çoğu Avrupa ülkesinde binalarda ısı yalıtımı zorunludur. Bu yalıtım sadece termal özellikler açısından değil aynı zamanda binanın iç konforu ve çevresel etki açısından da ele alınmaktadır (Anonymous, 2003).

Avrupa standartlarına (Anonymous, 1986; 2000a, 2000b; 2001a; 2001b; 2003) göre ısı yalıtım malzemelerinin özellikleri; malzemenin yoğunluğu, mekanik mukavemeti, ısı yalıtım yeteneği, ses emilimi, neme ve yangına karşı direnci, binada kullanılabilirliği vb. gibi fiziksel özelliklerine göre değerlendirilir.

Yalıtım malzemesinin kullanım için yeniden geri dönüştürülmesi sırasında ekonomik, çevresel ve biyolojik etkileri uluslararası kabul edilebilir standart şartlarını taşıması gerekmektedir (Anonymous, 2006). Ayrıca halk sağlığı açısından gaz emisyonu, yangın emniyeti ve toksisite konsantrasyon değerleri kabul edilen

sınırlar içerisinde olmalıdır (Sedlbauer ve Koenig Sind, 1998).

Bu özellikleri en iyi refrakter malzemeler sağlayabilir. Yüksek sıcaklıkta fiziksel ve kimyasal etkiler altında ergimeden özelliklerini koruyarak dayanabilen malzemeler refrakter malzeme olarak tanımlanmaktadır. Refrakterler 2500 °C ve daha yüksek sıcaklıklara dayanabilen seramik malzemelerdir (Mukhopadhyay, 2000).

Refrakter malzemeler sınıfından olan silis dumanı (silika füme), silisyum veya demir silisyum alaşımlarının üretimi esnasında, ana bileşeni bir mikrometreden küçük, küresel, amorf, camsı silis (SiO₂) partiküllerinden oluşan, yüksek düzeyde puzolanik özelliğe sahip bir yan üründür (Koca, 1996; Liu ve ark., 2009). Elektrik ark fırınlarında yaklaşık 2000 °C sıcaklıkta, silisyum ve ferrosilisyum üretimi sırasında, yüksek saflıktaki kuvarsitin kömür ile indirgenmesiyle elde edilir (Anonymous, 1987). Çevre koruması amacı ile 1950'li yıllarda silis dumanının değerlendirilmesi konusundaki ilk çalışma Norveç'te yapılmıştır. Çok ince taneli ve puzolanik özelliğinin yüksek olmasından dolayı 1969 yılında beton endüstrisinde kullanılmaya başlanmıştır (Holland, 2005).

Beton bileşenlerinde aranan en önemli özellik yüksek bağlanma mukavemetini sağlamaktır. Günümüzde, nano yapılı malzeme teknolojisi şaşırtıcı bir hızda gelişmektedir. Araştırmacılar pek çok malzeme çeşidi ile yoğun olarak çalışmalar yapmaktadır.

Silis dumanı, kireç ve su belirli oranlarda karıştırıldığında hidrasyon reaksiyonu meydana gelir. Silika dumanı çok geniş yüzey alanı ve amorf karakteri sebebiyle yüksek puzolanik aktivite gösterir (Abo-El-Enein ve ark., 1996). Silis dumanı ve suyun, CaO/SiO₂ oranına bağlı olarak meydana getirdiği moleküler C-S-H reaksiyonu farklılık gösterebilir (Cohen ve Bentur, 1988).

Temel çimento hidrasyonu, alit (C₃S) ve belitin (C₂S) çözünmesi ile formasyonunu, çökeltme, kalsiyum silikat hidratları (C-S-H) ve

kalsiyum hidroksit (CH) çökeltme formasyonundan oluşur. Kalsiyum hidroksit bilinen bir kristalin fazı iken (Petch, 1961), C-S-H jeli doğal nano yapıya sahiptir (Jennings, 2008). C-S-H çökeltmesiyle dolgu malzemesi olarak puzolanik etki göstermektedir (Muller ve ark., 2015). Silis dumanı nano tane yapısında kullanımıyla beton içerisindeki boşluklar azaltılmakta ve betonun stabilitesi gelişmektedir. Silis dumanı ile CH reaksiyonu sonucu betonun dayanımını ve durabilitesini artırmaktadır (Hijorth, 1983).

Silika, bol miktarda puzolanik doğaya sahiptir. Hidrasyon süresince serbest kireçle reaksiyona girme kapasitesi yüksektir. Betona dayanıklılık, sızdırmazlık ve sağlamlık sağlayan C-S-H jelleri oluşturur (Rodrigues., 2016; Arun, 2016). Silis dumanı, serbest kireç ve su oranları en rantabl seçilerek termal ve mekanik özellikler daha da iyileştirilebilir (Aka ve ark., 2019).

Termal yalıtım malzemelerinin farklı avantajları mevcuttur. Bunlar arasında ısı iletkenliği, perforasyon açığı, şantiye adaptasyonu, işlenebilirlik, mekanik dayanım, yangından korunma, yangın sırasındaki duman emisyonu, sağlamlık, iklim farklılıklarına dayanıklılığı, donma/çözülme döngülerine karşı direnç, su direnci, maliyetler, biyo-uyumluluk, toksisite ve çevresel etkiler sayılabilir.

Son zamanlarda dünya çapındaki araştırmacılar endüstriyel atıkların yalıtım malzemelerindeki kullanılabilirliğini araştırmaktadır. Farklı kombinasyon ve miktardaki malzemelerin en iyi performanslarının belirlenmesi gerekmektedir

(Samiha ve ark., 2019). Dünyada ekonomik kayıpların büyük bir kısmı gereksiz enerji sarfiyatından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle enerji kayıplarını düşürerek çevreye ve insan sağlığına duyarlı malzemeler üretmek zorunludur. Malzemelerden yüksek termal koruma, konforlu yalıtım ve düşük işletme maliyeti beklenmektedir. Bildiğimiz kadarıyla önceki çalışmalar beton ve özelliklerini geliştirme üzerine olmuştur. Bununla birlikte, silis dumanı, serbest kireç ve suyun birlikte kullanımı ile ilgili sınırlı bilgi bulunmaktadır. Çalışmada, bu gereksinimleri karşılayabilecek farklı miktarlardaki yüksek sıcaklığa dayanabilen silis dumanı, su ve serbest kireç karışımından üretilen numunelerin performanslarının tayinine çalışılmıştır. Üretilen bu tuğlanın mekanik, fiziksel ve mikro yapı özellikleri araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Numunelerin Hazırlanması ve Deneylelerin Yapılışı

Bu çalışmada, Antalya Etibank Elektrometalürji İşletmesinden temin edilen silis dumanı ve piyasadan temin edilen %100 saf sönmüş toz kireç $\text{Ca}(\text{OH})_2$ karışımından yalıtım malzemesinin üretilmesi amaçlanmıştır. Üretim için gerekli olan malzeme karışım oranları, üretim basamakları ve yapılacak testler aşağıda açıklanmıştır. Bağlayıcı matrisi oluşturacak malzemelerin karışım oranları aşağıda verilen formüllere göre belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan silis dumanının kimyasal analizi aşağıda verilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Silis Dumanının Kimyasal Analizi

SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	S+A+F	CaO	MgO	Kızdırma Kaybı
81.4	0.92	0.32	82.64	2.86	8.05	3.01

Kimyasal analiz sonuçlarına dayanılarak $\text{Ca}(\text{OH})_2/\text{SiO}_2 = 1.2, 1.5$ ve 1.9 bağlayıcılık oranları için TSE EN 1097-6'ya göre numunenin

üretiminde kullanılacak malzeme miktarları hesaplanmıştır (Şimşek, 2007).

Çizelge 1'deki verilere göre silis dumanı içerisinde %81,4 SiO₂ ve %2,86 CaO

bulunmaktadır. Numune üretiminde kullanılacak malzeme miktarlarının hesaplanması şu metotla yapılmıştır; Örneğin; 1.5 bağlayıcılık oranına göre hesaplandığında,

Kireç \rightarrow % 100 $\text{Ca(OH)}_2 = X$,

Silis Dumanı = Y olsun. Kullanılan malzemelerin yüzde miktarlarını 1 no'lu formül yardımıyla hesaplayabiliriz.

$X+Y = 1 \Leftrightarrow X = 1 - Y$ olur. Yüzde olarak hesaplanırsa, $X = 100 - Y$ (1)

Kireç ve silis dumanı miktarlarını 2 no'lu formül yardımıyla hesaplayabiliriz.

$$\text{Ca(OH)}_2: \text{SiO}_2 = \frac{\Sigma \text{CaO}}{\Sigma \text{SiO}_2} = 1.5 \quad (2)$$

Bağlayıcılık oranına göre yüzde olarak kireç ve silis dumanı miktarlarını 3, 4, 5 ve 6 no'lu formüller yardımıyla aşağıdaki şekilde hesaplayabiliriz.

$$\text{Ca(OH)}_2 \rightarrow 1.X + 0.0286Y \quad (3)$$

$$\text{SiO}_2 \rightarrow 0.814Y \quad (4)$$

$$\frac{\text{Ca(OH)}_2}{\text{SiO}_2} = \frac{[(1X)+(0.286Y)]}{0.814Y} = 1.5 \quad (5)$$

$$X + 0.286Y = 1.221Y \Leftrightarrow X = 1.221Y - 0.286Y \Leftrightarrow X = 0.995Y \quad (6)$$

Elde edilen bu değerleri 1 no'lu formülde yerine koyarsak silis dumanı miktarını elde ederiz. Yani $X+Y = 100$ denkleminde 6 no'lu denklem ile elde edilen kireç miktarını yerine koyarsak $100 - Y = 0.995Y \Leftrightarrow 100 = 1.995Y$ bulunur.

Buradan yüzde olarak;

Y'nin değeri %51,68 \Leftrightarrow X'in değeri %48,32 bulunur. Numuneler için 1250 g malzeme hazırlanmıştır. Bu hesaplamalara göre; 645.99 g silis dumanı ve 604.01 g kireç kullanılmıştır. Numuneler 0.01 g hassasiyetli elektronik terazide tartılarak karıştırıldı. Numune hammaddesi tam homojen oluncaya kadar mikserde karıştırıldı. Daha sonra yaklaşık malzeme miktarının %90'ına karşılık gelen 1125 g musluk suyu ile karışım kıvamlı şekilde karıldı. Bağlayıcı oranlarına göre hesaplanan malzeme ve kullanılan su miktarları verilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Numune üretiminde kullanılan malzeme ve su miktarları

Bağlayıcılık Oranı	Silis Dumanı Miktarı (%)	Kireç Miktarı (%)	Silis Dumanı Miktarı (g)	Kireç Miktarı (g)	Kullanılan Su Miktarı (g)
1.2	59.14	40.86	739.30	510.70	1025
1.5	51.68	48.22	645.99	604.01	1125
1.9	44.24	55.76	552.95	697.05	1030

Elde edilen sıvı malzeme, 12 adet 40x40x160 mm ölçülerindeki kalıba, içerisinde boşluk kalmayacak şekilde dökülerek sıkıştırıldı. Malzeme kalıpta normal hava şartlarında 48 saat bekletildi. Silis dumanının çözünme oranını arttırarak, puzolanik reaksiyonları güçlendirmek ve daha fazla C-S-H üretmek amacıyla numuneler otoklav işlemine tabi tutuldu (Zhao ve ark., 2018). Bu işlem otoklavda 1.5 bar (1.52 kgf cm^{-2} veya 0.15 MPa) basınçta 8 saat yoğun buhar ortamında kür edilip devamında 105 °C

sıcaklıkta etüv içerisinde kurutularak yapıldı. Ardından tekrar musluk suyu bulunan havuzda doymun hale gelinceye kadar 48 saat bekletildi.

Numuneler 0.01 g hassasiyetli terazi ile tartılarak ağırlıkları tespit edilmiştir. Numunelerin basınç mukavemeti TSE EN 12390-3'e göre basınç test cihazında (Anonim, 2010a), eğilme mukavemeti TSE EN 12390-5'e göre çekme test cihazında (Anonim, 2010b), ses geçirgenliği TS EN 12504-4'e göre ultrases geçiş test cihazında (Anonim, 2012), Afyon Kocatepe

Üniversitesi Yapı Malzemeleri Laboratuvarında yapılmıştır. Mikro yapı çalışmaları Afyon Kocatepe Üniversitesi SEM Laboratuvarında yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Numunelerin fiziksel özelliklerini incelemek için; etüv kurusu ağırlık, suda asılı ağırlık, doymun ağırlık (sudan çıktıktan sonra

yüzeyleri nemli bezle silindikten sonraki ağırlık) testleri yapılarak elde edilen değerler aşağıda verilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3'te verilen verilere dayanarak aşağıdaki verilen formül 3 yardımı ile su emme, formül 4 yardımı ile porozite, formül 5 yardımı ile bulk yoğunluk, formül 6 yardımı ile görünür yoğunluk miktarları hesaplandı. Hesaplamalarda kullanılan formüller aşağıda verilmiştir;

Çizelge 3. Numunelerin Ağırlıkları

Bağlayıcılık Oranı	Etüv Kurusu Ağırlığı (g)	4 Adet Etüv Kurusu Ağırlığı (g)	Suda Asılı Ağırlığı (g)	4 Adet Suda Asılı Ağırlığı (g)	Doymun Ağırlığı (g)	4 Adet Doymun Ağırlığı (g)
1.2	214.3	848.3	116.7	462.6	371	1468
	211.1		116.0		365	
	213.2		114.4		360	
	209.7		115.5		372	
1.5	216.1	863.3	114.4	460.5	359	1451
	216.0		115.2		362	
	214.1		116.3		367	
	217.1		114.6		363	
1.9	220.0	897.2	121.5	484.4	371	1468
	222.4		123.2		365	
	228.5		118.6		360	
	226.3		123.2		372	

Görünür porozite için;

$$\% P = \frac{(W_2 - W_1)}{(W_3 - W_2)} \times 100 \quad (7)$$

Bulk yoğunluk için;

$$\text{Bulk } Y = \frac{W_1}{(W_3 - W_2)} \quad (8)$$

Görünür yoğunluk için;

$$\text{Görünür } Y = \frac{W_1}{(W_1 - W_2)} \quad (9)$$

Su Emme Miktarı;

$$\% \text{ Su Emme} = \frac{(W_3 - W_1)}{W_1} \times 100 \quad (10)$$

Burada; W_1 : Etüv kurusu ağırlık (g), W_2 : Su içindeki ağırlık (g), W_3 : Doymun ağırlık (sudan çıkan numunenin yüzeyi nemli bezle silinip havada tartılarak, g). Yukarıda verilen

formüller ışığında örnekleme olarak 1.5 bağlayıcılık oranındaki dört numunenin fiziksel özellikleri hesaplanmıştır.

Görünür porozite için değerler 7 no'lu formülde yerine konarak hesaplanmıştır;

$$\% P = \frac{(W_2 - W_1)}{(W_3 - W_2)} \times 100 = \frac{(460.5 - 863.3)}{(1451 - 460.5)} \times 100 = -40.67 \quad (7)$$

Buradan porozite yüzdesi $100 - 40.67 = 59.33$

Bulk yoğunluk için değerler 8 no'lu formülde yerine konarak hesaplanmıştır;

$$\text{Bulk } Y = \frac{W_1}{(W_3 - W_2)} = \frac{863.3}{(1451 - 460.5)} = 0.872 \quad (8)$$

Görünür yoğunluk için değerler 9 no'lu formülde yerine konarak hesaplanmıştır;

$$\text{Görünür } Y = \frac{W_1}{(W_1 - W_2)} = \frac{863.3}{(863.3 - 460.5)} = 2.143 \quad (9)$$

Su emme miktarı için değerler 10 no'lu formülde yerine konarak hesaplanmıştır;

$$\% \text{ Su Emme} = \frac{(W_3 - W_1)}{W_1} \times 100 = \frac{(1451 - 863.3)}{863.3} \times 100 = 68.08 \quad (10)$$

değerleri hesaplanmıştır.

Formüller yardımıyla hesaplanan 1.5 ve diğer 1.2, 1.9 bağlayıcılık oranlarındaki numunelerin fiziksel özellikleri aşağıda verilmiştir (Çizelge 4). Numunelerin ortalama

ses geçirim hızları ultrases cihazı ile test edilerek ölçülen değerler aşağıda verilmiştir (Çizelge 4). Malzemeler tekrar 105 °C sıcaklıkta etüvde kurutulmaya bırakıldı.

Çizelge 4. Numunelerin Fiziksel Özellikleri

Bağlayıcılık Oranı	Su Emme Miktarı (%)	Porozite Miktarı (%)	Bulk Yoğunluk (g cm ⁻³)	Görünür Yoğunluk (g cm ⁻³)	Ses Geçirgenliği (km s ⁻¹)
1.2	73.65	61.04	0.844	2.199	2.1080
1.5	68.08	59.33	0.872	2.143	2.0671
1.9	63.51	57.99	0.913	2.173	2.1768

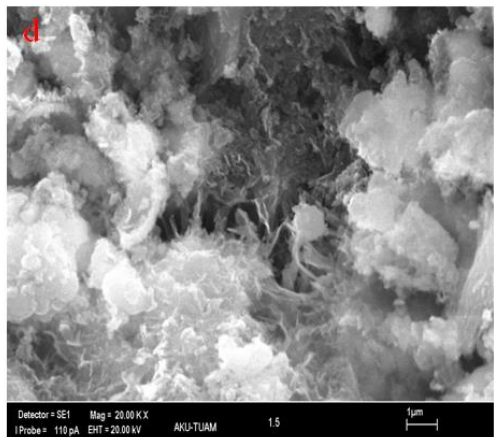
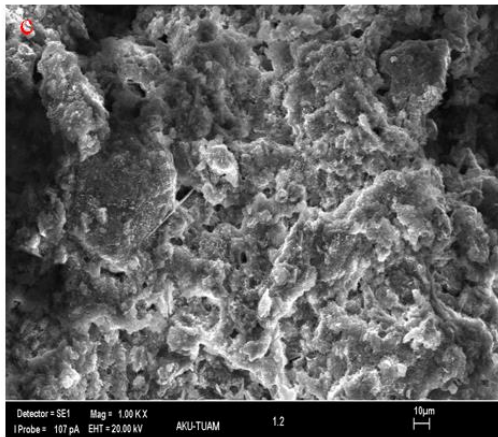
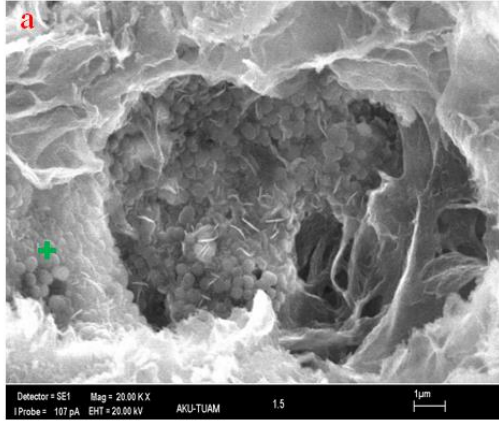
Numunelerin eğilme mukavemeti TSE EN 12390-5'e göre üç noktalı eğilme deneyi, basınç dayanımı ise basınç deneyi ile belirlenmiştir. Ölçülen değerler ve basınç dayanımına bağlı olarak hesaplanan eğilmede çekme dayanımı sonuçları aşağıda verilmiştir (Çizelge 5).

Silis dumanı miktarının artırılması su emme oranı ve poroziteyi artmıştır. Çizelge 3'te 1.5 bağlayıcılık oranına sahip numunelerin suda asılı ağırlıklarının düşük elde edilmesi

numunelerin bünyesinde aktivasyona dahil olamayan materyal ve porozitelerin bulunmuş olabileceği ile ifade edilebilir. Aynı malzemenin basınç mukavemetinin yüksek çıkması bağlanma mukavemetinin yüksek olmasına bağlanabilir (Huang ve ark., 2018). Yalıtım malzemesi için ağırlık, mukavemet ve yalıtım özellikleri birlikte değerlendirilmesi gerekir. Buna göre 1.2 bağlayıcılık oranındaki numunenin daha uygun özellikte olduğu değerlendirilmiştir.

Çizelge 5. Numunelerin Mekanik Özellikleri

Bağlayıcılık Oranı	Eğilme Kuvveti (N)	Ortalama Eğilme Kuvveti (N)	Basınç Dayanımı (MPa)	Ortalama Basınç Dayanımı (MPa)	Eğilmede Çekme Dayanımı (MPa)	Ortalama Eğilmede Çekme Dayanımı (MPa)
1.2	1621.9	1543.9	9.10	9.11	3.80	3.62
	1416.1		8.75		3.32	
	1680.7		9.46		3.94	
	1457.2		9.15		3.42	
1.5	719.3	736.4	10.60	10.12	1.69	1.73
	732.1		11.76		1.72	
	751.6		8.91		1.76	
	742.8		9.21		1.74	
1.9	549.7	554.8	8.72	7.93	1.29	1.30
	517.4		7.64		1.21	
	580.1		7.56		1.36	
	572.3		7.83		1.34	



Şekil 1. Numunelerin mikroyapı görüntüleri (devam)

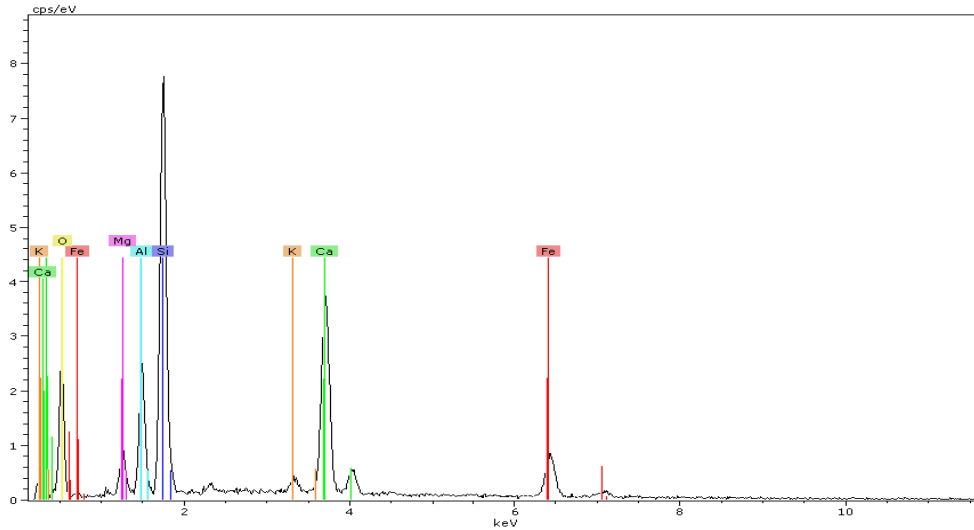
Mikroyapı Çalışması

Çalışmada üretilen numuneler üzerinde elektron mikroskop (SEM) ile elde edilen

mikrograflar Şekil 1(a, b, c, d)'de verilmiştir. Genelde katkı olarak kullanılan silis dumanının SiO_2 içeriği %80'in üzerindedir. Şekil 1(a)'da

işaretili bölgeden elde edilen morfoloji ve mikroyapı görüntüsüne ait Şekil 2'de verilen EDS noktasal analizine göre; karışım oranlarıyla uyumlu olarak Si miktarının en yüksek olduğu görülmektedir. Silis dumanının esas bileşeni kristalize olmayan amorf haldeki silistir. Diğer bileşenlerin ise %1-2 civarında Fe_2O_3 , ve %1'den az miktarda Al_2O_3 , SO_3 , MgO , Na_2O ve K_2O gibi oksitlerin olduğu Çizelge 1'de verilen sonuçlarla uyumlu olduğu SEM analiz sonuçlarından anlaşılmaktadır. Şekil 1(a, b, c, d)'de silis dumanı ilave edilmiş numunede meydana gelen reaksiyonlar görülmektedir.

Hidratasyonunu tamamlamış sertleşmiş hamur numunelerinin XRD çekimlerinde görülen piklerinin varlığı silis dumanı içeriğini göstermektedir. Numunelerin SEM incelenmesinde, literatürdeki hidratasyon prensiplerine uygun olarak (Diamond, 1986; Taylor, 1992; Malhotra ve Mehta, 1996; Gleize ve ark., 2003) CSH jelleri ve portlandit çekirdeklenerek oluştuğu görülmektedir. Buna bağlı olarak homojen, kararlı ve daha sıkı yapı oluştuğu gözlemlenmiştir.



Şekil 2. Numunelerin mikroyapı görüntüleri

SONUÇ

Günümüzde boşa giden enerjiyi azaltma çalışmaları önem kazanmaktadır. Ayrıca atık malzemedan yalıtım malzemesi üretimi, çevre ve halk sağlığı açısından farkındalığın artmasını sağlayacaktır. Gelişmiş termal koruma, israfsız, kabul edilebilir bir enerji tüketimi, tatmin edici termal konfor şartları, sağlıklı bir çevre ve düşük işletme maliyetleri gibi bütünleşik konulara katkı sağlamak amacıyla yapılan bu çalışmada aşağıda sıralanan sonuçlar elde edilmiştir.

✓ Kireç ve aktif silis dumanı karışım oranları arasındaki hidratasyon reaksiyonu C-S-H oluşumlarına yol açmaktadır.

- ✓ Silis dumanı, nano büyüklükte tane ve amorf yapısından dolayı puzolanik özellik göstermektedir.
- ✓ Silis dumanı oranının artması porozite, çekme ve basınç dayanımını artırmaktadır.
- ✓ Porozitenin artması yalıtım özelliğini artırmaktadır.

Üretilen tuğlanın düşük ses geçirgenliği, yüksek porozite özelliği ve hafif olması dolayısıyla yalıtım malzemesi olarak kullanımının uygun olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abo-El-Enein SA, Abou-Gamra ZM, El-Hosiny EL, El-Gamal SMA, 1996 Characteristics of Lime-Silica Fume Mixa Tram. *Journal of Thermal Analysis*, 46: 275-284.
- Al-Homoud Mohammad, S. 2005 Performance Characteristics and Practical Applications of Common Building Thermal Insulation Materials. *Building and Environment*, 40, 353-366.
- Al-Zaidi AKA, Demirel B, Atis CD, 2019. Effect of Different Storage Methods on Thermal And Mechanical Properties of Mortar Containing Aerogel, Fly Ash and Nano-Silica, *Construction and Building Materials*, 199:501-507.
- Anonim, 2010a. Beton-Sertleşmiş Beton Deneyleri-Bölüm 3: Deney Numunelerinde Basınç Dayanımının Tayini, TS EN 12390-3, Ankara.
- Anonim, 2010b. Beton-Sertleşmiş beton deneyleri - Bölüm 5: Deney Numunelerinde Eğilme Dayanımının Tayini, TS EN 12390-5, Ankara.
- Anonim, 2012. Beton Deneyleri - Bölüm 4: Ultrasonik Atımlı Dalga Hızının Tayini, TS EN 12504-4, Ankara.
- Anonim, 2013. Agregaların mekanik ve fiziksel özellikleri için deneyler - Bölüm 6: Tane yoğunluğunun ve su emme oranının tayini, TS EN 1097-6, Ankara.
- Anonymous, 1987. Silica Fume in Concrete. AC Committe 226, *ACI Material Journal*, 84: 158-166.
- Anonymous, 1996. Building Components and Building Elements-Thermal Resistance and Thermal Transmittance, EN ISO 6946. Calculation Method, DIN, Berlin.
- Anonymous, 2000a. Classification of The Reaction to Fire Performance of Construction Products, 89/106/EC/147, Council Directive, Official Journal of The European Communities.
- Anonymous, 2000b. Thermal Insulation Products for Building. Factory Made Mineral Wool (Mw) Products, EN 13162. Specification, DIN, Berlin.
- Anonymous, 2001a. Thermal Insulation Products for Buildings, Factory Made Products of Expanded Polystyrene (EPS), EN 13163. Specification, DIN, Berlin.
- Anonymous, 2001b. Thermal Insulation Products for Buildings, Factory Made Products of Extruded Polystyrene (XPS), EN 13164, Specification, DIN, Berlin.
- Anonymous, 2003. Data from Publications and the Web-site of the European Association of Mineral Wool Producers. <http://www.eurima.org>. (Date of access: 16 October 2018).
- Anonymous, 2006. Environmental Labels and Declarations, ISO 14025-00. Type III. Environmental Declarations, Technical Report, ASTM International.
- Arun NG, Sandeep S, 2016. Effects of Silica Fume (Micro Silica or Nano Silica) on Mechanical Properties of Concrete: A Review, *International Journal of Civil Engineering and Technology*, 7:345-357.
- Cohen MD, Bentur A, 1988. Durability of Portland Cement-Silica Fume Pastes in Magnesium Sulfate and Sodium Sulfate Solutions. *ACI Material Journal*, 85(3): 148-157.
- Diamond S, 1986. The Microstructures of Cement Paste in Concrete. In: *Proceedings of the VIII. Congress on Cement Chemistry*, Rio de Janeiro, Brazil, 122-147.
- Gleize PJP, Müller A, Roman H. R, 2003. Microstructural Investigation of a Silica Fume-Cement-Lime Mortar. *Cement and Concrete Composites*, 25(2): 171-175.
- Hijorth L, 1983. Development and Application of High-Density Cement-Based Materials. *Philosophical Transactions of the Royal Society, A*. 310(1511): 167-173.

- Holland T. C, 2005. Silica Fume User's Manual, Silica Fume Association. Free Highway Association, FHWA-IF-05-016, USA.
- Huang Y, Gong L, Shi L, Cao W, Pan Y, Cheng X, 2018. Experimental Investigation on the Influencing Factors of Preparing Porous Fly Ash-Based Geopolymer for Insulation Material. *Energy and Buildings*, 168: 9-18.
- Jennings H, 2008. Refinements to Colloidal Model of C-S-H in Cement: CM-II. *Cement and Concrete Research*, 38(3): 275-289.
- Júlio MF, Soares A, Ilharco LM, Flores-Colen I, Brito J, 2016. Aerogel Based Renders with Lightweight Aggregates: Correlation Between Molecular/Pore Structure and Performance, *Construction and Building Materials*, 124:485-495.
- Koca C, 1996. Yüksek Performanslı Beton Üretiminde Mikrosilis, Curuf, Klinker Karışımı Çimento Kullanımı. 4.Ulusal Beton Kongresi Beton Teknolojisinde Mineral ve Kimyasal Katkılar Bildiri Kitabı, TMMOB İnşaat Mühendisleri Odası, İstanbul, s. 381-394.
- Malhotra VM, Mehta PK, 1996. Pozzolanic and Cementitious Materials. *Advances in Concrete Technology*, Vol. 1. Overseas Publishers Association. Ottawa, Canada, USA.
- Mukhopadhyay M, 2000. *Advances in Refractory Materials Indian Scenario and Challenge for Future*. Refractories and Furnaces, Allied Publishers Limited. New Delhi, India.
- Muller ACA, Scrivener KL, Skibsted J, Gajewicz A. M, 2015. Influence of Silica Fume on The Microstructure of Cement Pastes: New Insights From H NMR Relaxometry. *Cement and Concrete Research*, 74: 116-125.
- Liu XH, Lv XD, Fu JX, Peng P, Gai GS, 2009. Application of Silica Fume in China *Advanced Materials Research*, 58:21-26.
- Papadopoulos AM, 2005. State of the Art in Thermal Insulation Materials and Aims for Future Developments. *Energy and Buildings*, 37 (1): 77-86.
- Petch HE, 1961. The Hydrogen Positions in Portlandite, Ca(OH)₂, As Indicated by the Electron Distribution, *Acta Crystallographica*,14(9): 950-957.
- Rodrigues F, Evangelista L, Brito J, 2016. A New Method to Determine the Density and Water Absorption of Fine Recycled Aggregates, *Materials Research*, 16:1045–1051.
- Sedlbauer K, Koenig Sind N, 1998. Are Measures Needed to Reduce the Risks of Artificial Mineral Fibers and What are the Alternatives? *Wksb Heft*, 42: 33-39.
- Samiha Ramdani S, Guettala A, Benmalek ML, Aguiar JB, 2019. Physical and mechanical performance of concrete made with waste rubber aggregate, glass powder and silica sand powder, *Journal of Building Engineering*, 21:302-311.
- Şimşek O, 2007. Beton Bileşenleri ve Beton Deneyleeri. Seçkin Yayınları, s.17-307, Ankara, Türkiye.
- Taylor HFW, 1992. *Cement chemistry*. 2nd ed. Academic Press. London, England.
- Zhaoab Z, Qua X, Lib F, Weib J, 2018. Effects of Steel Slag and Silica Fume Additions on Compressive Strength and Thermal Properties of Lime-Fly Ash Pastes. *Construction and Building Materials*, 183: 439-450.

Kestelek Bor Atık Kili Katkılı Yüksek Plastisiteli Bir Kilin Mukavemet Özelliklerinin Araştırılması

Zeynep Neşe KURT ALBAYRAK^{1*}

Emrah TURAN¹

ÖZET: Bor mineralleri, endüstriyel anlamda yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Dünya bor rezervinin %73'ü ülkemizde bulunmaktadır. Bor minerallerinin üretimi sırasında, bor oksit ile birlikte kil pestili olarak adlandırılan kil içerikli atıklar ortaya çıkmaktadır. Bor üretiminde meydana gelen artışla birlikte açığa çıkan atık kil pestillerinin de artması, depolama problemlerine ve olumsuz çevre etkilerine neden olmaktadır. Bu çalışmada, Kestelek Eti Maden İşletmesi'nden temin edilen atık kil pestilleri belirli yüzdelerde (%10, %30, %50, %70) yüksek plastisiteli bir kile katılarak atık kil pestillerinin yüksek plastisiteli kil zeminlerin stabilizasyonunda katkı maddesi olarak değerlendirilebilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla, yüksek plastisiteli bir doğal kil, farklı yüzdelerde atık kil pestili içeren kiler ve atık kil pestili üzerinde kıvam limitleri deneyleri, standart proktor deneyi ve serbest basınç deneyleri yapılmıştır. Deney sonuçları, atık kil pestillerinin, yüksek plastisiteli killerin serbest basınç mukavemetini artırdığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Bor atığı, kil, kil pestili, stabilizasyon, serbest basınç mukavemeti

Investigation of Strength Properties of a High Plasticity Clay with Kestelek Boron Waste Clay Additive

ABSTRACT: Boron minerals have a wide usage in industrial area. 73% of the World's boron reserves are located in Turkey. During the production of boron minerals, boron oxide and clay-containing wastes are occurred. Due to the increase in boron production, the increase in waste clays, leads to the storage problems and negative environmental effects. In this study, waste clays from Kestelek Eti Mine Plant were added at certain percentages (10%, 30%, 50%, 70%) to a clay with high plasticity for investigation the stabilisation of clayey soils. For this purpose, consistency limit tests, standard proctor tests and unconfined compressive strength tests were conducted on the high plasticity clay, high plasticity clay with clay waste additives and waste clay samples. Test results showed that with increasing waste clay percentage, the unconfined compressive strength values of high plasticity clay were increased.

Keywords: Boron waste, clay, stabilization, unconfined compressive strength

¹ Zeynep Neşe KURT ALBAYRAK (**Orcid ID:** 0000-0002-6323-8652), Emrah TURAN (**Orcid ID:** 0000-0003-2425-6118), Atatürk Üniversitesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Zeynep Neşe KURT ALBAYRAK, e-mail: znkurt@atauni.edu.tr

GİRİŞ

Killer, geoteknik mühendisliği alanında sıklıkla karşılaşılan ince taneli zeminlerdir. Katı atık depolama alanlarında geçirimsiz şilte olarak veya toprak dolgu barajlarda geçirimsizliği sağlayıcı çekirdek olarak killerden faydalanılmaktadır. Bu amaçlarda kullanılacak killerin geçirimsizlik özelliklerinin yanı sıra mukavemetlerinin de yüksek olması tercih edilen bir durumdur. Killer, suyla etkileşime girdiklerinde suyu bünyelerine alarak şişme, suyu kaybettiklerinde büzülme gibi hacim değişiklikleri meydana gelmektedir. Killerde meydana gelen hacim değişiklikleri, geoteknik özelliklerinde de değişiklikler meydana gelmesine neden olmaktadır. Kil zeminlerin özelliklerinin iyileştirilebilmesi için kil zeminlerin çeşitli kimyasallar, atık malzemeler veya diğer tür zeminlerle karıştırıldığı çalışmalar mevcuttur (Akbulut ve Sağlamer, 2004; Kalkan ve Akbulut, 2004; Yarbaşı ve ark., 2007).

Bor mineralleri, endüstriyel anlamda yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Dünya bor rezervlerinin yaklaşık %73'ü Türkiye'de bulunmaktadır (Anonim, 2018). Ülkemizde açık ocak madenciliği şeklinde gerçekleştirilen borat madenciliğinde kazanılan bor cevherleri, yıkama, dağıtma ve boyuta göre sınıflandırma şeklinde gerçekleştirilen zenginleştirme işlemleri ile elde edilmektedir (Oruç ve ark., 2004). Zenginleştirme işlemi, kilin suda şişmesi ile bor minerallerinden ayrılması özelliğinden yararlanarak su ile ayırma şeklinde uygulanmaktadır (Aytekin ve ark., 1992). Bor minerallerinin üretimi esnasında gerçekleştirilen cevher zenginleştirme sürecinde ortaya çıkan, içerisinde bor oksit yanında kil mineralleri de barındıran katı atıklar kil pestili olarak adlandırılmaktadır (Uğurlu ve ark., 2004; Akçaözöğlü ve Akçaözöğlü, 2016). Bor üretimi sırasında ortaya çıkan atıkların artışı çevresel sorunlara, ekonomiklik oranının düşmesine, ayrıca depolama alanı problemlerine neden

olmaktadır. Bu atıklardan borun geri kazanımı ya da diğer alanlarda değerlendirilmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Bozkurt, 1989; Köse ve ark., 1989; Aytekin ve Badruk, 1992). İnşaat mühendisliği alanında yapılan çalışmalarda, boraks atıklarının sahip olduğu hafif puzolanik karakterden dolayı daha ziyade tuğla ve çimento üretimi üzerine yoğunlaşmıştır (Uğurlu ve ark., 2004).

Tuğla üretimi ile ilgili olarak, Sönmez ve Yorulmaz (1995), bor türevleri atık killerin tuğla toprağı ile karıştırılarak tuğla yapımında kullanılabileceğini deneysel olarak ortaya koymuşlardır. Diğer bir çalışmada, Seydişehir kırmızı çamuruna Kırka işletmesinden temin edilen bor atık killeri katılarak yüksek mukavemetli ve düşük su emme özelliğine sahip kaliteli tuğla imal edilebilmiştir (Kavas ve Emrulloğlu, 1999). Çimento ile ilgili olarak, kil pestillerinin çimento içerisinde kullanılabilirliğinin ve bor mineralleri ile atıklarının çimentoda kullanım yöntemlerinin araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır (Uğurlu ve ark., 2004; Demirel ve Nasiroğlu 2017). Ayrı bir çalışmada ise, Bigadiç borat işletmelerinde ortaya çıkan atık çamur çimentoya ilave edilmiş ve hazırlanan numunelerin basınç dayanımlarının zamanla arttığı bulunmuştur (Okucu, 2010).

Bor atığı killerin geoteknik mühendisliği alanında değerlendirilmesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ulutaş ve ark. (2014) çalışmalarında Kırka Bor işletmesinden temin ettikleri bor atığı kilin geoteknik, kimyasal ve yapısal özelliklerini incelemiş ve Kırka bor atığı kilinin katı atık depolama alanlarında kullanılabilir olduğunu vurgulamışlardır. Banar ve ark. (2016) Kırka Bor İşletmesi'nden temin edilen bor atığı killeri kullanarak bentonit, atık lastik ve bitüm ile geosentetik bariyer üretmişlerdir. Banar ve ark. (2017) bor atığı killeri bentonit ve atık lastik ile karıştırmış ve

bunların geçirimsiz şilte olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır.

Bu çalışmada, Erzurum-Horasan'dan temin edilen ve yüksek plastisiteli olduğu belirlenen bir doğal kile, Eti Maden Kestelek Bor İşletmesi Müdürlüğü'nden temin edilen atık kil pestilleri belirli yüzdelerde (%10, %30, %50 ve %70) katılarak, atık kil pestillerinin doğal kilin mukavemet özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu kapsamda, öncelikle doğal kilin ve atık kilin geoteknik özellikleri belirlenmiştir. Atık kil pestili katkılı kil numunelere ait deney sonuçları, doğal kile ait deney sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Doğal Kil

Deneylerde kullanılan yüksek plastisiteli doğal kil (K) Erzurum-Horasan Kırkgözeler Köyü Mevkiinden temin edilmiştir. Doğal kil etüvde (105°C) kurutulup Los Angeles Aşındırma Cihazı'nda öğütülmüş ve 40 nolu elekten elenerek deneylerde kullanılmıştır.

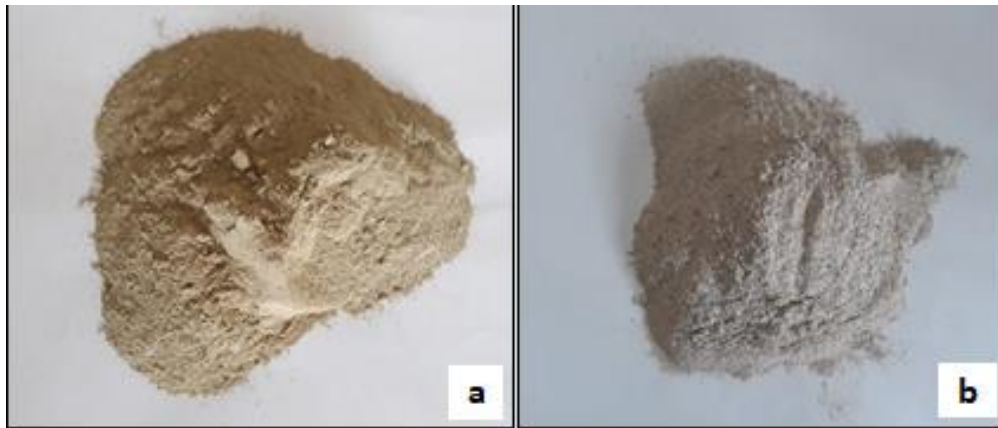
Atık Kil Pestili

Doğal kile katılacak olan atık kil pestili, Eti Maden Kestelek Bor İşletmesi Müdürlüğü bünyesindeki bor maden ocaklarından getirilmiştir. Atık kil pestilleri etüvde (105°C)

kurutulup Los Angeles Aşındırma Cihazı'nda öğütülmüş ve 40 nolu elekten elenerek deneylerde kullanılmıştır. Şekil 1'de doğal kil ve atık kil pestili görülmektedir. Çizelge 1'de doğal kile ve atık kil pestiline ait bazı geoteknik özellikler verilmiştir.

Numunelerin Hazırlanması

Atık kil pestillerinin doğal kilin mukavemet özelliklerine olan etkisini belirlemek için, gerçekleştirilmiş olan ön deneyler sonucunda elde edilen oranlarda atık kil, katkı olarak doğal kile ilave edilmiştir. Deney programı Çizelge 2'de verilmektedir. Katkılı kil numuneler, atık kil pestilinin doğal kile ağırlıkça belirli yüzdelerde katılarak kuru halde karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Çizelge 2'de K numunesi %100 doğal kilden, A numunesi %100 atık kil pestilinden oluşmaktadır. KA1 numunesi, doğal kil ile doğal kilin ağırlıkça %10'u oranında atık kil pestilinin kuru halde karıştırılmasıyla elde edilmiştir. KA3, KA5 ve KA7 numuneleri elde edilirken, doğal kil ile sırasıyla doğal kilin ağırlıkça %30, %50 ve %70'i oranında atık kil pestili kuru halde karıştırılmıştır.



Şekil 1. a) Doğal Kil b) Kestelek bor atık kil pestili

Çizelge 1. Doğal kile ve atık kil pestiline ait bazı geoteknik özellikler

Numune	Doğal Kil	Bor Atık Kil Pestili
Özgül ağırlık, G _s	2,84	2,38
Likit limit, w _L , %	131	68
Plastik limit, w _P , %	48	30
Plastisite indisi*, IP, %	83	38
Zemin sınıfı**	CH	CH
Optimum su içeriği, w _{opt} , %	30	21,5
Maksimum kuru birim hacim ağırlık, γ_{kmax} , kN/m ³	14,7	15,2
Serbest basınç mukavemeti, q _u , kPa	467	230

*(Plastisite İndisi)=w_L-w_P

**Birleştirilmiş Zemin Sınıflandırma Sistemi'ne göre belirlenmiştir

Çizelge 2. Deney programı

Numune	Doğal Kil (%)	Bor Atık Kil Pestili (%)
K	100	-
KA1	90	10
KA3	70	30
KA5	50	50
KA7	30	70
A	-	100

Deneyleler

Doğal kil, atık kil pestili ve atık kil pestili katkılı kil numuneler üzerinde kıvam limitleri deneyleri yapılmıştır. Numunelerin likit limitleri, düşen koni penetrometre metodu ile (BS 1377), plastik limitleri ASTM D 4318-17'ye göre belirlenmiştir. Likit limit deneyi yapılırken, numuneler su ilave edilerek yoğrulmuş ve penetrasyon kalıbına yerleştirildikten sonra, numune üzerine konik uç düşürülmüş ve 5 saniye sonundaki batma miktarı tespit edilmiştir. Bu işlem farklı su içeriklerinde tekrarlanmıştır. Deney sonunda her bir batma için elde edilen su içeriği değerleri bulunmuş, 20 mm lik batmaya karşılık gelen su içeriği değeri likit limit değeri olarak alınmıştır.

Numunelerin optimum su içeriği ve maksimum kuru birim hacim ağırlığı değerleri ASTM D 698-12'ye göre gerçekleştirilen standart proktor deneyi ile belirlenmiştir. Standart proktor deneyinde doğal kil ve atık kil pestili katkılı numuneler, 10,2 cm yüksekliğinde

ve 11,7 cm çapında metal silindir kompaksiyon kalıbı içerisine her tabakaya 25'er vuruş yapılmak suretiyle üç tabaka halinde sıkıştırılmıştır. Proktor deneyi sonucunda çizilen su içeriği (%w), kuru birim hacim ağırlık (γ_k) eğrisi kompaksiyon eğrisi olup, kompaksiyon eğrisinde, kuru yoğunluğun, diğer bir değişle sıkıştırmanın en yüksek olduğu durumdaki su içeriği zeminin en iyi sıkıştırılabildiği su içeriğidir. Maksimum kuru birim hacim ağırlık (γ_{kmax}) ve optimum su içeriği (w_{opt}) değerleri kompaksiyon eğrisinin pik noktasından bulunmaktadır.

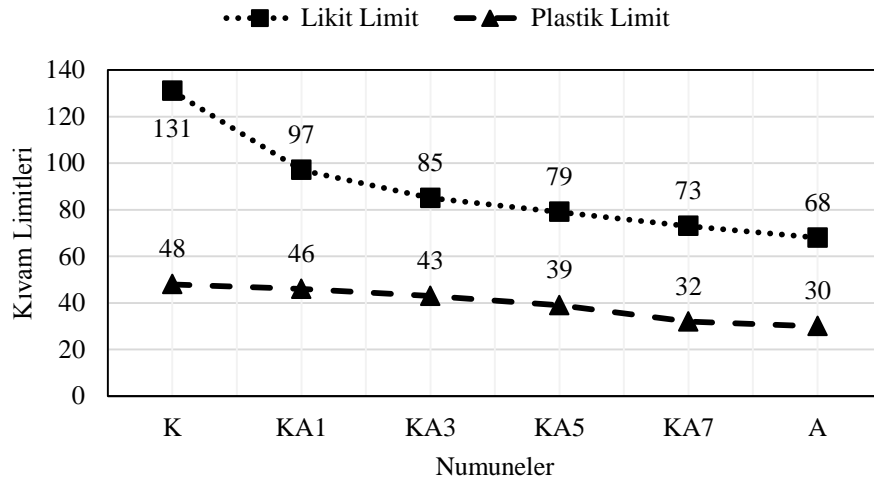
Numunelerin serbest basınç mukavemetleri ASTM D 2166-16 ile bulunmuştur. Serbest basınç mukavemetleri optimum su içeriğinde hazırlanmış olan kompaksiyon numunelerinden, 35 mm çapında, 70 mm yüksekliğindeki silindir metal tüpler içerisine alınan örnekler üzerinde yapılan serbest basınç deneyleriyle belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

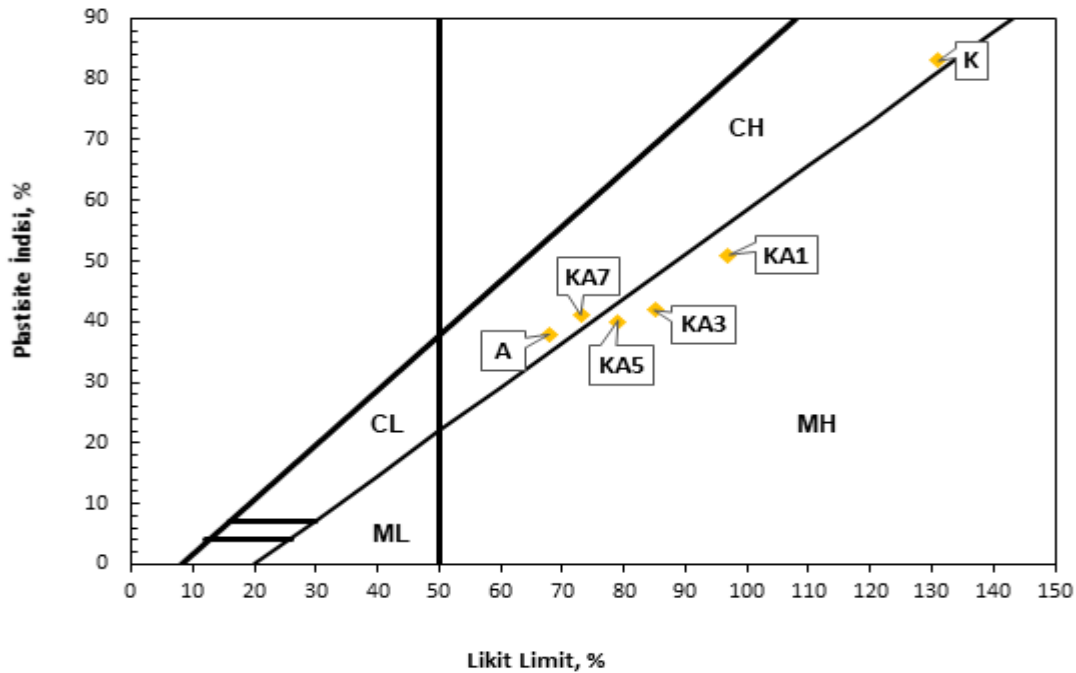
Kıvam Limitleri Deneyleri

Doğal kile katılan atık kil pestili yüzdesinde meydana gelen artışla numunelerin likit limit ve plastik limit değerlerinde azalma meydana geldiği görülmüştür (Şekil 2). %70 atık kil pestili katkılı kilin likit limiti, doğal kilin likit limitine göre %44 oranında, plastik limiti doğal kilin plastik limitine göre %33 oranında azalmıştır. Doğal kilin zemin sınıfı Birleştirilmiş

Zemin Sınıflandırma Sistemi'ne (USCS) göre yüksek plastisiteli kil (CH) olarak belirlenmiştir. Atık kil pestilinin %30 ve %50 oranlarında olması durumunda zemin sınıfı yüksek plastisiteli silt (MH) sınıfına dönüşmüş, atık kil pestili %70 olduğunda numune yeniden CH özelliği kazanmıştır. Atık kil pestilinin zemin sınıfı da CH olarak belirlenmiştir. Şekil 3'de numunelerin Casagrande Plastisite Grafiği ile belirlenmiş olan zemin sınıfları görülmektedir.



Şekil 2. Atık kil pestili katkılı numunelerin kıvam limitlerinde meydana gelen değişim

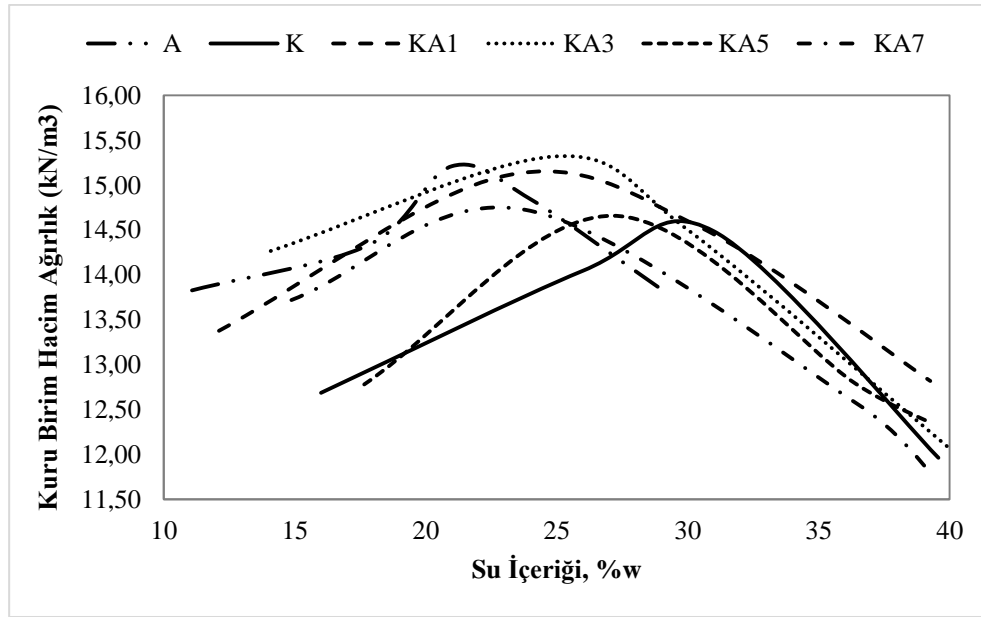


Şekil 3. Casagrande Plastisite Grafiği'nde katkılı killerin zemin sınıfları

Standart Proktor Deneyleri

Doğal kilin, atık kil pestilinin ve atık kil pestili katkılı kil numunelerinin Standart proktor deneyi sonucunda çizilmiş olan kompaksiyon eğrileri Şekil 4'te görülmektedir. Numunelerin kompaksiyon parametreleri Çizelge 3'de, atık kil pestili yüzdesindeki artışla numunelerin optimum su içeriğinde ve maksimum kuru birim hacim ağırlıklarında meydana gelen değişim ise Şekil 5'te verilmiştir. Yüksek plastisiteli doğal kile katılan atık kil pestili yüzdesinde meydana

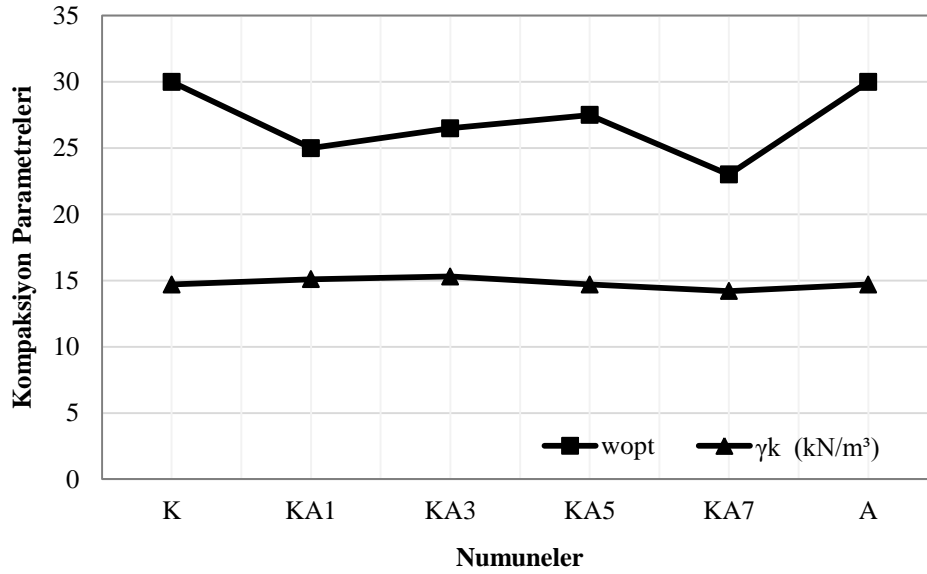
gelen artışla numunelerin optimum su içeriklerinde doğal kile göre azalma meydana geldiği görülmüştür (Şekil 5). %70 atık kil pestili katkılı kilin optimum su içeriği, doğal kilin optimum su içeriğine göre %23 oranında azalmıştır. Atık kil pestili yüzdesindeki artışla maksimum kuru birim hacim ağırlıklarda artış meydana gelmiştir. %70 atık kil pestili katkılı numunenin maksimum kuru birim hacim ağırlığı, doğal kilin maksimum kuru birim hacim ağırlığına göre %3,4 oranında artmıştır.



Şekil 4. Numunelerin kompaksiyon eğrileri

Çizelge 3. Atık kil pestili katkılı killerin kompaksiyon parametreleri

Numune	Optimum Su İçeriği %	Maksimum Kuru Birim Hacim Ağırlık (kN/m ³)
K	30	14,7
KA1	25	15,1
KA3	26,5	15,3
KA5	27,5	14,7
KA7	23	14,2
A	21,5	15,2



Şekil 5. Atık kil pestili katkılı numunelerin kompaksiyon parametrelerinde meydana gelen değişim

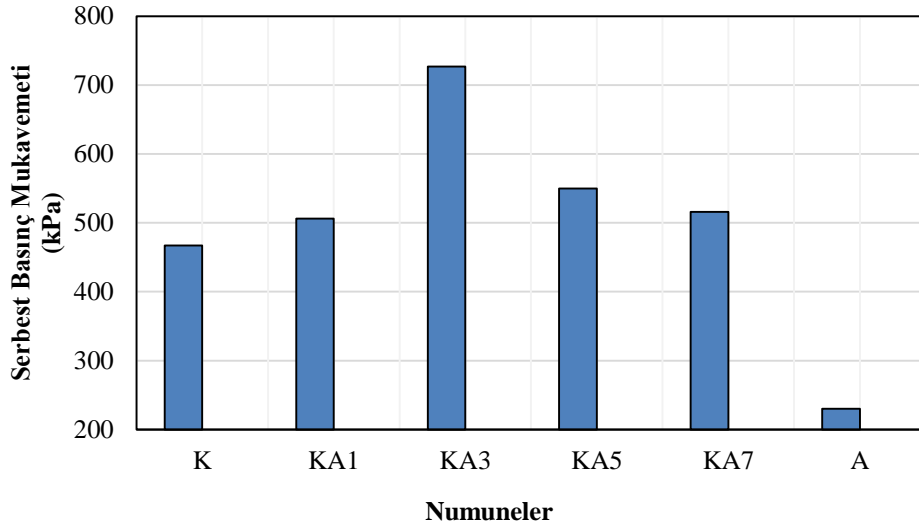
Serbest Basınç Deneyleri

Doğal kilin, atık kil pestilinin ve atık kil pestili katkılı kil numunelerin serbest basınç deneyleri, standart proktor enerjisinde sıkıştırılan örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Numunelerin serbest basınç mukavemeti değerleri Çizelge 4’te verilmiştir. Çizelge 4 incelendiğinde doğal kilin serbest basınç mukavemetinin 467 kPa, atık kil pestilinin serbest basınç mukavemetinin 230 kPa olduğu görülmektedir. Atık kil pestili yüzdesi %10, %30, %50 ve %70 için serbest basınç

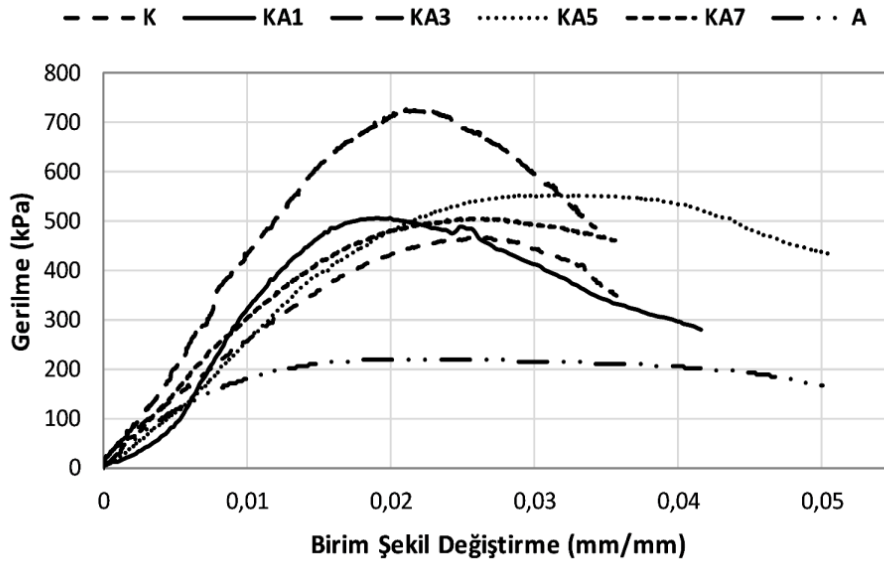
mukavemetleri doğal kile göre sırasıyla, %8.4, %56, %18, %10 oranlarında artmıştır. Bu sonuçlara göre, serbest basınç mukavemetlerinde meydana gelen en yüksek artışın %30 atık kil pestili yüzdesinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Atık yüzdelerinde meydana gelen artışla numunelerin serbest basınç mukavemetlerinde meydana gelen değişim Şekil 6’da görülmektedir. Numunelerin serbest basınç deneyi sırasında elde edilen gerilme-birim deformasyon eğrileri Şekil 7’de verilmiştir.

Çizelge 4. Numunelerin serbest basınç mukavemetleri

Numune	Serbest Basınç Mukavemeti (kPa)
K	467
KA1	506
KA3	727
KA5	550
KA7	516
A	230



Şekil 6. Atık kil pestili katkılı numunelerin serbest basınç mukavemetlerinde meydana gelen değişim



Şekil 7. Atık kil pestili katkılı numunelerin gerilme-birim deformasyon eğrileri

SONUÇ

Bu çalışmada, Erzurum-Horasan'dan temin edilen doğal bir kile, Eti Maden Kestelek Bor İşletmesi Müdürlüğü'nden temin edilen atık kil pestilleri belirli yüzdelerde (%10, %30, %50 ve %70) katılarak, atık kil pestillerinin doğal kilin mukavemet özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar aşağıda sıralanmıştır.

Doğal kile katılan atık kil pestili yüzdesinde meydana gelen artışla numunelerin likit limitleri ve plastik limitleri azalmıştır. Atık kil pestili katkısı yüksek plastisiteli kil zeminin kıvam özelliklerini değiştirmiştir.

Atık kil pestili yüzdesi arttıkça numunelerin optimum su içerikleri doğal kile göre azalmış, maksimum kuru birim hacim ağırlıklar artmıştır.

Numunelerin serbest basınç mukavemetleri, atık kil pestili yüzdesinde meydana gelen artışla artış göstermiştir. Serbest basınç mukavemetinde meydana gelen en yüksek artış %30 atık kil pestili katkılı numunelerde gerçekleşmiştir.

Bor üretimindeki artışla birlikte ortaya çıkan atık kil pestili miktarının da artacağı bilinmektedir. Atık kil pestillerinde meydana gelen artış, depolama problemlerini ve olumsuz çevre etkilerini de beraberinde getirecektir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, Eti Maden Kestelek Bor İşletmesi'nde bor üretimi sırasında ortaya çıkan ve atık kil pestili olarak adlandırılan bor atığı killerin, CH kilinin serbest basınç mukavemeti üzerinde olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Atık kil pestili katkısıyla likit limitin ve optimum su içeriğinin azalması ve serbest basınç mukavemetinde meydana gelen artış nedeni ile kil pestillerinin, CH killerinin stabilizasyonunda katkı malzemesi olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince 6785 Numaralı proje olarak desteklenmiştir. Anılan destek nedeni ile Atatürk Üniversitesi'ne ayrıca atık kil pestili temini sağlayan Eti Maden Genel Müdürlüğü ve Kestelek İşletmesi Müdürlüğü'ne teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

Akbulut S, Sağlamer A, 2004. Modification of Hydraulic Conductivity In Granular Soils Using Waste Materials. Waste Management, 24 (5): 491-499.

Akçaözoğlu S, Akçaözoğlu K, 2016. Atık Kil Pestili ve Atık Pet Şişe Kırıklarının Kompozit Malzeme Üretiminde Değerlendirilmesi. Niğde Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 5 (2): 218-226.

Anonim, 2018. Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Bor Sektör Raporu, http://www.etimaden.gov.tr/storage/uploads/2018/05/2017-Bor-Sektö%CC%88r-Raporu-23_05_2018.pdf. (Erişim Tarihi:15.11.2018).

ASTM D 2166-16, 2016. Standard Test Method for Unconfined Compressive Strength of Cohesive Soil. ASTM West Conshohocken, PA.

ASTM D 4318-17, 2017. Standard Test Method for Liquid Limit, Plastic Limit, and Plasticity Index of Soils. ASTM West Conshohocken, PA.

ASTM D 698-12, 2012. Standard Test Methods for Laboratory Compaction Characteristics of Soil Using Standard Effort. ASTM West Conshohocken, PA.

Aytekin Y, Akdağ M, Türkmen Y, Batar T, Badruk M, 1992. Tinkal (Boraks) Cevherinin Patlatma Yoluyla Zenginleştirilebilirliğinin ve Bu Yöntemin Bilinen Mevcut Yöntemler Yerine İkamesinin Araştırılması. TÜBİTAK MAG 838 Sonuç Raporu 1992, İzmir.

Aytekin Y, Badruk M, 1992. Emet kolemanit cevherinin dekrepitasyon yoluyla zenginleştirilebilirliğinin araştırılması. 1. Uluslararası Cevher Hazırlama Sempozyumu, 2: 549-562, Antalya.

Banar M, Güney Y, Özkan A, Günkaya Z, Bayrakçı E, Ulutaş D, 2016. Utilization of Waste Clay from Boron Production in Bituminous Geosynthetic Barrier (GBR-B) Production as Landfill Liner. International Journal of Polymer Science, 2016: 1-8.

Banar M, Güney Y, Özkan A, Günkaya Z, Bayrakçı E, Ulutaş D, 2017. Utilisation of Waste Clay From Boron Production as a Landfill Liner Material. International Journal of Mining, Reclamation and Environment, 1-17.

Bozkurt R, 1989. Minerolojik İncelemelerin Cevher Zenginleştirmedeki Rolüne İki Örnek. Anadolu Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakülte Dergisi, 5: 15-21.

- BS 1377, 1990. Methods of Test for Soils For Civil Engineering Purposes. Classification Tests. Türk Standartları Enstitüsü.
- Demirel B, Nasıroğlu S, 2017. Bor Mineralleri ve Atıklarının Çimento Kullanılma Stratejileri. Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 29 (1): 95-100.
- Kalkan, E, Akbulut, S, 2004. The Positive Effects of Silica Fume on The Permeability, Swelling Pressure and Compressive Strength of Natural Clay Liners. Engineering Geology. 73 (1-2): 145-156.
- Kavas T, Emrulloğlu Ö, 1999. Seydişehir Kırmızı Çamuru ve Kırka Bor Atıklarının Endüstriyel Hammadde Olarak Kullanımı, 1. Batı Anadolu Hammadde Kaynakları Sempozyumu, 216-225.
- Köse M, Ertekin S, Gündüz M, Oztoprak M. 1989. Emet konsantratör atık barajındaki arsenik ve kolemanitleri seçimli olarak kazanma imkânları. Türkiye Madencilik Bilimsel ve Teknik II. Kongresi. TMMOB Maden Mühendisleri Odası, 407-415, Ankara.
- Okucu A, 2010. Farklı Endüstriyel Katı Atıkların Çimento Harçlarının Dayanımına Etkisinin Araştırılması. Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 22 (2): 181-186.
- Oruç F, Sabah E, Erken Z E, 2004. Türkiye'de bor atıklarını sektörel bazda değerlendirme stratejileri. II. Uluslararası Bor Sempozyumu, 23-25 Eylül 2004, Eskişehir.
- Sönmez E, Yorulmaz S. 1995. Kırka boraks işletmesi artık killerin tuğla yapımında kullanılabilirliğinin araştırılması. Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu, 21-22 Nisan 1995, 163-168, İzmir.
- Uğurlu A, Özdemir M, Topçu İ, 2004. Bor içeren kil atıkların çimento içerisinde değerlendirilmesi. II. Uluslararası Bor Sempozyumu, 23-25 Eylül 2004, Eskişehir.
- Ulutas D, Bayrakci E, Cokaygil Z, Ozkan A, Guney Y, Banar M, 2014. Geotechnical, Chemical and Structural Characterization of Waste Clay From Boron Production. Athens Journal of Technology Engineering, 1: 171-179.
- Yarbaşı N, Kalkan E, Akbulut S, 2007. Modification of The Geotechnical Properties, as Influenced by Freeze-Thaw, of Granular Soils With Waste Additives. Cold Regions Science and Technology, 48 (1): 44-54.

Hydro-Estimator Algoritmasının Mevsimsel Ölçekte Suudi Arabistan'da Değerlendirilmesi

Arzu ÖZKAYA^{1*}

ÖZET: Meteoroloji ve hidroloji uygulamalarında, bölgesel ve küresel ölçekte kaliteli yağış tahminlerinin bulunması çok önemlidir. Yağış verisinin mekânsal ve zamansal düzlemdeki yüksek değişkenliğinden dolayı, kabul edilebilir veri gösterimi için sık ve yakın aralıklı gözlemler gerekmektedir. Bu nedenle de birçok araştırma alanında uydu-tabanlı yağış ürünleri kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı uydu tabanlı yağış verisi olan Hydro-Estimator (HE) ürününü kurak iklim koşullarına sahip olan Suudi Arabistan bölgesi için mevsimsel ölçekte değerlendirmektir. Çalışmada 30 adet yağış gözlem istasyonu kullanılmış ve bu istasyonlardan temin edilen aylık toplam yağış verileri mevsimsel ölçekte HE ürünü ile değerlendirilmiştir. Değerlendirmede yağış miktarı ve topoğrafya gibi değişkenler yağış rejimleriyle kıyaslanmıştır. Buna göre aylık tabanda iki veri seti arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Ancak, yağış rejimleri gözetilerek yapılan değerlendirmelerde HE ürününün istasyon verisiyle olan ilişkisi belirlenmiştir. İki veri arasındaki ilişkiyi ölçmek için, determinasyon katsayısı (r^2) kılavuz olarak kullanılmıştır. Sonuçlara göre HE ürünü yağışlı mevsimde daha az tahmin sunarken, geçiş ve kurak mevsimlerde daha fazla tahmin sunmuştur. Ayrıca, en iyi sonuç ($r^2 = 0.86$) kurak mevsimde gözlenmiştir. Her iki veri setinde de genel olarak topoğrafyanın yüksek olduğu yerlerde yüksek yağış değerleri bulunmuştur. Ancak yüksekliğin yağış dağılımında tek faktör olmadığı da görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Uydu-tabanlı yağış verisi, Hydro-Estimator ürünü, yağış dağılımı

Evaluation of the Hydro-Estimator Algorithm over Saudi Arabia on a Seasonal Scale

ABSTRACT: In applications of meteorology and hydrology, the availability of good-quality precipitation estimates at regional and global scales is very important. For acceptable data representation, frequent and closely spaced observations are required due to high variability of precipitation data in spatial and temporal domain. Consequently, satellite-based precipitation products have been used in many research fields. The aim of this study is to evaluate the satellite-based precipitation data Hydro-Estimator (HE) product in seasonal scale over the Saudi Arabian region that has arid-climate conditions. In this study, 30 rainfall observation stations were used and monthly total rainfall data obtained from these stations were evaluated with the HE product in seasonal scale. In the evaluation, amount of rainfall and topography were compared with rainfall regimes. According to results, significant relationship between these two datasets was not determined in monthly based evaluations. However, generalized relation between the HE product and the gauge data was obtained in seasonal-based evaluations. To measure the relation between two data, the coefficient of determination (r^2) was used as a guideline. Based on the results, the HE product underestimated the rainfall amounts in wet season whereas, overestimated the rainfall amounts in dry and transitional seasons. Moreover, the best result ($r^2=0.86$) was observed in dry season. Generally, both datasets gave high rainfall amounts in topographically high regions. However, it was also observed that the height was not the only factor in the distribution of rainfall.

Keywords: Satellite-based rainfall data, the Hydro-Estimator product, rainfall distribution

¹Arzu ÖZKAYA (Orcid ID: 0000-0003-3983-8831), Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Arzu ÖZKAYA, e-mail: ozkayarzu@gmail.com

GİRİŞ

Yağışın zamansal ve mekânsal tabanda doğru ölçülmesi su kaynakları yönetimi, taşkın uyarı sistemleri ve iklim değişikliği senaryolarında büyük bir öneme sahiptir. Geleneksel yağışölçerler arazideki ortalama yağış miktarını bulmada sıklıkla kullanılmaktadır (Rudolf, 2005). Fakat bu ölçümlerin havza ya da çalışma alanını tam anlamıyla ifade etmediği de bilinmektedir. Yağış ölçerlerin düzensiz dağılımı ile birlikte örnekleme alanlarında da sınırlı sayıda bulunması, geniş alanda gözlenen yağışların temsilini ifade etmeyi zorlaştırmaktadır (Deyzel, 2004; Ghile ve ark., 2010). Bununla birlikte, gelişmekte olan ülkelerde yer tabanlı gözlem ağları seyrilmekte ve durum daha da kötüye gitmektedir (Hughes, 2006). Buna alternatif olarak uydu tabanlı yağış ürünleri, ölçüm istasyonu yetersiz ya da hiç olmayan yerlerde çözüm olabilmektedir. Yeni algoritmalarla birlikte bu ürünlerin hidrolojik tahmin ve taşkın çalışmalarındaki kullanımı çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir (Hong ve ark., 2007; Li ve ark., 2009; Pan ve ark., 2010; Shrestha ve ark., 2008; Wu ve ark., 2014). Uzaktan algılama teknolojisindeki ilerlemeler uydu tabanlı ürünlerin çözünürlük ve veri hassasiyetini arttırmada yardımcı olmaktadır (Behrangi ve ark., 2011).

Uydu tabanlı yağış ürünleri uydu platformlarında bulunan pasif mikrodalga (MW) ve/veya kızılötesi (IR) aletlerden temin edilen gözlemlerden oluşmaktadır. IR tabanlı uydu ürünleri, yüksek mekânsal ve zamansal çözünürlüğe sahiptir; ancak, hesaplanan yağış değerlerinin doğruluğu genellikle daha azdır. Bunun ana sebebi veri algoritmasında yer alan yağış oranı hesaplamasının bulut tepe albedo değeri ile doğrudan bir bağı olmamasıdır (Petty ve Krajewski, 1996). Öte yandan, MW tabanlı uydu ürünleri, yağış değer tespitinde daha doğru bir çıkarıma sahip olmasına rağmen, düşük

çözünürlükte mekânsal ve zamansal veri sağlaması sebepleriyle avantajlarını sınırlamaktadırlar (Sapiano ve Arkin, 2009). Literatürde algoritma, kullanılan platform ve çözünürlüklerine göre çok sayıda uydu tabanlı yağış verisi bulunmaktadır. Bu verilerden en çok kullanılanlara örnek olarak CMORPH, MPE, PERSIANN, TRMM ve IEMRG verilebilir. Bu ürünlerin dışında çözünürlüğü yüksek fakat kullanımı fazla olmayan Hydro-Estimator (HE) ürünü de uydu tabanlı yağış verileri arasındadır.

HE ürünü Amerika kıtası için 2003'ten beri, küresel olarak ise 2007'den beri kullanıma açıktır. HE ürününün mekânsal ve zamansal çözünürlüğü yüksek olduğundan, taşkın çalışmalarında kullanılmaktadır (Sapiano ve Arkin, 2009; Yücel, 2015). Orografik düzeltmesi yapılmış HE ürününün özellikle konvektif yağışlarda zamansal ölçekte başarı gösterdiği fakat rakıma bağlı olarak yanlış sonuçlar çıkardığı da saptanmıştır (Yücel ve ark., 2011). HE ürününün diğer yağış verileriyle (uydu, radar) olan karşılaştırmaları da literatürde yer almaktadır. Buna göre, GOES Multispectral Rainfall Algorithm (GMSRA)'e göre daha az yanlış ve korelasyonu yüksek sonuçlar verdiği (Scofield ve Kuligowski, 2003); Next Generation Radar verisine göre yağış tahminlerinde daha isabetli sonuçlar çıkardığı (Ramirez-beltran ve ark., 2008) saptanmıştır.

Bu çalışmada amaç mekânsal ve zamansal çözünürlüğü yüksek, IR tabanlı HE ürününün değerlendirilmesini oldukça kuru bir iklime sahip olan Suudi Arabistan üzerinde mevsimsel toplam yağış değerlerini kullanarak yapabilmektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma Alanı

Suudi Arabistan, Arap Yarımadası'nda bulunan en büyük ülkedir. Düzensiz yağışa ve yüksek sıcaklıkta bir iklime sahip olan Suudi Arabistan'ın birçok bölgesi sıcak ve kurak olarak tanımlanmaktadır. Ancak, ülkenin güneybatısı yıl boyunca yağış alabildiği ve topoğrafyası

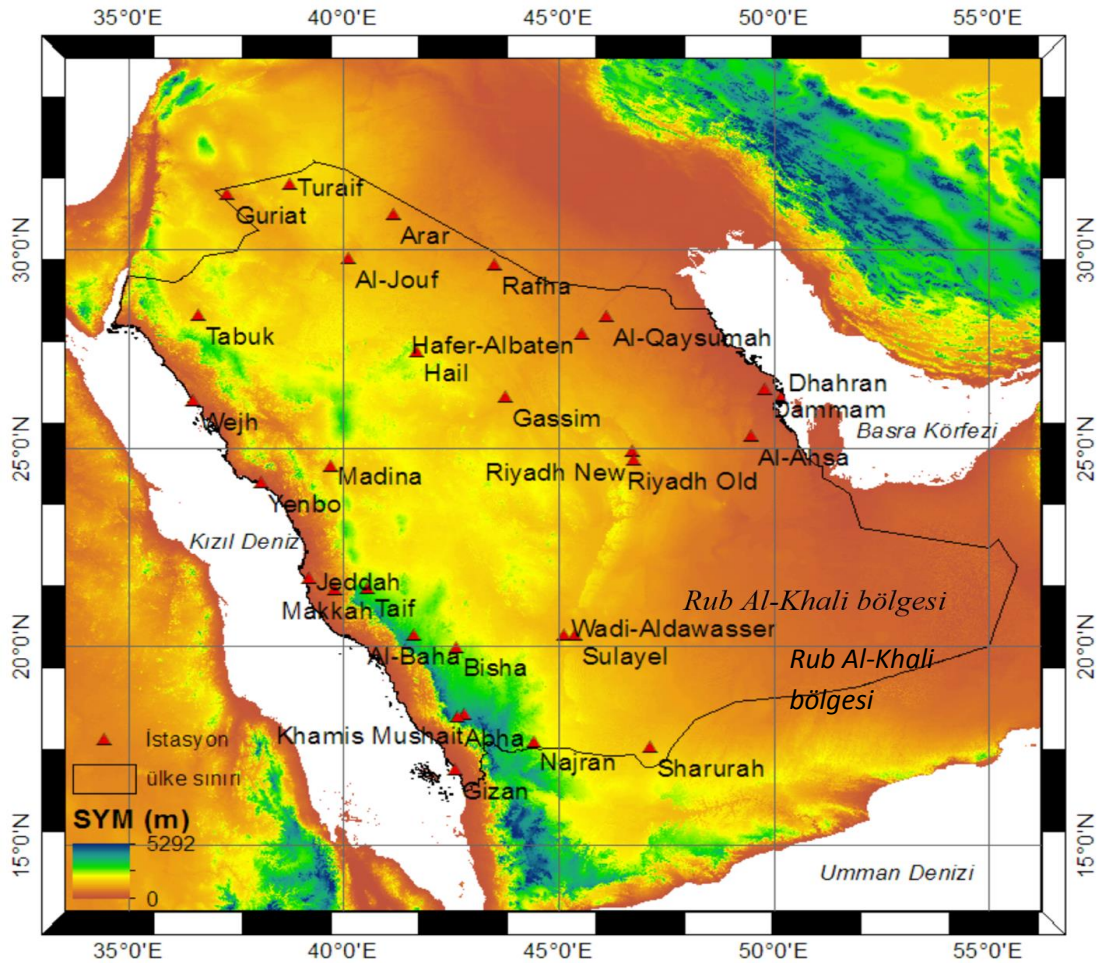
konvektif yağış görülmesine sebebiyet verdiğinden yarı-kurak olarak sınıflandırılmıştır (Abdullah ve Al-Mazroui, 1998). Yılın bazı zamanlarında ve ülkenin bazı bölgelerinde ciddi yağış rejimleri görülmekle birlikte, Suudi Arabistan genel olarak dünyanın en kurak ülkelerinden biri olarak bilinmektedir. Bu sebeple de ülkenin güney-batı kıyıları hariç gün içinde aşırı sıcak değerler, gece boyunca ise sıcaklıkta ani düşüşler görülebilmektedir. Topoğrafyanın ve bölgesel subtropikal yüksek basıncın etkisiyle ülke genelinde nem ve sıcaklıkta ciddi değişimler olabilmektedir. Dünyanın en büyük çölü olan Rub Al-Khali ülkenin güneydoğu kısımlarında yer almaktadır. Ülke yaklaşık olarak 2000 km uzunluğunda Kızıldeniz sahillerine sahiptir. Bu sahillerin güney kısmı 3000 m ve üzeri dik yamaçlı dağ

silsilelerinden oluşmaktadır. Ülke genelinde topoğrafyaya dikkatle bakıldığında (Şekil 1) iklim değişimindeki iki ana uç görülebilmektedir. Ülkenin güneybatı bölgesi Hint okyanusunun etkisinde kalmakta ve bu sebeple Ekim-Mart aylarında yağış gözlenmekte, iç kısımlarda ise kurak iklim özellikleri görülüp kısa süreli fakat şiddetli yağışlara rastlanmaktadır (Almazroui, 2011).

Yağış Verileri

Yağış istasyonları

Bu çalışmada Suudi Arabistan Meteoroloji ve Çevre Başkanlığı tarafından sunulan aylık toplam yağış değerleri kullanılmıştır. Şekil 1'de yerleşimi gösterilen bu istasyonların enlem, boylam, rakım ve yıllık ortalama yağış değerleri Çizelge 1'de sunulmuştur.



Şekil 1 Çalışma alanı ve yağış istasyonlarının yerleşimi (SYM: Sayısal Yükseklik Modeli)

Çizelge 1 Yağış istasyonlarının enlem, boylam, rakım ve yıllık ortalama yağış değerleri (2007-2017 arası)

ID	İstasyon Adı	Enlem	Boylam	Yükseklik (m)	Ort. toplam yağış (mm)
1	Abha	18.23	42.66	2100	155
2	Al-Ahsa	25.3	49.49	180	71
3	Al-Baha	20.29	41.64	1655	110
4	Al-Jouf	29.78	40.1	670	61
5	Arar	30.9	41.14	550	46
6	Bisha	19.99	42.61	1167	72
7	Dhahran	26.26	50.16	22	58
8	Dammam	26.5	49.8	10	78
9	Guriat	31.4	37.28	504	44
10	Hafer-Albaten	27.9	45.53	412	66
11	Hail	27.44	41.69	1000	45
12	Jeddah	21.71	39.18	18	44
13	Gizan	16.9	42.58	4	111
14	Khamis Mushait	18.29	42.8	2047	137
15	Madina	24.54	39.7	630	42
16	Makkah	21.43	39.79	273	107
17	Najran	17.61	44.41	1213	58
18	Al-Qaysumah	28.33	46.12	360	100
19	Gassim	26.3	43.77	648	84
20	Rafha	29.62	43.49	445	61
21	Riyadh New	24.92	46.72	612	76
22	Riyadh Old	24.71	46.73	610	36
23	Sharurah	17.47	47.12	727	45
24	Sulayel	20.28	45.37	616	27
25	Tabuk	28.37	36.6	770	36
26	Taif	21.48	40.55	1455	124
27	Turaif	31.68	38.73	852	62
28	Wadi-Aldawasser	20.3	45.12	617	6
29	Wejh	26.2	36.47	20	65
30	Yenbo	24.14	38.06	8	42

Hydro-Estimator (HE) ürünü

HE ürünü, Geostationary Operational Environmental Satellite (GOES) uydusundan temin ettiği parlaklık sıcaklığı (10.7- μ m) değerini kullanarak konvektif ve konvektif olmayan bulutlarda yağmur oranını hesaplayan bir algoritmadır (Scofield ve Kuligowski, 2003). GOES'in kapsamadığı yerlerde METEOSAT (Avrupa, Afrika ve Batı Asya) ve MTSAT (Doğu Asya) gibi diğer coğrafi uyduları kullanılmaktadır (Vicente ve ark., 1998). HE ürünü yağış değerini IR parlaklık sıcaklığı ve sayısal hava tahmini değerlerini otomatik olarak kullanarak hesaplama yapmaktadır. Algoritma

GOES uydusundan piksel parlaklık sıcaklığı değerlerini kullanırken bu değerler diğer piksellere olan farklılığını da dikkate almaktadır. Bu aşamada, çevre piksellerden daha sıcak olan pikseller, daha alçak bulutlar ve yağmursuz olarak ifade edilirken, çevre piksellerden daha soğuk olan pikseller, tırmanma bölgeleriyle ilişkilendirilmektedir (Vicente ve ark., 1998). HE ürünü ASCII formatında ve küresel ölçekte araştırmacıların kullanımına sunulmuştur. Veriyle ilgili karakteristik özellikler Çizelge 2'de görülmektedir.

Çizelge 2. HE Ürünü Özellikleri

Zamansal Çözünürlük	15 dk. - 1 saat
Mekânsal Çözünürlük	4-km GOES kapsama alanında; Küresel dosyalama 0.045 derece.
Kapsama Alanı	Küresel 60°S - 60°N.
Ürün temin adresi	http://www.star.nesdis.noaa.gov/smcd/emb/ff/auto.html
Gecikme (Operasyonel Uygunluk)	60 dakika
Kullanılan Uydular	GOES (15 dk), METEOSAT (30 dk), MTSAT (60 dk)

Kuligowski (2014), HE ürününün konvektif sistemlerde güçlü olduğunu, ürünün nem düzeltmelerinin ise yağışların toprağa ulaştıktan sonra buharlaşmanın hızla gerçekleştiği yüksek kurak bölgelerde iyi performans gösterdiğini savunmuştur. Ancak, bulut üst parlaklık sıcaklığı değerlerinden elde edilen yağış oranlarının stratiform yağış tipini iyi ifade edemediğinden, bu tip yağışlarda ürünün zayıf olduğunu eklemiştir (Kuligowski, 2014).

Bu nedenle algoritma, serin sezon için yetersizdir. Algoritmanın bu çalışmada kullanılmasının ana nedeni daha önce bu hassasiyetteki IR tabanlı bir ürünün bu bölgede değerlendirilmemiş olması ve bölgenin sıcak ve kurak iklim koşullarını sergilemesidir. HE ürününün literatürde hangi bölgelerde kullanıldığı ve ana sonuçlarını ifade eden kısa bir özet Çizelge 3' de sunulmuştur.

Çizelge 3 HE ürününün diğer çalışmalardaki değerlendirmesinin özeti

Çalışma alanı	Ana Sonuçlar	Kaynak
California – Nevada ve Arkansas Red Havzası	<ul style="list-style-type: none"> Autoestimator (AE) ürünü, HE ürünü, GMSRA'nın iki versiyonu dağlık alanlar üzerinde performansı araştırılmıştır. İki yıllık istatistiksel karşılaştırmalar sonucunda genel olarak, AE ve HE'nin daha az yanlış sonuçlar verdiği görülmüştür. Tahmini ve gözlemlenen yağışlar arasındaki en iyi korelasyon sonuçlarına AE ve HE verilerinde bulunmuştur. 	(Scofield ve Kuligowski, 2003)
Puerto Rico	<ul style="list-style-type: none"> HE ürünü ve NEXRAD yağış tahminlerinin doğruluğu, beş fırtına olayında kullanılarak ve yağış süreleri ayrılarak incelenmiştir. HE ürünü, hem yağış olaylarının sayısını hem de yağış miktarlarını daha az ölçerken, NEXRAD daha iyi sonuçlar vermiştir. HE algoritması, yağış tahminlerini daha isabetli bir oranda sunarken, yanlış alarm oranları NEXRAD'a göre daha fazla olmuştur. 	(Ramirez-beltran ve ark., 2008)
Tropikal Pasifik Okyanusu	<ul style="list-style-type: none"> HE ürünü konvektif yağışlarda başarı göstermiştir. HE ürünü yaz mevsiminde az, kış mevsiminde ise diğer ürünlere nazaran daha fazla yanlışlık göstermiştir. Bu sonuçlar HE ürünün yaz aylarındaki sel uyarılarında daha başarılı olabileceğini işaret etmektedir. 	(Sapiano ve Arkin, 2009)
Yarı kurak iklim kuzey-batı Meksika bölgesi	<ul style="list-style-type: none"> 2002 ve 2003 yıllarındaki iki yaz muson dönemi boyunca, HE algoritması, şiddetli yağış olaylarının görüldüğü düşük kotlarda yüksek yağış değerleri, yüksek kotlarda ve az yağışlarda ise az yağış değeri tahmin etmiştir. Çalışmada şiddetli konvektif yağışların gözlemlendiği yerlerde HE ürünün fazla duyarlı sonuçlar verebileceği vurgulanmıştır. 	(Yücel ve ark., 2011)
Ayamama Havzası, İstanbul, Türkiye	<ul style="list-style-type: none"> Çalışma, 7-12 Eylül 2009 tarihlerinde meydana gelen aşırı sel olaylarını simüle ederek, hava radarı, HE algoritması ve WRF yağış ürününün performansını değerlendirmiştir. HE algoritması şiddetli sel olayı için en iyi sonuçları vermesine rağmen, stratiform sistemleriyle ilişkili hafif yağışları gözden kaçırmıştır. HE algoritmasından gelen taşkın zirve değerinin zamanlaması, gözlemlerden gelenlerle yakından eşleşmiştir. 	(Yücel, 2015)

BULGULAR VE TARTIŞMA

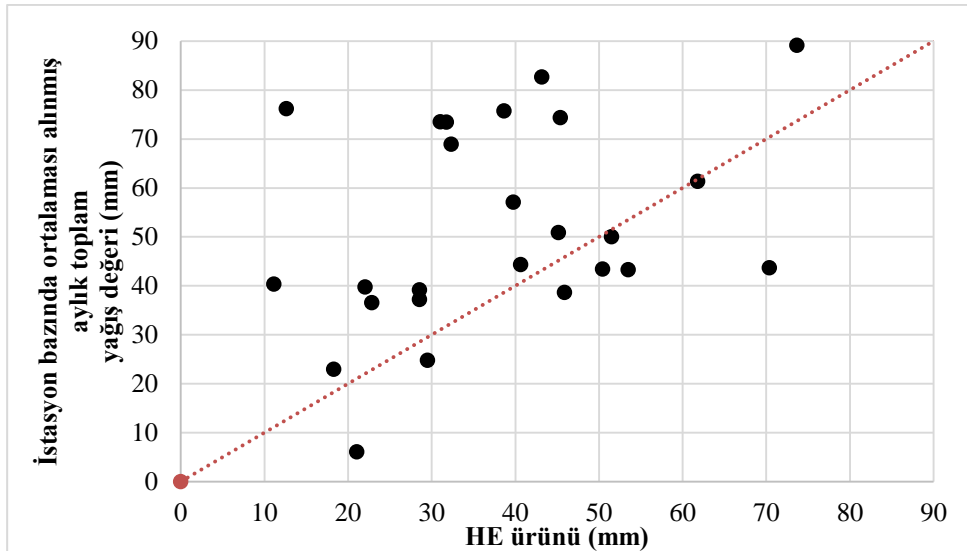
Noktasal Tabanda Karşılaştırma

İstasyon yağış değerleri aylık tabanda olduğundan, saatlik tabanda temin edilen HE ürünü aylık tabana dönüştürülmüş ve bunların lineer ilişkisi karşılaştırılmıştır. HE ürünü küresel ölçekte saatlik veri sunduğundan, 2007-2017 yılları arasında toplam 96360 adet küresel veri (24x365x11) kaynak siteden indirilip gerekli

bölge kesildikten sonra, aylık tabanda (24x30) birleştirilmesi sağlanmıştır. Elde edilen sonuçlar kullanılarak istasyon bazında aylık toplam yağış değerlerinin ortalaması hesaplanmıştır (Şekil 2). Bu aşamada veri setlerinde doğrusal bir ilişki görülmüş ancak HE ürününün farklı yağış türlerinde hassasiyeti değiştiği için yağış rejimine göre gruplama yapmanın sonuçları daha iyi anlatacağı düşünülmüştür. Değerlendirmede determinasyon katsayısı (r^2) kullanılmıştır:

$$r^2 = \left(\frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i * \sum y_i}{\sqrt{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} \sqrt{n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2}} \right)^2 \quad \text{Eşitlik (1)}$$

x_i , i istasyonunda ölçülen yağış verisini; y_i , i istasyonunda tahmin edilen HE ürünü yağış değerini ve n toplam istasyon sayısını vermektedir.



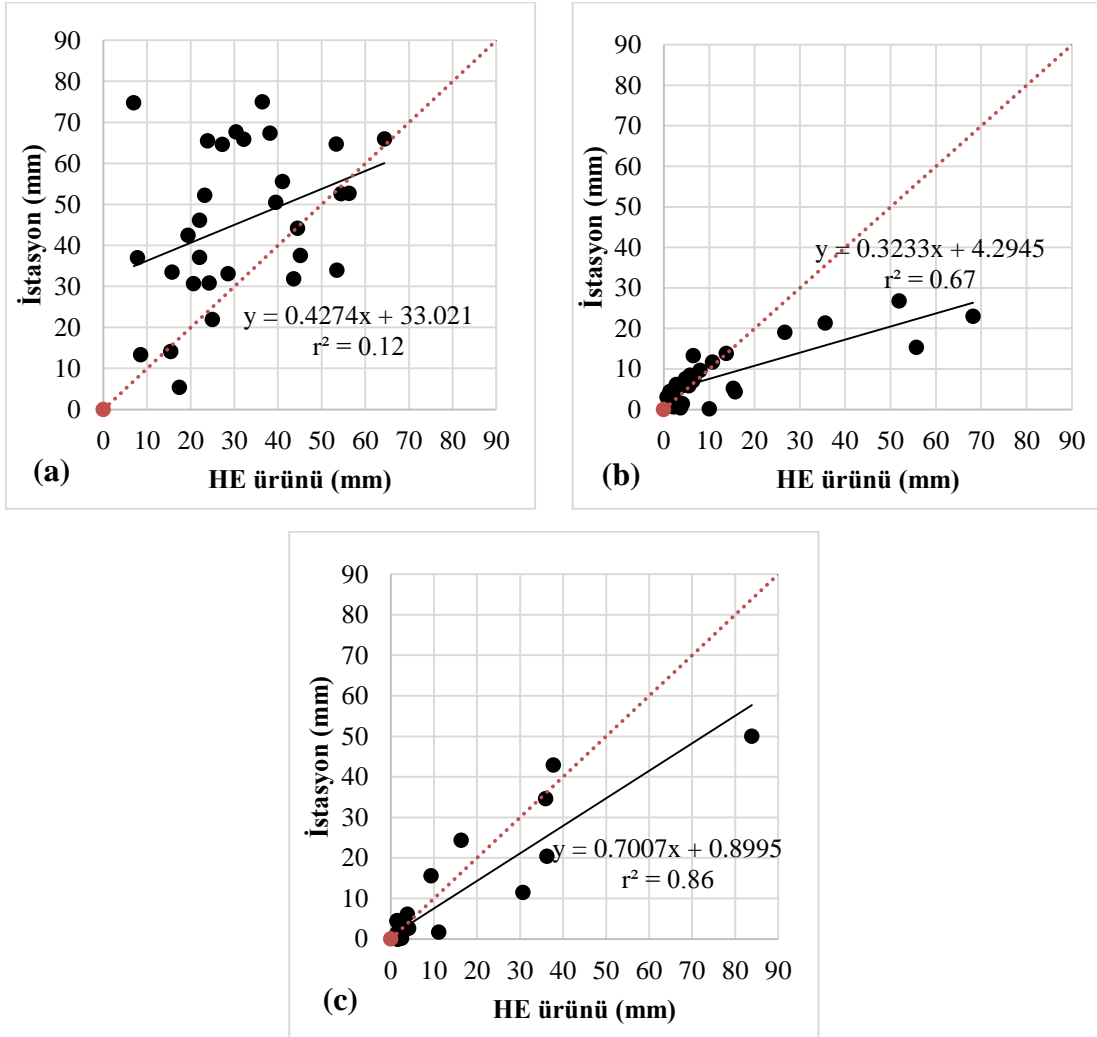
Şekil 2 İstasyon bazında ortalaması alınmış aylık toplam yağış değerlerinin HE ürünü yağış değerleri ile karşılaştırılması

Şekil 3'de 2007-2017 yılları arası gözlenen aylık yağış değerleri mevsimsel tabanda gruplanıp ortalamaları alınarak doğrusal ölçekte ilişkisi sunulmuştur. Mevsimsellik gruplamalar kurak mevsim, yağışlı mevsim ve geçiş mevsimi olarak yapılmıştır. Bu gruplamada Kasım ve Nisan ayları arası, yağışlı mevsim; Haziran ve Eylül ayları arası kurak mevsim; Ekim ve Mayıs ayları ise geçiş mevsimi olarak alınmıştır (Hasanean ve Almazroui, 2015). Bu gruplama neticesinde yağış tipleri nispeten ayrılabilmiş ve IR tabanlı yağış ürünü olan HE değerlerinin

performansı daha iyi görülebilmektedir (Şekil 3). Elde edilen bulgulara göre yağış rejiminin fazla olduğu mevsimde HE ürünü ve istasyon yağış değerleri arasındaki determinasyon katsayısı en az ($r^2=0.12$, Şekil 3 (a)); kurak mevsimde ise ilişki en fazla ($r^2=0.86$, Şekil 3 (c)) hesaplanmıştır. Geçiş mevsiminin yaşandığı aylarda ise determinasyon katsayısı yağışlı mevsime göre daha fazladır ($r^2=0.67$, Şekil 3 (b))). Genel bir değerlendirme yapılmak istenirse, HE ürünü yağışlı mevsimde az tahminde, geçiş ve kurak mevsimlerde ise

istasyon verilerine göre daha fazla yağış

tahmininde bulunduğu görülmüştür.



Şekil 3 İstasyon yağış ve HE ürünü yağış değerlerinin mevsimsellik ölçüğünde noktasal karşılaştırılması (a) yağışlı mevsim, b) geçiş mevsimi ve c) kurak mevsim)

Mekânsal Tabanda Karşılaştırma

Bu kısımda amaç mekânsal olarak yüksek çözünürlüğe sahip olan HE ürününün mevsimsel tabanda ortalama yağış dağılımını ve değişimini istasyon değerleriyle görsel inceleyebilmektir. 2007-2017 tarihleri arasında gözlenen mevsimsel ortalama yağış değerlerinin dağılımı her iki ürün için hesaplanmıştır. İstasyon verileri nokta tabanlı yağış bilgisi sunduğundan ters mesafe ağırlıklı enterpolasyon tekniği (IDW) kullanılarak örneklenmeyen noktalara ait yağış değerleri bulunmuştur.

Şekil 4 (a,1 ve a,2)'de verilerin yağışlı mevsimdeki dağılımı gösterilmiştir. Buna göre HE ürünü iki farklı doğrultuda yüksek yağış

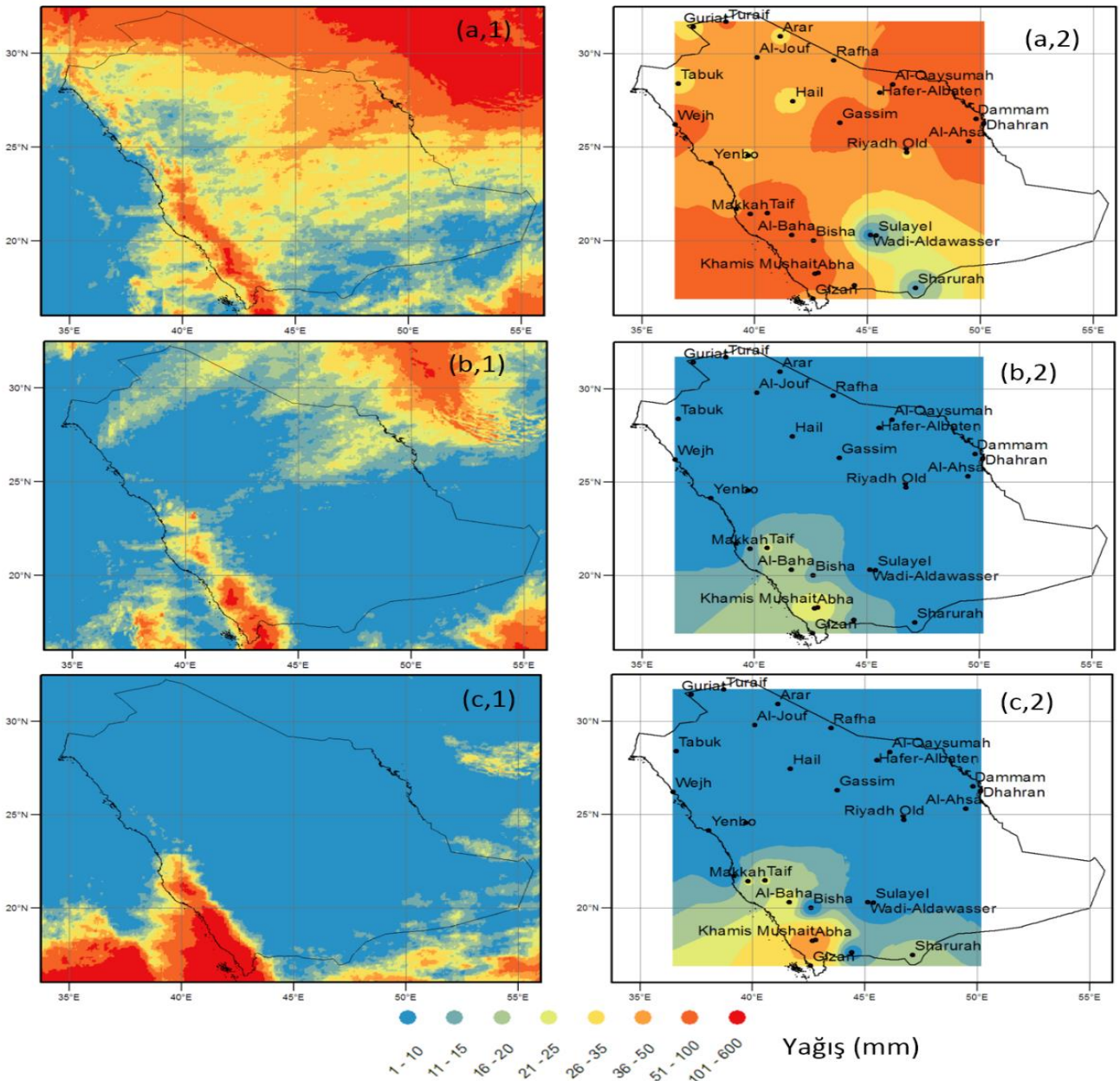
şeridi oluşturmuştur. Bunlardan ilki 30°N enleminin yukarısında, ikinci ise ülkenin güney batı bölgesindedir. Bu mevsimdeki gözlenen yağış Umman Denizi ve Kızıl Deniz'den gelen nem ile ilişkilendirilmektedir (Almazroui, 2011). Hafif yağmurlu alan ise Rub Al-Khali bölgesini kapsamaktadır. Bu bölge Arap Yarımadasının güney ucunun çoğunu kapsayan, dünyanın en büyük kum çöllerinden biridir. İstasyon verileri kullanılarak oluşturulan yağışlı mevsim haritası incelendiğinde (Şekil 4 (a,2)) yağış dağılımının kabaca HE ürünü ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Ancak, istasyonların düzensiz ve seyrek dağılımı IDW metodunun enterpolasyon noktaları etrafında belirgin yüksek ya da alçak

yağış değerlerine sahip daireler oluşturmasına sebebiyet vermiştir.

Geçiş mevsimi ve kurak mevsimi HE ürünü yağış haritaları (Şekil 4 (b,1) ve (c,1)) benzer yağış dağılımı göstermekte birlikte kurak mevsimde ülkenin güneybatısında görülen yağışların şiddeti daha fazladır. İstasyon verilerinden temin edilen yağışlar kurak ve geçiş mevsimlerinde HE ürünü ile yakın dağılım göstermiş olup noktasal bazda yapılan

çalışmanın korelasyon değerlerini de desteklemektedir.

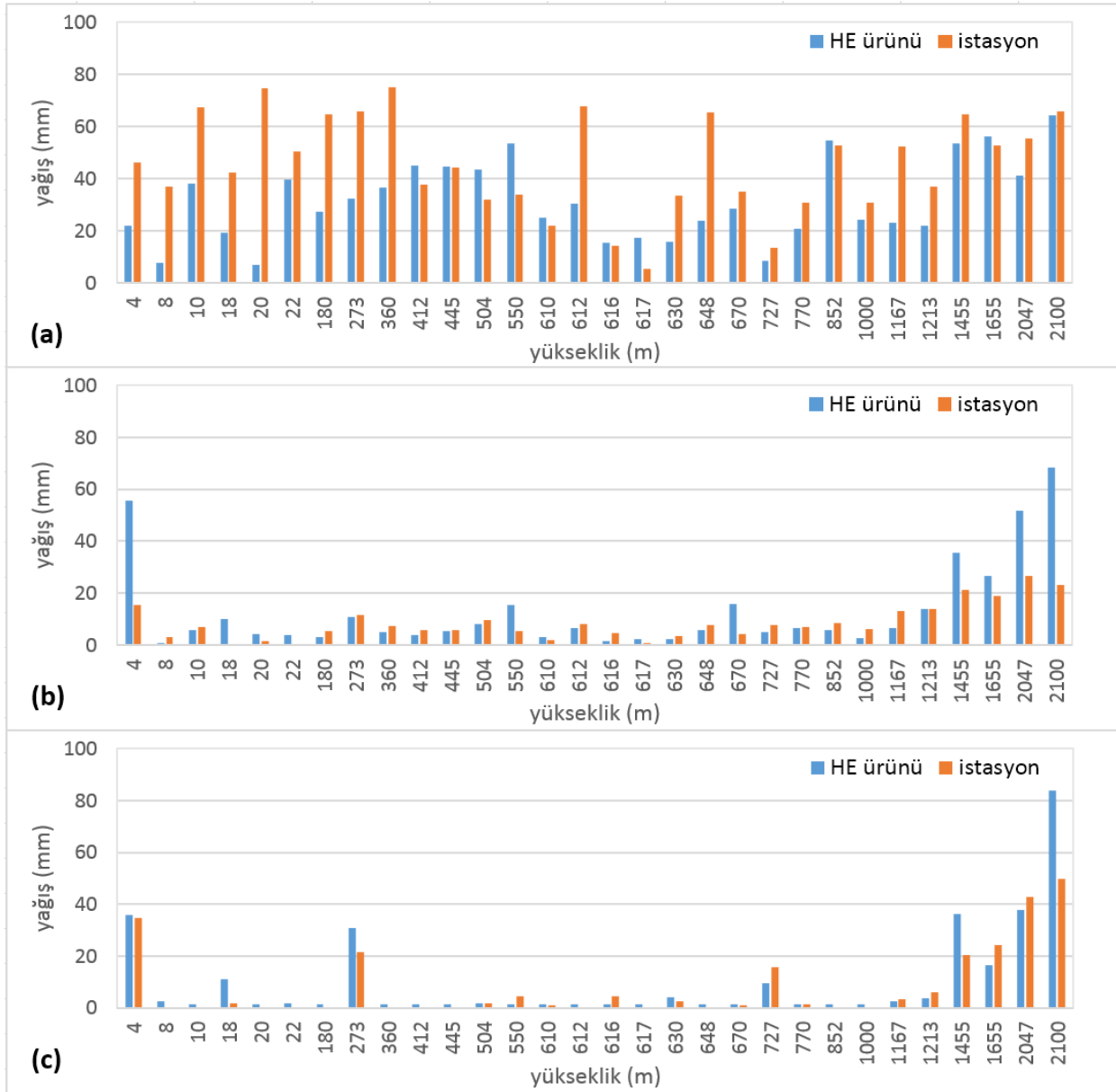
Kurak mevsim boyunca kuzeyde yağmur üreten bir sistem bulunmamaktadır. Bu mevsimde, güneybatı bölgesi haricinde, ülke genelinde yağış gözlenmemektedir. Güneybatı bölgesinde gözlenen yağışların sebebi güneybatı doğrultulu düşük seviyeli güçlü rüzgârların ve güçlü orografik etkinin gözlenmesindedir (Almazroui, 2011).



Şekil 4 İstasyon yağış ve HE ürünü yağış değerlerinin mevsimsellik ölçeğinde mekânsal karşılaştırılması (a)yağışlı mevsim, b) geçiş mevsimi ve c) kurak mevsim; birinci kolon HE ürünü değerlerini, ikinci kolon istasyon değerlerinin dağılımını göstermektedir.)

Şekil 5'de istasyon rakım değerleri ile istasyon ortalama yağış değerleri ve bu istasyona denk gelen HE ürünü ortalama yağış değerlerinin değişimi sunulmuştur. Buna göre geçiş (b) ve kurak (c) mevsimlerde yağış genel olarak yüksek

rakımlı bölgelerde görülmüş bu sonuç Şekil 4'de de desteklenmiştir. Ancak, benzer rakım etkisi yağışlı mevsimde (Şekil 5 (a)) gözlenmemiştir.



Şekil 5. Yağış ürünlerinin mevsimsel ölçekte yükseklikle olan ilişkisi (a) yağışlı mevsim, b) geçiş mevsimi ve c) kurak mevsim)

SONUÇ

Bu çalışmada, IR tabanlı yağış verisi olan HE ürününün mevsimsel ölçekte değerlendirilmesi, yer gözlem verilerini noktasal ve alansal tabanda kullanarak kuru bir iklime sahip olan Suudi Arabistan için yapılmıştır.

- Aylık tabandaki noktasal karşılaştırmada iki ürün arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Bu sonuç çalışmayı benzer yağış özellikleri gösteren mevsimsel ölçekte değerlendirmeye yönlendirmiştir.

- Mevsimsel değerlendirme yağışlı, kurak ve geçiş mevsimlerine göre üç farklı sezon için yapılmıştır. Buna göre HE ürünü yağışlı mevsimde daha az yağış tahmin ederken, geçiş ve kurak mevsimlerde daha fazla yağış tahmininde bulunmuştur. En iyi sonucu kurak mevsimde göstermiştir.
- HE ve istasyon verileri, yağışı en az Rub Al-Khali çevresinde göstermiştir.
- Yağışlı mevsimin mekânsal değişimlerine bakıldığında, HE ürünü ve istasyon yağış değerleri en fazla yağışı ülkenin güneybatı ve kuzeydoğu bölgelerinde göstermiştir. Öte yandan, kurak ve geçiş mevsimlerinde her iki ürün de ülkenin kuzeyinde daha az yağış değeri göstermiştir.
- Dağlık kesimlerdeki yağmur rejimi alçak kesimlere göre mevsimsellik özelliğinden bağımsız olarak daha düzenli bir durum sergilemiştir.
- Yüksek rakımlı Al-Baha (1655 m.), Taif (1455 m.), Abha (2100 m.) ve Khamis Mushait (2047 m.) istasyon bölgelerinde HE ürünü ve istasyon ölçümleri birbiri ile uyumlu şekilde yüksek yağış değerleri vermiştir. Buna ek olarak, alçak rakımlı Gizan (4 m.) istasyonu da her iki yağış verisinde mevsimsellikten bağımsız olarak yüksek yağış değerleri vermiştir. Bu sebeple yüksekliğin yağış dağılımında tek faktör olmadığı görülmüştür.

Bu çalışmayla, HE ürününün mevsimsel tabanda gözlenen toplam yağışın %58'ini yağışlı mevsimde, %24'ünü geçiş mevsiminde geriye kalan %18'lik yağışı kurak mevsimde tahmin ettiği hesaplanmıştır. Ürün mekânsal ve zamansal tabanda yüksek çözünürlüğe sahip olmasına rağmen yağış hesaplama tekniğindeki bulut tepe albedo değerinin yağış oranı ile dolaylı bir ilişkiye sahip olması nedeniyle özellikle aylık tabanda başarı gösterememiştir.

Ancak, mevsimsel tabanda yağışın mekânsal dağılımı istasyon verileriyle uyum göstermiş ve ileriki çalışmalarda bu değişimin yıllık tabanda bakılmasının HE ürününün daha detaylı değerlendirilmesinde başarı sağlayacağı düşünülmektedir.

KISALTMALAR DİZİNİ

AE: Auto-Estimator

ASCII: American Standard Code for Information Interchange

CMORPH: Climate Prediction Center (CPC) Morphing Technique

EUMETSAT: The European Organisation for the Exploitation of Meteorological Satellites

GMSRA: The GOES Multispectral Rainfall Algorithm

GOES: Geostationary Operational Environmental Satellite

HE: Hydro-Estimator

IDW: Inverse Distance Weighting Methods (ters mesafe ağırlıklı enterpolasyon tekniği)

IEMRG: The Integrated Multi-satellite Retrievals for Global Precipitation Measurement

IR: Infrared (Kızılötesi)

METEOSAT: EUMETSAT tarafından işletilen sabit yörüngeli uydular

MPE: Multi-Sensor Precipitation Estimate

MTSAT: Multifunction Transport Satellite

MW: Microwave (Mikrodalga)

NEXRAD: Doppler weather radars

PERSIANN: Precipitation Estimation from Remotely Sensed Information using Artificial Neural Networks

TRMM: Tropical Rainfall Measuring Mission

WRF: The Weather Research and Forecasting

KAYNAKLAR

- Abdullah M, Al-Mazroui M, 1998. Climatological study of the southwestern region of Saudi Arabia. I. Rainfall analysis. *Climate Research* 9: 213–223.
- Almazroui M, 2011. Temperature Variability over Saudi Arabia and its Association with Global Climate Indices. *Journal of King Abdulaziz University-Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture Sciences* 23: 85–108.
- Behrangi A, Khakbaz B, Jaw TC, AghaKouchak A, Hsu K, Sorooshian S, 2011. Hydrologic evaluation of satellite precipitation products over a mid-size basin. *Journal of Hydrology* 397: 225–237.
- Deyzel ITH, South Africa, Water Research Commission, 2004. Spatial interpolation and mapping of rainfall (SIMAR). Volume 2, Water Research Commission, Pretoria.
- Ghile Y, Schulze R, Brown C, 2010. Evaluating the performance of ground-based and remotely sensed near real-time rainfall fields from a hydrological perspective. *Hydrological Sciences Journal* 55: 497–511.
- Hasanean H, Almazroui M, 2015. Rainfall: Features and Variations over Saudi Arabia, A Review. *Climate* 3: 578–626.
- Hong Y, Adler RF, Hossain F, Curtis S, Huffman GJ, 2007. A first approach to global runoff simulation using satellite rainfall estimation. *Water Resources Research* 43.
- Hughes DA, 2006. Comparison of satellite rainfall data with observations from gauging station networks. *Journal of Hydrology* 327: 399–410.
- Kuligowski B, 2014. STAR Satellite Rainfall Estimates - Hydro-Estimator - Technique Description [web Document]. URL <https://www.star.nesdis.noaa.gov/smcd/emb/ff/HEtechnique.php> (Erişim tarihi: 20.11.2018)
- Li L, Hong Y, Wang J, Adler RF, Policelli FS, Habib S, Irwn D, Korme T, Okello L, 2009. Evaluation of the real-time TRMM-based multi-satellite precipitation analysis for an operational flood prediction system in Nzoia Basin, Lake Victoria, Africa. *Nat Hazards* 50: 109–123.
- Pan M, Li H, Wood E, 2010. Assessing the skill of satellite-based precipitation estimates in hydrologic applications. *Water Resources Research* 46.
- Petty GW, Krajewski WF, 1996. Satellite estimation of precipitation over land. *Hydrological Sciences Journal* 41: 433–451.
- Ramirez-beltran ND., Kuligowski RJ, Harmsen EW, Cruz-pol S, Cardona MJ, 2008. Rainfall Estimation from Convective Storms Using the HydroEstimator and NEXRAD, in: WSEAS TRANSACTION on SYSTEMS. pp. 1016–1027.
- Rudolf B, 2005. The Global Precipitation Climatology Centre (GPCC), in: Proc. Second Workshop of the Int. Precipitation Working Group. pp. 231–247.
- Sapiano MRP, Arkin PA, 2009. An Intercomparison and Validation of High-Resolution Satellite Precipitation Estimates with 3-Hourly Gauge Data. *J. Hydrometeor.* 10: 149–166.
- Scofield RA, Kuligowski RJ, 2003. Status and outlook of operational satellite precipitation algorithms for extreme-precipitation events. *Weather and Forecasting* 18: 1037–1051.
- Shrestha MS, Artan GA, Bajracharya SR, Sharma RR, 2008. Using satellite-based rainfall estimates for streamflow modelling: Bagmati Basin. *Journal of Flood Risk Management* 1: 89–99.
- Vicente GA, Scofield RA, Menzel WP, 1998. The Operational GOES Infrared Rainfall Estimation Technique. *Bull. Amer. Meteor. Soc.* 79: 1883–1898.
- Wu H, Adler RF, Tian Y, Huffman GJ, Li H, Wang J, 2014. Real-time global flood estimation using satellite-based precipitation and a coupled land surface and routing model. *Water Resources Research* 50: 2693–2717.
- Yücel I, 2015. Assessment of a flash flood event using different precipitation datasets. *Natural Hazards* 79: 1889–1911.
- Yücel I, Kuligowski RJ, Gochis DJ, 2011. Evaluating the hydro-estimator satellite rainfall algorithm over a mountainous region. *International journal of remote sensing* 32: 7315–7342.

Polipropilen Lif ile Rastgele Donatılan Bir CH Kil Zemininin Donma-Çözülme Çevrimlerinde Serbest Basınç Dayanımının Araştırılması

Yasin ÇALIK¹; Rahim Kağan AKBULUT^{2*}, Ahmet Şahin ZAİMOĞLU³, Temel YETİMOĞLU⁴

ÖZET: Katkı ve donatı malzemeleri, ince ve kaba daneli zeminlerin bazı mühendislik özelliklerini iyileştirmek amacı ile uygulamada sıkça kullanılmaktadır. Fakat sınırlı sayıdaki çalışmada ayrık polimer lifler ile donatılı ince daneli zeminler konu edilmiştir. Bu çalışmada, yüksek plastisiteli bir kil (CH) zemin içerisine rastgele dağıtılmış farklı uzunluktaki (3 mm, 6 mm ve 12 mm) polipropilen liflerin donma-çözülme davranışı üzerindeki etkilerini araştırmak için laboratuvarında bir seri serbest basınç ve donma-çözülme deneyleri yapılmıştır. Polipropilen lif oranı, donatılı zeminin toplam kuru ağırlığının %0.15, %0.20 ve %0.25'i olarak seçilmiştir. Bu oranlar her bir propilen lif uzunluğu için aynı seçilmiştir. Donma-çözülme çevrim sayısı 1, 3, 5 ve 10 olarak alınmıştır. Yapılan deneyler sonucunda polipropilen lif uzunluğu arttıkça her bir donma-çözülme çevriminde başlangıç elastisite modülünün azaldığı belirlenmiştir. Donatılı numuneler, daha duktıl bir davranış sergilemiştir. %0.15 ve %0.20 polipropilen lifle donatılan zemin numunelerinin 1, 3 ve 5 çevrim sayılarında donma-çözülme dayanımının azaldığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Donma-çözülme, Serbest basınç dayanımı, polipropilen lif, ince daneli zemin

Investigation of Unconfined Compressive Strength in a Freezing-Thawing Cycle of a CH Clay Soil Randomly Equipped with Polypropylene Fiber

ABSTRACT: Additives and reinforcing materials are frequently used in practice with the aim of improving some engineering properties of fine and coarse grained soils. However, separate polymer fibers and fine-grained soils have been mentioned in some limited number of studies. In this study, a series of unconfined compression and freeze-thaw tests were conducted in laboratory in order to investigate the effects of polypropylene fibers of different lengths (3 mm, 6 mm, and 12 mm) dispersed in high plasticity clay (CH) randomly on freeze-thaw behaviors. Fiber percentage for each length was chosen as 0.15%, 0.20%, and 0.25% of the total dry weight of the reinforced soil. Number of freeze-thaw cycles was taken as 1, 3, 5, and 10. As a result of the experiments, it was determined that, the initial modulus of elasticity of each freeze-thaw cycle decreases as the polypropylene fiber length increases. Reinforced samples behaved more ductile. As the number of cycles increased, freeze-thaw resistance in reinforced (0.15%-0.20%) samples decreased in general for 1-3-5 cycles.

Keywords: Freeze-thaw, unconfined compression strength, polypropylene fiber, fine-grained soil

¹Yasin CALIK (Orcid ID: 0000-0002-8728-0126), Çevre ve Şehircilik İl Müdürlüğü, Erzurum, Türkiye

²Rahim Kağan AKBULUT (Orcid ID: 0000-0002-6342-1019), Atatürk Üniversitesi, Erzurum MYO, İnşaat Bölümü, Erzurum, Türkiye

³Ahmet Şahin ZAİMOĞLU (Orcid ID: 0000-0001-5245-0212), Atatürk Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Bölümü, Erzurum, Türkiye

⁴Temel YETİMOĞLU (Orcid ID: 0000-0001-5603-2229), Atatürk Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Bölümü (Emekli), Erzurum, Türkiye

*Sorumlu yazar/Corresponding Author: Rahim Kağan AKBULUT, e-mail: rkakbulut@atauni.edu.tr

* Bu çalışma Yasin ÇALIK'ın Yüksek Lisans tezinin bir bölümüdür. Makalenin bir kısmı 4-5 Ekim 2012 tarihinde Isparta'da düzenlenen Zemin Mekaniği ve Temel Mühendisliği Ondördüncü Ulusal Kongresinde bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Dünyadaki soğuk bölgeler hava sıcaklığı, kar kalınlığı, göllerdeki buz tabakası veya donan zeminin derinliği ifadeleri ile tanımlanabilir. Soğuk bölgeler tipik olarak sadece mevsimsel don görülen, tamamı sürekli don halde olan ve belirli kesimleri don halde olan zeminler olarak alt kısımlara ayrılabilir (Andersland ve Ladanyi, 2004). Mevsimsel iklim değişikliklerinin yaşandığı bölgelerde sıcaklık değişimlerinin etkisi ile zeminler yılda birkaç kez donma-çözülme maruz kalmaktadır. Bu durum ince daneli zeminlerin bazı mühendislik özelliklerini (su içeriği, taşıma gücü, geçirimsizlik vb.) olumsuz etkilemektedir. Aynı zamanda, dondan etkilenen bölgelerde yapılan incelemeler, donan zeminde buz kristallerinin oluştuğunu, havaların ısınması sonucu ince daneli zeminlerin su muhtevasında önemli artışlar meydana geldiğini, buna bağlı olarak da mukavemetinde önemli azalmalar ortaya çıktığını göstermiştir (Cruzda ve Hohmann, 1997; Shita ve Baghdadi, 2001; Qi ve ark., 2008; Kamei ve ark., 2012; Baykal ve Saygılı, 2012). Donma-çözülme olayı, bölgelere göre değişen don derinliği mesafesinde yer alan zemin ortamlarına, kanalizasyon ve iletişim hatları, yol alt yapısı ve yer altı yapıları gibi hafif yapılara zarar vermektedir. Bu durum maddi açıdan önemli kayıplara neden olabilmektedir.

Mevsimsel olarak 0°C'nin altında kalan bölgelerdeki yapıların dizayn ve inşasında bu termal duruma maruz kalacak zeminlerin mekanik özelliklerinin bilinmesi gerekmektedir (Cruzda ve Hohmann, 1997). Bu nedenle son yıllarda zeminlerin donma-çözülme sonucu geoteknik özelliklerinde meydana gelen değişim ile ilgili çalışmalar literatürde yaygın olarak yer almaktadır (Yarbaşı ve ark., 2007; Zaimoğlu, 2010; Hazirbaba ve Güllü, 2010; Ghazavi ve Roustaie, 2010).

İnce daneli zeminler kaba daneli zeminlere nazaran donma-çözülme sürecinden daha fazla etkilenmektedir. İnce daneli zeminlerin bazı mühendislik özelliklerinde donma-çözülmeden dolayı meydana gelen olumsuz etkilerin azaltılması

ve iyileştirilmesi amacı ile zemin içerisine katkı malzemesi (Liu ve ark., 2010; Hazirbaba ve Güllü, 2010; Kamei ve ark., 2012; Baykal ve Saygılı, 2012) ve donatı (Yetimoğlu ve Salbas, 2003; Hazirbaba ve Güllü, 2010; Hejazi ve ark., 2012; Ramaji, 2012) ilave edilmektedir.

Donatılı zeminlerde öncelikli amaç zeminin taşıma kapasitesini artırmak, muhtemel oturma ve yanal deformasyonları azaltmaktır. Literatürdeki çalışmaların çoğunda farklı fiziksel özelliklere sahip lifler ile rastgele donatılı kohezyonlu zeminlerin kompaksiyon ve mukavemet karakteristikleri incelemiştir (Al Wahab ve El-Kedrah, 1995; Ang ve Erik, 2003; Kumar ve ark., 2006; Özkul ve Baykal, 2007; Rafalko ve ark., 2007).

Çalışmada kil zemini içerisine düzensiz bir şekilde dağıtılan polipropilen lifler ilave edilerek elde edilen rastgele donatılı zemin numuneleri üzerinde donma – çözülme davranışı araştırılmıştır. Bu amaçla laboratuvarında serbest basınç ve donma-çözülme deneyleri yapılmıştır. Literatürde polipropilen liflerin zemin içerisine bu şekilde ilave edilmesi çok az sayıda çalışmada konu edinmiştir. Deneylerde polipropilen lif uzunlukları ile donma-çözülme çevrimi parametre olarak seçilmiştir. Donatılı deneylerden elde edilen sonuçlar donatısız deneylerden elde edilen sonuçları ile karşılaştırılarak yorumlanmaya çalışılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan ince daneli zemin Erzurum ili Oltu ilçesinden temin edilmiştir. Erzurum Meteoroloji Bölge Müdürlüğü İstasyonlarından 2008-2019 yılları arasında bölgeye ait şu ana kadar zeminin 5-10-20-50 ve 100 cm derinliklerindeki kayıt edilen ortalama aylık zemin sıcaklıkları Çizelge 1'de verilmiştir. Donatı malzemesi olarak "M" tipi polipropilen lif kullanılmıştır (3 mm, 6 mm ve 12 mm) (Şekil 1). Zeminlere ait bazı özellikler Çizelge 2'de, Polipropilen liflere ait üretici firma tarafından temin edilen fiziksel ve mukavemet özellikler Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 1. Derinliğe bağlı olarak aylık ortalama zemin sıcaklık verileri (Meteoroloji Genel Müdürlüğü 12. Bölge Erzurum'dan elde edilmiştir.)

YIL		2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
DERİNLİK	AYLAR	AYLIK ORTALAMA SICAKLIKLAR (°C)											
5 cm Derinlik	1	-10.6	-8.1	-1	-5.2	-5.4	-5.9	-4.7	-1.4	-3.3	-5.5	-1.8	-1.2
	2	-8.6	-1.7	0	-3.9	-6.5	-	-2.5	-1.5	-1.2	-4.6	-0.5	-
	3	1.8	1.2	3	1.5	-2.7	-	5.3	2.6	3.9	3.0	5.1	-
	4	8.6	6.3	6.4	7.3	9.6	-	9.9	8.2	10.8	8.6	10.4	-
	5	12.6	14.1	14	13.9	14.8	-	14.9	14.7	14.7	14.0	13.6	-
	6	19.7	17.6	20	20	21	-	22.6	23.3	19.3	22.2	18.2	-
	7	25.2	21	23.8	24.1	23	0	28.3	29.4	24.3	28.2	24.2	-
	8	23.4	20.9	23.5	23.8	23.2	0	28.3	27.2	24	25.9	21.2	-
	9	17.9	15.2	19.9	17.7	18.4	0	20.7	23.6	15	21.2	17.6	-
	10	10.2	10.3	10.8	8.6	10.8	7.9	10.7	11.1	9.9	9.4	11.6	-
	11	2.3	2.1	2	-1.1	4.7	5.0	2.4	3.2	1.5	3.1	3.6	-
	12	-5.8	-0.8	-1.8	-5.8	-1.5	-5.3	0.8	-4.3	-5.2	-1.2	1	-
10 cm Derinlik	1	-10.5	-7.7	-0.8	-4.5	-5.6	-6	-4	-0.7	-2.5	-4.4	-3	-1.9
	2	-8.6	-1.6	-0.2	-3.3	-6.6	-	-2.4	-1	-1.1	-3.8	-2.1	-
	3	1.2	0.7	3.3	1.1	-2.9	-	5.3	2.4	4.2	2.8	3.9	-
	4	8.1	6.1	6.7	6.7	8.8	-	9.7	8.1	10.8	7.9	9.3	-
	5	12.1	13.8	13.5	13.2	14.5	-	14.8	14.3	14.7	13.2	12.7	-
	6	19	17.5	19.7	19.1	20.2	-	22.2	22.8	19.1	21.1	17.7	-
	7	24.3	21	23.1	23.4	21.5	0	27.8	28.4	24.6	27.2	24	-
	8	23.2	20.5	23.3	23.1	22	0	28.1	26.8	24.1	25.6	21.4	-
	9	18	15.2	19.6	17.4	17.9	0	21.2	23.7	15.7	20.9	17.6	-
	10	10.3	10.5	11.4	9.4	11	8.4	11.3	12.1	10.5	9.2	11.3	-
	11	2.5	2.8	2	-0.2	4.9	5.7	3.2	4.3	2.5	2.5	2.8	-
	12	-5.4	-0.6	-0.6	-5.3	-1.1	-3.8	1.4	-2.9	-4	-2.2	0	-
20 cm Derinlik	1	-10	-6.9	-0.3	-3.5	-4.1	-5	-3.5	0	-1.8	-3.4	-2.3	-1.1
	2	-8.2	-1.8	-0.3	-3.1	-2.8	-	-2.5	-0.8	-1.2	-3.2	-2.2	-
	3	0.1	0.1	3.1	0.5	-	-	4.8	1.7	4	1.9	3.4	-
	4	7.1	5.9	6.9	5.6	7.8	-	8.8	7.4	10.3	7.1	8.6	-
	5	11.2	12.4	13.2	10.5	13.8	-	14	13.2	14.1	12.3	11.9	-
	6	17.6	16.4	18.7	16.6	19.2	-	20.8	21.3	18.2	19.5	16.7	-
	7	22.7	20.4	22.5	21.9	20.6	0	26.4	26.9	24.1	25.4	22.9	-
	8	22.1	20	22.7	22.8	21.6	0	27.2	26	23.7	24.5	21.1	-
	9	17.5	15.6	19.9	17.6	17.8	0	21.4	23.4	16.3	20.6	17.7	-
	10	10.4	10.4	11.5	9.7	11.4	8.8	11.7	13	11	9.9	11.7	-
	11	3.1	3.4	2.7	0.8	5.5	6.3	4.1	5.3	3.5	3.2	3.4	-
	12	-4.3	-0.1	0.1	-4.6	-0.5	-2.0	1.8	-1.4	-2.5	-1.6	0.5	-

Çizelge 1. Derinliğe bağlı olarak aylık ortalama zemin sıcaklık verileri (Meteoroloji Genel Müdürlüğü 12. Bölge Erzurum'dan elde edilmiştir.) (devam)

50 cm Derinlik	1	-5.2	-3.5	0.7	-1.2	-1.9	-1	-0.9	2.2	0.9	-0.1	0.1	1.4
	2	-5.2	-1	0.1	-2	-3.1	-	-0.6	1	0.7	-0.6	-0.3	-
	3	-0.7	0.8	3	0.5	-2.1	-	4.5	2.2	4.7	1.7	3.3	-
	4	4.6	5.9	6	5.6	5.5	-	7.9	7	10	6.3	7.9	-
	5	10.2	11	10.9	10.3	12.4	-	13	11.7	13.7	11	11.2	-
	6	15.5	15	16.3	16.2	17.1	-	18.3	18.5	16.8	16.8	15.2	-
	7	20.2	19.1	20.6	20.7	18.9	0	23.9	23.9	22.8	22.3	20.8	-
	8	21.2	19.2	20.7	21.6	20.7	0	25.7	25.1	23.3	23	20.6	-
	9	18.2	16.6	19.2	18.2	18.1	0	22.3	23.7	18.5	20.6	18.4	-
	10	12.2	11.8	11.5	12.1	13.4	10.5	13.9	16.2	13	12.7	13.7	-
	11	6	6.1	4.9	4.7	7.9	8.6	7.2	8.9	6.9	6.1	6.2	-
	12	0.4	1.5	2.3	-1.2	2.6	2.3	4.1	3	1.5	1.2	3	-
100 cm Derinlik	1	1.1	0.8	4	3.5	1.8	2.9	2.9	4.8	4.9	3.7	2.9	4.3
	2	-0.9	1	3	1.1	0.5	-	2.1	3.5	4.1	2.6	1.9	-
	3	-0.4	2.1	4.3	1.5	0.2	-	4.3	3.3	6	2.8	3.2	-
	4	1.8	5.1	6.1	5	4	-	7	6.3	9.6	5.2	6.7	-
	5	8	8.9	10	8.6	9.9	-	11.1	9.6	12.5	8.8	9.7	-
	6	12.2	12.4	14.3	13.2	13.9	-	14.7	14.7	14.9	13.2	12.7	-
	7	16.2	15.6	17.5	17.3	16.1	0	19.8	19.4	19.5	17.9	17.2	-
	8	18.5	17.1	18.9	18.8	18.5	0	22.5	22.7	21.1	20.1	18.5	-
	9	17.3	16.1	18.8	17.8	17.7	0	21.6	23.4	19.5	19.3	17.9	-
	10	13.8	13.3	14.9	14.1	14.4	12.6	16	19.2	15.1	14.9	14.9	-
	11	9.4	9.3	10.1	8.9	10.5	11.2	10.6	12.9	10.5	9.6	9.3	-
	12	5.2	5.3	6.7	4.2	5.9	6.7	7	8	5.9	5	5.9	-



Şekil 1. Polipropilen lif

Çizelge 2. Deneylerde kullanılan CH kilinin bazı özellikleri (Çalik, 2017)

Özellikler	Değerler
Özgül Ağırlık, G_s	2.67
Likit Limit ¹ , w_L (%)	83
Plastik Limit ² , w_P (%)	34
Plastisite İndisi, I_p (%)	49
Optimum Su Muhtevası ³ , w_{opt} (%)	33
Mak. Kuru Birim Hacim Ağırlığı ³ , γ_{kmax} (kN/m ³)	13
Serbest Basınç Mukavemeti ⁴ , (kPa)	136
Zemin sınıfı (USCS ⁵)	CH

¹ w_L , BS 1377 (Part2-1990)'e göre bulunmuştur, ² w_P , ASTM D 4318-00 (2000)'e göre bulunmuştur, ³Standart Proktor Deneyinden elde edilmiştir (ASTM D 698-78), ⁴Serbest Basınç Deneyi, ASTM D 2166'e göre bulunmuştur, ⁵USCS, ASTM D 2487-17'e göre bulunmuştur.

Çizelge 3. Polipropilen lif'in bazı özellikleri (Üreticiden alınmıştır)

Özellik	Değer
İçerik	% 100 saf Polipropilen
Görünüş	İnce Saç Telli
Uzunluk, (mm)	3-6-12
Çekme Dayanımı, (N/mm ²)	500-700
Uzama, (%)	25
Renk	Şeffaf
Yumuşama	150 °C
Ergime	160 °C

Deneylerde kullanılan ince daneli zemin 24 saat süre ile 105 ± 5 °C' de etüvde bekletilmiştir. Polipropilen lif uzunlukları 3-6-12 mm olarak seçilmiş ve zemin içerisine donatılı zeminin toplam kuru ağırlığının %0.15, 0.20 ve 0.25 oranlarında ilave edilmiştir. Bu oranlar polipropilen liflerin seçilen tüm uzunluklar aynı alınmıştır. Belirlenen orandaki polipropilen lif kuru haldeki zemin ile birlikte karıştırılmıştır. Liflerin topaklanmasını önlemek ve kil içerisinde homojen dağılımını sağlamak için azami özen gösterilmiştir. Kil zeminin optimum su muhtevasını ve maksimum kuru birim hacim ağırlığını belirlemek amacıyla ASTM D 698-78'e uygun olarak kompaksiyon deneyi yapılmıştır.

Donma-çözülme deneyleri 110 cm x 55 cm x 55 cm boyutlarında minimum sıcaklığı -25°C maksimum sıcaklığı +60°C olan programlanabilen donma kabininde yürütülmüştür (Şekil 2). Bu deneyler hem donatsız hem de donatılı kil zemin numuneleri

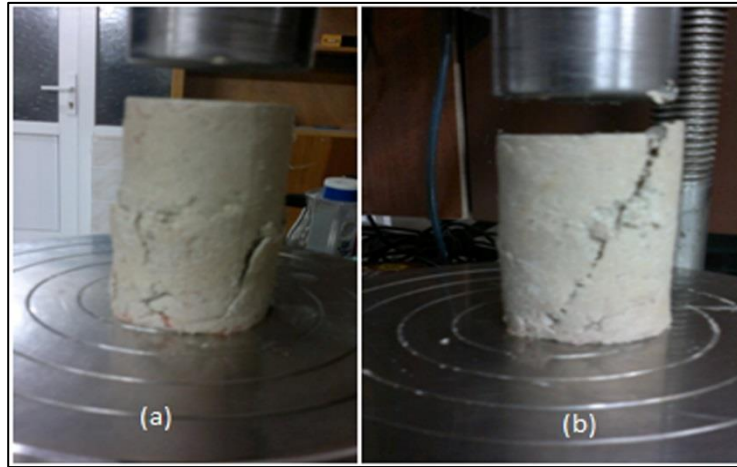
üzerinde yapılmıştır. Optimum su muhtevası ve maksimum kuru birim hacim ağırlığında hazırlanan numuneler su muhtevalarında değişiklik olmaması için alüminyum folyo ile sarılmıştır (Kvárnó ve Öygarden, 2006) (Şekil 2). Numunelerin alüminyum folyoya yapışmasını önlemek amacı ile folyo üzerine ince bir film tabakası olacak şekilde vazelin sürülmüştür (Qi ve ark., 2008; Güllü ve Hazırbaba, 2010). Hazırlanan numuneler 6 saat -20°C ve 6 saat 25°C'de alacak şekilde programlanabilir donma kabinine yerleştirilmiştir. Bu işlem 1 çevrim olarak isimlendirilmiştir (Ghazavi ve Roustaie, 2010). Donma-çözülme çevrim sayısı 1, 3, 5 ve 10 olarak belirlenmiştir. Polipropilen lif yüzdeleri ve uzunlukları ile donma-çözülme çevrim sayıları literatüre uygun olarak seçilmiştir (Ghazavi ve Roustaie, 2010; Liu ve ark., 2010; Hazırbaba ve ark., 2011). Deney süresince numuneler donma kabininden çıkarılmamıştır.



Şekil 2. Tam otomatik donma-çözülme kabini içi

Serbest basınç deneyleri ASTM D 2166'ya uygun olarak yürütülmüştür. Donatılı ve donatısız kil zemin numuneleri yenilme sonrası gerilme-deformasyon davranışını da izleyebilmek için yükleme hızı 0.8 mm/dk. olan deformasyon kontrollü serbest basınç deney aletinde yüklenmiştir. Tüm deneylerde sonuçlar

üç numunenin ortalaması olarak alınmıştır. Deneylerde 38 mm çapında ve 76 mm yüksekliğinde silindirik numuneler kullanılmıştır. Donatılı ve donatısız numunelere ait serbest basınç deneyi sonrası tipik bir kırılma yüzeyi görüntüsü Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Tipik kırılma yüzeyleri (a) Donatılı (b) Donatısız

Donma-çözülme dayanıklılıkları, numunelerin donma-çözülme dane kayıpları yüzdesi olarak alınmıştır. Numunelerin donma-çözülme sonrası dane kaybı (DÇD) yüzde cinsinden aşağıdaki gibi hesaplanmıştır (Zaimoğlu ve ark., 2012):

$$DÇD (\%) = (BA - DÇSA) / BA * 100 \quad (1)$$

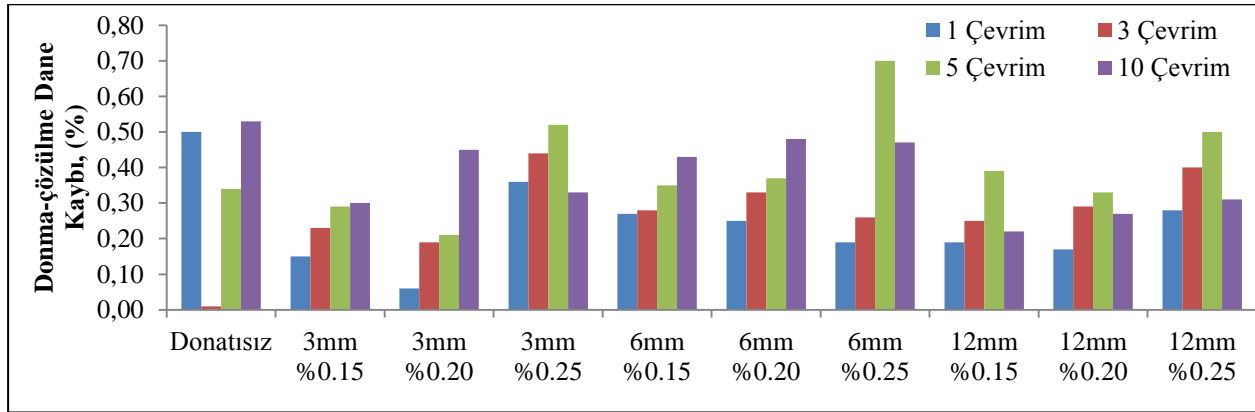
Burada;

BA: Numunelerin başlangıç ağırlıkları,

DÇSA: Numunelerin donma-çözülme sonrası ağırlıkları olarak alınmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Farklı uzunluk (3 mm, 6 mm ve 12 mm) ve yüzdelerde (%0.15, %0.20 ve %0.25) polipropilen lif ile donatılı ve donatısız kil zemine ait 0, cümleler ile 1, 3, 5 ve 10 donma-çözülme çevrim sonrası elde edilen verilerden yararlanılarak çizilen donma-çözülme dane kaybı grafiği Şekil 4'de gösterilmiştir. %0.15, %0.20 ve %0.25 polipropilen lif ile donatılı numunelere ait gerilme-deformasyon (σ - ϵ) eğrileri ise Şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 4. Donma-çözülme dayanıklılığı değişimi (Donatılı ve donatısız numuneler)

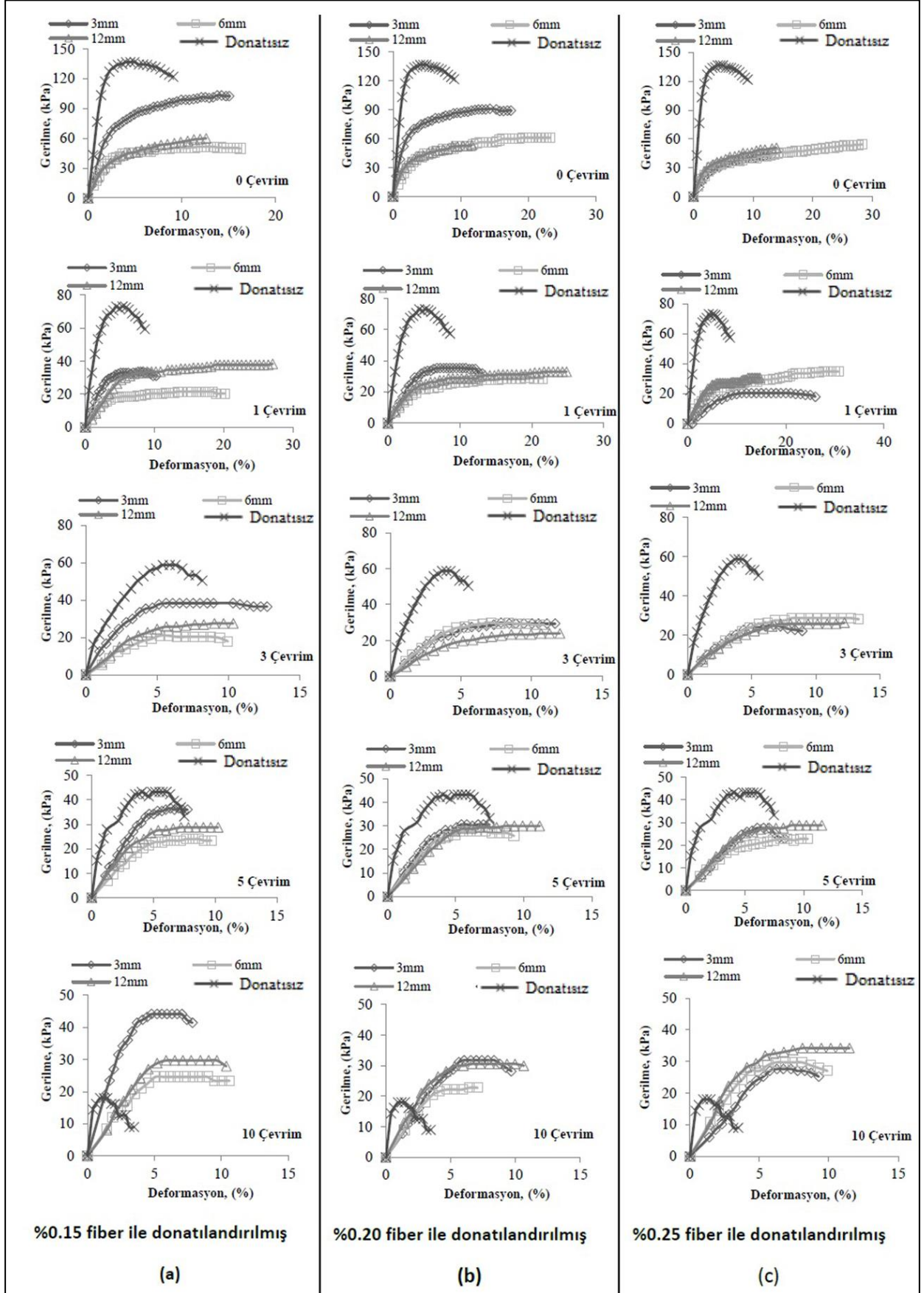
Şekil 4 incelendiğinde çevrim sayısının artmasıyla donatılı (düşük yüzde %0.15-%0.20) numunelerde düşük çevrimlerde (1-3-5) donma-çözülme dayanımının genelde azaldığı görülmektedir. Buna kil zeminin optimum su muhtevasının fazla olmasının yol açtığı düşünülmektedir. Zira literatürde ince daneli zeminlerin dokusu üzerinde su muhtevasının etkisi olduğu belirtilmektedir (Önalp, 2002).

Şekil 4'de %0.25 polipropilen lif ile donatılı numunelerde ise yüksek çevrimlerde (10) donma-çözülme dayanımında artış gözlenmiştir. Buna, numune içerisinde ağırlıkça daha fazla polipropilen lifin dane ile yer değişmesinin sebep olabileceği düşünülmektedir. Uzun polipropilen lifler (12 mm) ile donatılı zemin numunelerinde yüksek çevrimlerde donma-çözülme dayanımı artırıcı yönde etki ettiği görülmektedir. Genel olarak donatılı numunelerin artan çevrim sayısı ile donma-çözülme dayanımlarının azaldığı söylenebilir.

Şekil 5 incelendiğinde polipropilen lif uzunluğu arttıkça her bir donma-çözülme çevriminde başlangıç elastisite modülünde genellikle bir azalma olduğu görülmektedir. Donma-çözülme çevrim sayısının artması ile düşük çevrimlerde (1-3-5) donatılı ve donatısız numunelerin pik gerilme değerlerinde genellikle azalma gözlenmektedir. Bu azalmaya polipropilen fiberlerin zemin içerisinde kılcal boşluklar oluşturmasının sebep olabileceği

düşünülmektedir. Öte yandan polipropilen liflerle donatılı numunelerde su drene olurken polipropilen fiberlerin bulunduğu yerlerde su muhtevasının artışına neden olmaktadır. Dolayısıyla, polipropilen lif ile zemin arasındaki sürtünme azalmakta ve bunun da kılcal bir çatlak gibi zeminin basınç mukavemetinin düşmesine neden olabileceği sanılmaktadır (Maher ve Ho, 1994; Freilich ve ark., 2010). Ayrıca boşluk suyu donarak zeminin boşluklarında buz merceklere oluşurmaktadır. Buz mercekleri hacimce genişerek zemin danelerini iten ve zemin daneleri arasındaki boşluğu artıran yaylar gibi hareket etmektedirler (Tunç, 2002). Bu olay her bir çevrimde tekrarlanarak polipropilen fiberin bulunduğu yerlerde basınç mukavemetinin düşmesine neden olabileceği düşünülmektedir. Yine, zaman ve drenajın donatılı zeminlerde basınç mukavemeti üzerinde etkili olduğu (Freilich ve ark., 2010) ve fiber ile kil arasındaki etkileşimin, fiber ile kum arasındaki etkileşime nazaran daha kompleks olduğu (Li, 2005) belirtilmiştir. Yüksek çevrimlerde (10 çevrim) ise donatılı numunelerin pik gerilmeleri donatısız numunelere göre daha büyük değerler aldığı görülmektedir. Literatürdeki bulgulara paralel olarak polipropilen lif ile rastgele donatılı numunelerin, genelde donatısız numunelere göre daha duktıl bir davranış sergilediği görülmüştür (Yetimoğlu ve Salbaş, 2003; Freilich ve ark., 2010).

Polipropilen Lif ile Rastgele Donatılan Bir CH Kil Zemininin Donma-Çözülme Çevrimlerinde Serbest Basınç Dayanımının Araştırılması



Şekil 5. Gerilme-deformasyon eğrileri (a) %0.15 donatı, (b) %0.20 donatı, (c) %0.25 donatı

SONUÇ

Bu çalışmada, farklı uzunluk ve oranlardaki polipropilen liflerle rastgele donatılı ince daneli zeminlerin donma-çözülme davranışını incelemek üzere laboratuvarında bir seri serbest basınç ve donma-çözülme deneyleri yapılmıştır. Deneylerden elde edilen genel sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- %0.15 ve %0.20 oranında polipropilen lifle donatılı numunelerde 1-3-5 çevrim sayılarında donma-çözülme dayanımının genelde azaldığı görülmüştür.
- %0.25 polipropilen lif ilave edilen numunelerde 10 çevrimde donma-çözülme dayanımında artış gözlenmiştir.
- Polipropilen lif boyunun uzun olması (12 mm) yüksek çevrimlerde donma-çözülme dayanımı üzerinde olumlu etki oluşturmuştur.
- Genel olarak kil zemin için donatılı numuneler donatısız numunelere göre çevrim sayısının artması ile donma-çözülme dayanımının azaldığı izlenmiştir.
- Serbest basınç deneylerinden polipropilen lif uzunluğu arttıkça her bir donma-çözülme çevriminde başlangıç elastisite modülünde genellikle bir azalma olduğu görülmüştür.
- Genel olarak polipropilen lif ile rastgele donatılı numuneler, donatısız numunelere göre daha düktil bir davranış sergilemektedir.

Konuyla ilgili daha gerçekçi yargılara ulaşabilmek için, farklı polipropilen lif uzunlukları, zemin türü, donma çözülme çevrim sayısı, drenaj şartlar, zaman ve polipropilen oranlarında deneylerin devam ettirilmesi ileriki çalışmalar için önerilir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma çalışmasına, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi kapsamında destek sağlamıştır. Yazarlar bu

destekten dolayı Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkürü bir borç bilirler.

KAYNAKLAR

- Al Wahab RM, El-Kedrah MA, 1995. Using Polipropilen Fibers to Reduce Tension Cracks and Shrink/Swell in a Compacted Clay. Geotechnical Special Publication, 46(1): 791-805.
- Andersland OB, Ladanyi B, 2004. Frozen Ground Engineering, 2nd edn. USA: John Wiley & Sons.
- Ang EC, Erik LJ, 2003. Specimen Size Effects for Polipropilen Fiber-Reinforced Silty Clay in Unconfined Compression. Geotechnical Testing Journal, 26(2): 191-200.
- ASTM D 2166. Standard Test Method For Unconfined Compressive Strength of Cohesive Soil. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, Pennsylvania, USA.
- ASTM D 2487-17. Standard Practice for Classification of Soils for Engineering Purposes (Unified Soil Classification System), West Conshohocken, Pennsylvania, USA.
- ASTM D 698-78. Fundamental Principles of Soil Compaction. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, Pennsylvania, USA.
- ASTM D 4318-00, 2000. Standard Test Method for Liquid Limit, Plastic Limit, and Plasticity Index of Soils. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA.
- Baykal G, Saygılı A, 2012. A New Technique to Improve Freeze-Thaw Durability of Fly Ash. Fuel 102: 221-226.

- BS 1377 Part 2 1990. Methods of Test For Soils for Civil Engineering Purposes. Classification Tests. British Standards Institution.
- Cruzda KA, Hohmann M, 1997. Freezing effect on Strength of Clayey Soils. *Applied Clay Science* 12: 165-187.
- Çalik Y, 2017. Ayrık Sentetik Liflerle Rastgele Donatılan İnce Daneli Zeminlerde Donatı Uzunluğunun Donma-Çözülme Davranışı Üzerindeki Etkisinin Araştırılması, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Freilich BJ, Li C, Zornberg JG, 2010. Effective Shear Strength of Fiber-Reinforced Clays. 9th International Conference on Geosynthetics. Brazil.
- Ghazavi M, Roustaie M, 2010. The Influence of Freeze-Thaw Cycles on the Unconfined Compressive Strength of Fiber-Reinforced Clay. *Cold Regions Science and Technology*, 61: 125-131.
- Güllü H, Hazirbaba K, 2010. Unconfined Compressive Strength and Post-Freeze-Thaw Behavior of Fine-Grained Soils Treated with Geofiber and Synthetic Fluid. *Cold Regions Science and Technology*, 62: 142-150.
- Hazirbaba K, Güllü H, 2010. California Bearing Ratio Improvement and Freeze-Thaw Performance of Fine-Grained Soils Treated with Geofiber and Synthetic Fluid. *Cold Regions Science and Technology*, 63: 50-60.
- Hazirbaba K, Zhang Y, Hulseley JL, 2011. Evaluation of Temperature and Freeze-Thaw Effects on Excess Pore Pressure Generation of Fine-Grained Soils. *Soil Dynamics and Earthquake Engineering*, 31: 372-384.
- Hejazi SM, Sheikhzadeh M, Abtahi SM, Zadhoush A, 2012. A Simple Review of Soil Reinforcement by Using Natural and Synthetic Fibers. *Construction and Building Materials*, 30: 100-116.
- Kamei T, Ahmed A, Shibi T, 2012. Effect of Freeze-Thaw Cycles on Durability and Strength of Very Soft Clay Soil Stabilised with Recycled Bassanite. *Cold Regions Science and Technology*, 82: 124-129.
- Kumar A, Walia BS, Mohan J, 2006. Compressive Strength of Polipropilen Fiber Reinforced Highly Compressible Clay. *Construction and Building Materials*, 20(10): 1063-1068.
- Kvárnó HS, Öygarden L, 2006. The Influence of Freeze-Thaw Cycles and Soil Moisture on Aggregate Stability of Three Soils in Norway. *Catena*, 67: 175-182.
- Li C, 2005. Mechanical Response of Fiber-Reinforced Soil, Thesis of PhD, The University of Texas, Austin.
- Liu J, Wang T, Tian Y, 2010. Experimental Study of The Dynamic Properties of Cement- and Lime- Modified Clay Soils Subjected to Freeze-Thaw Cycles. *Cold Regions Science and Technology*, 61: 29-33.
- Maher MH, Ho YC, 1994. Mechanical Properties of Kaolinite/Fiber Soil Composit. *Journal of Geotechnical Engineering*, 120: 1381-1393.
- Meteoroloji Genel Müdürlüğü 12. Bölge Erzurum.
- Qi J, Wei M, Song C, 2008. Influence of Freeze-Thaw on Engineering Properties of Silty Soil. *Cold Regions Science and Technology*, 53: 397-404.
- Önalp A, 2002. Geoteknik Bilgisi I Çözümlü Problemlerle Zeminler ve Mekaniği, Birsen Yayınevi, İstanbul, Türkiye.

- Özkul ZH, Baykal G, 2007. Shear Behavior of Compacted Rubber Polipropilen Fiber-Clay Composite in Drained and Undrained Loading. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 133(7): 767-781.
- Rafalko SD, Brandon TL, Filz GM, Mitchell JK, 2007. Polipropilen Fiber Reinforcement for Rapid Stabilization of Soft Clay Soils. *Transportation Research Record*, 2026: 21-29.
- Ramaji AE, 2012. A Review on the Soil Stabilization Using Low-Cost Methods. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(4): 2193-2196.
- Shita SA, Baghdadi Z, 2001. Simplified Method to Assess Freeze-Thaw Durability of Soil Cement. *Journal of Materials in Civil Engineering*, July/August 2001, 243-247.
- Tunç A, 2002. *Yol Mühendisliğinde Geoteknik ve Uygulamaları*, Atlas Yayınevi, İstanbul, Türkiye.
- Yarbaşı N, Kalkan E, Akbulut S, 2007. Modification of the Geotechnical Properties, as Influenced by Freeze-Thaw, of Granular Soils with Waste Additives. *Cold Regions Science and Technology*, 48:44-54.
- Yetimoğlu T, Salbas O, 2003. A Study on Shear Strength of Sands Reinforced with Randomly Distributed Discrete Polipropilen Fibers. *Geotextiles and Geomembranes*, 21:103-110.
- Zaimoğlu AS, 2010. Freezing-Thawing Behavior of Fine-Grained Soils Reinforced with Polypropylene Fibers. *Cold Regions Science and Technology*, 60: 63-65.
- Zaimoğlu AS, Hattatoğlu F, Akbulut RK, Yetimoğlu T. 2012 Freeze-Thaw Behavior of Fine Grained Soils Subjected to Surcharge Loads, 3rd International Conference on New Developments in Soil Mechanics and Geotechnical Engineering, 28-30 June 2012, Near East University, Nicosia, North Cyprus.

Rutin yüklü PLGA Nanopartiküller; Farklı Yöntemler Kullanılarak Sentezi ve Karakterizasyonu

Tuğçe KİRİK¹, Kadriye KIZILBEY^{1*}

ÖZET: Bazı bitkiler ile özellikle turuncgiller gibi meyvelerde ve kabuklarında bulunan bir flavonol glikozit olan Rutin molekülünün zayıf çözünürlüğü nedeniyle canlı sistemde biyoyararlanımı oldukça düşüktür. Bu çalışmada, Rutin molekülünün biyoyararlanımı arttırmak için tekli emülsiyon solvent buharlaştırma (o/w), nano çöktürme ve tuz etkisi ile çöktürme gibi farklı yöntemler kullanılarak Rutin yüklü PLGA nanopartikülleri sentezlenmiştir. Bu nanopartiküller % enkapsülasyon etkinliği, ortalama parçacık boyutu, çoklu dağılım indisi, Zeta potansiyel, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskopu analizleri ile karakterize edilmiştir. NP3 ve NP5'in in vitro ortamda Rutin salımı incelenmiştir. NP5'den % Rutin salımı 48 saatte %41 oranına ulaşmıştır. Yapılan bu çalışmada sentezlenen Rutin-yüklü nanopartiküllerin, ileride nanotıp alanında gelişmiş ve çok yönlü çalışmalar için uygun bir aday olması hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Rutin, PLGA, Emülsiyon, Nanoçöktürme, Biyoyararlanım

Rutin Loaded PLGA Nanoparticles; Synthesis by using Different Methods and Characterization

ABSTRACT: Due to the poor solubility of the Rutin molecule, which is a flavonol glycoside found in some plants and especially in citrus fruits and shells, its bioavailability is quite low. In this study, Rutin-loaded-PLGA nanoparticles were synthesized by using different methods such as single emulsion solvent evaporation, nanoprecipitation and salting out, in order to increase the bioavailability of Rutin. These nanoparticles were characterized by their encapsulation efficiency %, average particle size, polydispersity index, Zeta potential, Fourier transform infrared spectroscopy and scanning electron microscopy analysis. In vitro Rutin release studies of NP3 and NP5 were investigated. Rutin release from NP5 reached 41% in 48 hours. It is aimed that the Rutin-loaded nanoparticles synthesized in this work will be suitable candidates for future multidisciplinary studies developed in nanomedicine.

Keywords: Rutin, PLGA, Emulsion, Nanoprecipitation, Bioavailability

¹ Tuğçe KİRİK (Orcid ID: 0000-0001-7995-5093), Kadriye KIZILBEY (Orcid ID: 0000-0002-0297-0057), İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

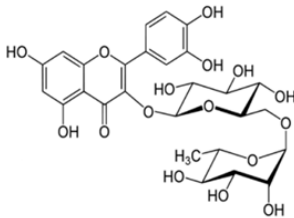
*Sorumlu Yazar: Kadriye KIZILBEY, e-mail: kadriyekizilbey@gmail.com

* Bu çalışma TUĞÇE KİRİK'in Yüksek Lisans Tezinin bir bölümüdür.

GİRİŞ

Flavonoidler, kimyasal yapıya göre flavonoller, flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, kateşinler, antosiyanidinler ve kalkonlar olarak sınıflandırılmaktadır (Manach ve ark., 1997). Rutin molekülü (3, 3', 4', 5, 7-pentahidroksiflavon-3-ramnoglukosid) (Şekil 1), bitkilerde, meyve ve meyve kabuklarında yaygın olarak bulunan bir flavonol glikozittir (Hooresfand ve ark., 2015). Rutin bakımından zengin bitkiler yıllardır içecek ve gıda malzemesi olarak, günümüzde ise; rutin birçok ilaç preparatında kullanılmaktadır (Chua 2013). Molekülün anti-allerjik (de Oliveira ve ark., 2006), anti-oksidan (Yang ve ark., 2008), anti-inflamatuar, anti-tümör, anti-bakteriyel, anti-viral (Calabro ve ark., 2005), anti-diyabetik anti-kanser (Webster ve ark., 1996), kardiyovasküler ve nöroprotektif etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Al-Dhabi ve ark., 2015). Yapılan klinik çalışmalarda, rutin molekülünün iyi tolere edildiği ve toksik açıdan güvenilir olduğu gösterilmiştir (Stuard ve ark., 2008).

Pasif difüzyon yoluyla absorbe edilmelerini zorlaştıran büyük molekül ağırlıkları nedeniyle flavonoidler canlı sistemde az absorbe edilmektedir. Bu nedenle biyoyararlanımları düşüktür. Zayıf absorpsiyonun bir diğer sebebi de, bu moleküllerin fenol parçasının bakteriyel olarak bozulması ve gastrointestinal sistemdeki emilimlerini engelleyen diğer maddelerle kompleks oluşmasıdır (Cherbi ve ark., 2016).



Şekil 1. Rutin molekülünün kimyasal yapısı

Bileşenlerin düşük biyoyararlanımını gidermek için polimer ve ya lipid tabanlı sistemler olarak genellikle iki gruba ayrılabilen

nano boyutlu (10-1000 nm boyut aralığında) ilaç taşıyıcılarının geliştirilmesi gelecek vaat eden bir yaklaşımdır. Nano boyutlu ilaç taşıyıcı sistemler yüklü moleküllerin emilim profilini önemli ölçüde etkilemektedir. Çünkü nanoparçacıkların partikül boyutu, şekli ve yüzey özellikleri etken maddelerin gastrointestinal mukozadaki alımında çok önemli bir rol oynamaktadır (Bilia ve ark., 2014). Polimerik partiküllerin hazırlanmasında doğal ya da sentetik polimerler kullanılmaktadır. Albumin, aljinat, jelatin, kitozan sıklıkla kullanılan doğal polimerlerdir. Sentetik polimerler ise poliakrilatlar, polikaprolaktonlar, polilaktitler ve kopolimerleri, poligliseroller olarak sınıflandırılabilir. Polimerik nanopartiküller; yüksek etkin madde yükleme kapasitesine sahip olma, matris içine hapsedilen etkin maddeyi bozunmadan koruma, yüzey özelliklerinin modifikasyonu ile nanopartiküllerin ve etkin maddenin hedef bölgeye ulaşabilirliğinin artırma, biyolojik doku ve selüler membranlardan geçiş üstünlüğü, dar kapilerlerden geçebilme ve tümöral hücre içine penetrasyon, küçük hacmi sayesinde fagositlerden kaçabilme özelliği ile dolaşımda daha uzun süre kalabilme ve ilaç molekülünün kontrollü salımını sağlamaları gibi üstün özelliklere sahiptir (Derman ve ark., 2013).

Etkin madde nanoparçacıklar içine gömülmüş, yüzeye adsorbe edilmiş veya bağlanmış olabilir. Fonksiyonel etken maddeler taşıyıcı sistemlerden çözülme; yüzeye bağlı veya adsorbe edilmiş işlevsel maddenin desorpsiyonu; matriste difüzyon ve matris erozyonu ya da bu süreçlerin kombinasyonu şeklinde salınmaktadırlar (Soppimath ve ark., 2001). Flavonoid yüklü çeşitli polimerik nanotaşıyıcı sistemlerden literatürde bahsedilmektedir. Bu amaçla, kontrollü salım sistemlerinde toksik olmayan polimerler tercih edilmektedir (Heim ve ark., 2002). Sahip oldukları avantajlarından dolayı nanopartikül (NP) üretiminde biyobozunur alifatik poliesterler olan Polilaktik asit (PLA), Poligliserollerik asit (PGA) ve bunların

kopolimeri olan Poli(d,l-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) (Kumar ve ark., 2012) yaygın olarak kullanılmaktadır. PLGA kopolimeri, monomerlerinin oranları değiştirilerek, farklı molekül ağırlığı, farklı fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerde sentezlenebilir. Polimerik matriks olarak kullanılan PLGA'ların özelliklerine bağlı olarak, ilaç salımının uzatılması ve kontrolü gerçekleştirilebilmektedir (Makadia ve Siegel 2011). Bunun yanısıra PLGA, fizyolojik ortamda inert, biyolojik olarak parçalanabilen, biyoyumlu, toksik olmayan ürünlere parçalanabilen ve ilaç taşıyıcı sistemlerde yaygın olarak kullanılan FDA (The Food and Drug Administration) onaylı bir biyopolimerdir (Derman ve ark., 2013).

Bu çalışmada Rutin molekülünün biyoyararlanımı arttırmak için farklı yöntemler kullanılarak Rutin-yüklü-PLGA nanopartikülleri sentezlenmiş, sentezlenen NP'ler % enkapsülasyon etkinliği (%EE), ortalama parçacık boyutu (Z-Ave), çoklu dağılım indisi (PDI), Zeta potansiyel, Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve taramalı

elektron mikroskobu (SEM) analizleri ile karakterize edilmiştir. Bazı NP'lerin in vitro ortamda % kümülatif Rutin salımı incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

PLGA (laktit:glikolit=50:50; viskozite: 0.45–0.60 dL/g, $M_w \sim 38\text{--}54$ kDa), rutin, polivinil alkol, aseton ve etanol Sigma Aldrich'den (St. Louis, USA), diklorometan (DCM) ise Ridel de Haen firmasından tedarik edilmiştir. Tüm kimyasallar ve çözücüler analitik saflıktadır ve daha fazla saflaştırılmadan kullanılmıştır. Ultra saf su, laboratuvarında bulunan Millipore MilliQ gradient sisteminden kullanılmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonunda UV-VIS Spektrofotometre (Jasco V-530), Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, İngiltere), IR-Prestige 21 FTIR Spektrofotometre (Shimadzu, Japonya) ve SEM (Zeiss EVO LS 10, Almanya) kullanılmıştır. In vitro salım deneyleri 37 °C'de fosfat tampon çözeltisi (PBS) içinde pH=7.4'de gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Rutin yüklü nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılan yöntem parametreleri

NP no	Yöntem	Yöntemin özellikleri	Rutin (mg)	PLGA (mg)	PVA (w/v)(%)	PVA (ml)
NP1	Tekli emülsiyon solvent buharlaştırma (y/s)	Rutin çözücüsü: etanol	20	100	3	4
NP2	Nano çöktürme	Sonikasyon uygulanmadı	20	100	1	80
NP3		Sonikasyon uygulandı	20	100	1	80
NP4	Tuz etkisi ile çöktürme	Sonikasyon uygulanmadı	20	100	2	24
NP5		Sonikasyon uygulandı	20	100	2	24
NP6	Tekli emülsiyon solvent buharlaştırma (y/s)	Boş nanopartikül	-	100	3	4

Rutin-PLGA Nanopartiküllerini Hazırlama Yöntemleri

Su içinde yağ (y/s) tekli emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi: Rutin yüklü PLGA NP'lerin formülasyonunda (NP1) 20 mg rutin ve 100 mg PLGA sırasıyla 1 ml etanol ve 2 ml diklorometan (DCM) (Song ve ark., 2008) içinde çözülmüştür. Organik fazlar bir buz banyosu üzerinde sonikatör (çıkış gücü 70 W, güç %80)

kullanılarak 4 ml %3'lük PVA (w/v) içinde emülsiyon haline getirilmiştir. Emülsiyonlar karışmakta olan 35 ml %0.1'lik PVA sürekli fazı içerisine damla damla eklenmiştir. Boş NP6, rutin etkeni kullanılmadan aynı yöntemle hazırlanmıştır.

Nanoçöktürme yöntemi: İkinci (NP2) ve üçüncü formülasyon (NP3), nanoçöktürme yöntemi ile hazırlanmıştır (Budhian ve ark.,

2007). 20 mg rutin ve 100 mg PLGA, 8 ml aseton da çözülmüştür. NP2'de, organik faz, bir manyetik karıştırıcıda 80 ml %1'lik (w/v) PVA içerisine damla damla ilave edilmiştir. Fakat NP3'te, organik faz, sonikatör ile (çıkış gücü 70 W, güç %80) 80 ml %1'lik (w/v) PVA'da emülsiyon haline getirilmiştir.

Tuz etkisi ile çöktürme yöntemi: Bu yöntemde (Sah ve Sah 2015), 20 mg rutin ve 100 mg PLGA, 8 ml aseton içinde çözülmüştür. Aseton karışımları NP4 ve NP5 formülasyonları için %60 MgCl₂ içeren 24 ml PVA çözeltisine (%2 w/v) sırasıyla manyetik karıştırıcıda karıştırılırken 90 saniye boyunca sonikasyon uygulanarak (70W çıkış gücü, %80 güç) ilave edilmiştir.

3 farklı yöntem kullanılarak hazırlanan tüm emülsiyonlar, çözücü buharlaştırma için oda sıcaklığında manyetik bir karıştırıcıda gece boyunca karıştırılarak bırakılmıştır. Daha sonra süspansiyon edilen NP'ler, 4°C'de 40 dakika

boyunca 9.000 dev/dk'da ultra-santrifüj (Hettich-Universal 32 R) ile toplanmıştır. NP'ler, ultra saf su ile üç kez yıkanmış ve sonra dondurularak kurutulmuştur. Bu çalışmada, uygulanan farklı yöntemlerin %EE, Z-Ave, PDI ve zeta potansiyeli üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Rutin Yüklü PLGA Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

Enkapsülasyon etkinliğinin hesaplanması: Toplam rutin miktarı (mg) nanopartikül hazırlanmasında kullanılan rutin miktarıdır. Serbest rutin miktarı ise nanopartikül üretimi sonrası üst faz kullanılarak tespit edilmiştir. Konsantrasyonu bilinen bir seri standart rutin çözeltisi hazırlanarak 354 nm'deki (Zvezdanović ve ark., 2012) absorpsiyon değerlerinden standart rutin UV kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Santrifüj sonrası toplanan üst fazlardaki rutin miktarı bu kalibrasyon eğrisi kullanılarak belirlenmiştir. %EE, Eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır (Derman 2015).

$$\%EE = \frac{\text{Toplam Rutin miktarı (mg)} - \text{Serbest Rutin miktarı (mg)}}{\text{Toplam Rutin miktarı (mg)}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Ortalama parçacık boyutu, çoklu dağılım indisi ve Zeta potansiyel analizi: NP'lerin Z-Ave, PDI ve zeta potansiyelleri 4.0 mV He-Ne lazerle (633 nm) donatılmış bir Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, İngiltere) kullanılarak foton korelasyon spektroskopisi ile belirlendi. 25 ± 0.1 °C'de ultra saf su içerisinde hazırlanmış taze NP solüsyonu ölçümler için kullanılmış ve her ölçüm 3 defa tekrarlanmıştır. 79; f (ka), dielektrik sabiti olan çözeltiler için 0.8872 cP viskozite ve 1.330 refraktif (kırılma) indeksi kullanılmıştır, (Smoluchowski değeri;1.50). Tüm örnekler ölçüm öncesinde 0.20 µm RC-membrandan (Sartorius) filtre edilmiştir. Hidrodinamik çap (d_H) Eşitlik 2 kullanılarak Stokes-Einstein eşitliğindeki difüzyon katsayısından (D) hesaplanmıştır. Eşitlik 2'de yer alan k

Boltzmann sabiti (1.38×10^{-23} N.m.K⁻¹), T mutlak sıcaklık (°K) ve η ise çözücünün viskozitesidir (Kızılbey 2012).

$$d_H = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (\text{Eşitlik 2}) \quad (\text{Kızılbey 2012})$$

Örneklerin çözelti içerisindeki Zeta Potansiyelleri (ζ), Eşitlik 3 kullanılarak Henry denklemindeki elektroforetik hareketlilik (U_E) ile hesaplanmıştır. Eşitlik 3'deki ε is ortamın dielektrik sabitini, $f(ka)$ Henry fonksiyonunu, η ise ortamın viskozitesini göstermektedir (Manual, Z.N.S.U., 2003, Malvern Instruments Ltd. Worcestershire).

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta \cdot f(ka)}{3\eta} \quad (\text{Eşitlik 3}) \quad (\text{Kızılbey 2012})$$

FTIR spektroskopisi analizi: Fonksiyonel grupların kimyasal analizi için IR-Prestige 21 FTIR Spektrofotometre (Shimadzu, Japonya) kullanılmıştır. Ölçümler PLGA, Rutin ve NP'ler için ATR (attenuated total reflectance) modunda gerçekleştirilmiştir. FT-IR spektrumu, örnek başına 4000 ila 600 cm^{-1} dalga boyu aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlükte 16 tarama ile gerçekleştirilmiştir.

SEM analizi: Nanoparçacıkların yüzey morfolojileri ve şekilleri taramalı elektron mikroskobu (Zeiss EVO LS 10, Almanya) kullanılarak görüntülenmiştir. SEM analizi için toz NP'ler örnekler çift taraflı yapışkan bant ile metal yüzeye sabitlenmiştir. Altın-Paladyum (Au/Pd) kaplanan numuneler 5kV'da vakum altında analiz edilmiştir.

In-vitro ortamda Rutin salımının incelenmesi: Nanopartiküllerin *in vitro* rutin salımı, pH 7.4 fosfat tampon çözeltisinde incelenmiştir. 7.4 pH değeri, fizyolojik pH'yı simüle etmek için seçilmiştir (Derman 2015). Deneyde, NP3'den 2.5 mg ve NP5'den 5 mg tartılarak, % 0.01 sodyum azid içeren 5 ml PBS (pH 7.4) içinde süspansiyon edilerek 37°C' de çalkalamalı inkübatörde (60 dev/dk) inkübasyona bırakılmıştır. 1., 2. ve 3. saatler ile 1., 2., 3., 4., 7. ve 8. günlerde, 9000 dev/dk. 20 dakika santrifüjlenerek süpernatantlar toplanmış ve pelet 5 ml taze PBS ile tekrar süspansiyon edilmiştir. Süpernatant içindeki Rutin konsantrasyonu, UV-Vis Spektroskopisi kullanılarak 354 nm dalga boyunda daha önce konsantrasyonu bilinen bir seri örnek kullanılarak çizilmiş olan standart kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

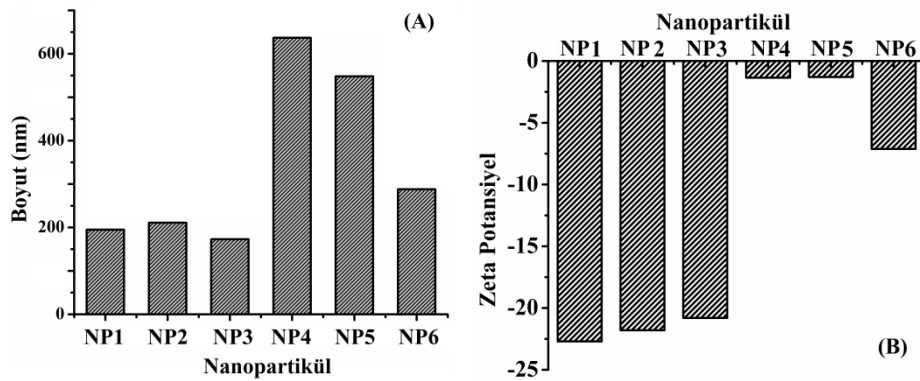
Yöntemlerin %EE üzerine etkisi: Yüksek verimli nanopartikül hazırlama yöntemleri malzeme kaybını önemli ölçüde önlemekte,

parçacık üretimini iyileştirmekte ve üretim maliyetini düşürmektedir. Bu çalışma ile formüle edilen tüm NP'ler için %6.43 ile %40.89 arasında reaksiyon verimi sağlanmıştır. Rutin-PLGA nanopartiküllerine ait % enkapsülasyon etkinliği sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar tepkime veriminin reaksiyonların işlem parametrelerine büyük ölçüde bağlı olduğunu göstermektedir. Tekli emülsiyon-solvent buharlaştırma yöntemi kullanılarak yapılan NP1 nanopartiküllerini incelediğimizde enkapsülasyon verimi %28.31 olarak hesaplanmıştır. Nanoçöktürme yöntemi ile nanopartikül oluşumu (Çizelge 1) sırasında sonikatör kullanılmayan NP2'nin reaksiyon verimi %12.71 iken sonikasyon uygulanan NP3'ün %6.43 olarak hesaplanmıştır. Enkapsülasyon etkinliği %7.82'den %6.08'e düşmüştür. Nanoçöktürme yönteminde sonikasyon uygulamak enkapsülasyon etkinliğine belirsiz oranda etki etmiştir. Tuz etkisi ile çöktürme yöntemi ile nanopartikül oluşumu sırasında sonikatör kullanılmayan NP4'ün reaksiyon verimi %17.77 iken sonikasyon uygulanan NP5'in %11.5 olarak hesaplanmıştır. Enkapsülasyon etkinliği sonikasyon uygulandığında %30.21'den (NP4) %26.69'a (NP5) düşmüştür. Tuz etkisi ile çöktürme yönteminde sonikasyon uygulamak enkapsülasyon etkinliğini düşük oranda azaltmıştır.

Yöntemlerin DLS/ELS yoluyla belirlenen parçacık boyutu üzerine etkisi: Nanoparçacıkların boyutu ve zeta potansiyeli ölçümü için sırasıyla dinamik ve elektroforetik ışık saçılma teknikleri kullanılmıştır. Hazırlanan tüm NP'lere ait %EE, Z-Ave, PDI ve zeta potansiyel değerleri sırasıyla Çizelge 2'de verilmektedir. Boyut dağılımları Şekil 2(A)'da ve zeta potansiyeller ise Şekil 2(B)'de görülmektedir.

Çizelge 2. Nanopartiküllerin %EE, Z-Ave, PDI ve Zeta potansiyel verileri

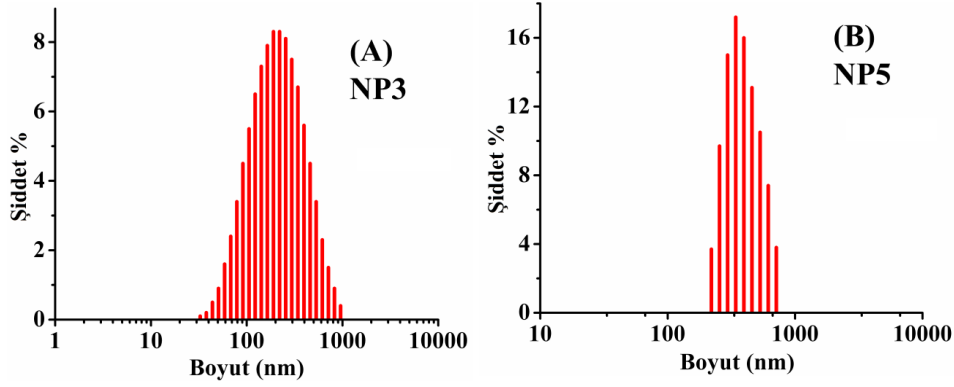
NP no	%EE	Z-Ave (nm)	PDI	Zeta Potansiyel
NP1	28.31	195.9±5.776	0.182±0.011	-22.7±0.321
NP2	7.82	211.0±0.322	0.263±0.020	-21.8±3.15
NP3	6.08	173.7±4.352	0.323±0.010	-20.8±1.36
NP4	30.21	637.4±5.541	0.566±0.026	-1.35±0.312
NP5	26.69	548.2±69.94	0.454±0.034	-1.30±0.196
NP6	Boş NP	288.3±10.69	0.259±0.005	-7.12±0.283



Şekil 2. Nanopartiküllere ait boyut dağılımları (A) ve zeta potansiyelleri (B)

Tekli emülsiyon-solvent buharlaştırma yöntemiyle ile sentezlenen NP1 nanopartiküllerinin boyut, çoklu dağılım indisi ve zeta potansiyel değerleri sırasıyla; 195.9±5.776 nm, PDI=0.182±0.011 ve -2.7±0.321 olarak bulunmuştur. Nanoçöktürme yöntemi ile nanopartikül sentezlemede sonikasyon kullanımı literatürle uyumlu olarak (Budhian ve ark., 2007) NP boyutunu 211±0.322 nm'den 173.7±4.352 nm'ye indirmiştir. Tuz etkisi ile çöktürme yönteminde sonikasyon uygulanması yine parçacık boyutunu 637.4±5.541 nm'den (NP4) 548.2±69.94 nm' ye (NP5) indirmiştir. Her iki yöntemde de güç ve/veya sonikasyon uygulanması veya

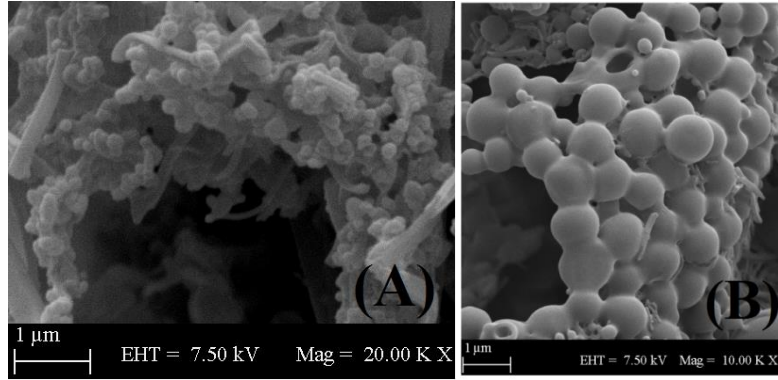
uygulanan gücün süresinin artırılmasının, damlaların parçalanmasına neden olan enerjinin arttırmasına neden olmasıdır. Bu durum, kesme gerilmesinin (shear stress) artması ve bunun sonucunda da parçacık boyutunun azalması şeklinde açıklanmaktadır (Mainardes ve Evangelista 2005). Nanoçöktürme ve tuz etkisi ile çöktürme yöntemlerinde sonikasyon kullanımının enkapsülasyon verimine düşük oranda bir etkisi olduğu gözlenmiştir (Song ve ark., 2008). %EE, parçacık boyutu ve zeta potansiyel değerleri incelendiğinde salım için seçilen NP3 ve NP5 için %boyut-şiddet grafikleri Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3. NP3 (A) ve NP5'e (B) ait boyut-şiddet grafikleri

NP3 ve NP5 için SEM analizlerinin değerlendirilmesi: NP3 ve NP5 nanopartiküllerinin yüzey morfolojisi SEM ile belirlenmiştir. Şekil 4'te NP3 ve NP5'e ait düzgün ve küresel şekilli nanoparçacıkların eşit

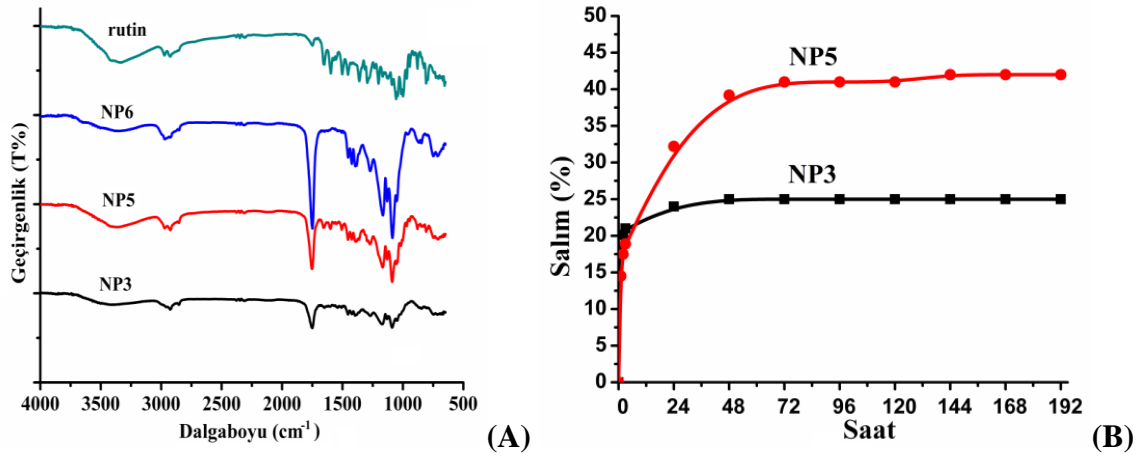
dağılımı görülmektedir. Rutin yüklü nanopartiküllere ait SEM sonuçları, DLS sonuçlarından elde edilen boyut dağılımları ile uyumludur.



Şekil 4. NP3 (A) ve NP5'e (B) ait SEM görüntüleri

NP3 ve NP5 için FTIR analizlerinin değerlendirilmesi: Şekil 5(A)'da boş PLGA ve rutin yüklü nanoparçacıkların FTIR spektrumunda, 1751 cm^{-1} 'deki bant, ester bağının C=O ester bağının (güçlü ve dar) gerilme titreşimine, $1165\text{-}1087\text{ cm}^{-1}$ ise C-O gerilmesine denk gelmektedir. Bu bantlar PLGA molekülünün karakteristik piklerine ait olduğu kabul edilmektedir (Wang ve ark., 2011). Rutin molekülünün IR spektrumunu incelendiğinde $3600\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen kuvvetli OH

gerilmesi 3327 cm^{-1} 'de, $2950\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen zayıf C-H gerilmesi 2920 cm^{-1} ve 2974 cm^{-1} 'de, C=O kuvvetli keton bantı 1745 cm^{-1} 'de, $1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen zayıf C=C aromatik bant, 1595 cm^{-1} de ve $1200\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$ arasında kuvvetli C-OH gerilmesi ile kuvvetli C-O-C gerilmesine ait karakteristik piklerini göstermiştir (Hooresfand ve ark., 2015). Rutin yüklü nanopartiküller incelendiğinde, Rutin molekülünün polimer içerisine başarılı bir şekilde kapsüllendiği görülmektedir.



Şekil 5. Rutin, NP3, NP5 ve NP6 (Boş NP)'ye ait FTIR spektrumu (A); NP3 (0,5 mg/ml) ve NP5'in (1 mg/ml) in vitro ortamda pH 7.4'de Rutin salım grafiği (B)

NP3 ve NP5 için *in-vitro* ortamda Rutin salımının değerlendirilmesi: Şekil 5(B)'de farklı yöntemlerle hazırlanmış NP3 ve NP5 nanopartiküllerin Rutin molekülünün in vitro ortamdaki salımı verilmiştir. Salım çalışmasında NP3'den 0.5 mg/ml NP5'den ise 1mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Her iki nanopartikülün salımında da ilk etapta 24 saat içerisinde ani salım gerçekleşmiştir. Ani salımlarda değerler %18.9 ve %21'e ulaşmıştır. 2. Etapta ise polimer

zincirinin devam eden kırılması ve ilacın difüzyonu ile değerler NP3 ve NP5 için sırasıyla %25 ve %41'e ulaşmıştır. 3-8 gün aralığındaki son etapta ise salım bu değerlerde sabit olarak devam etmiştir. Flavanoid yüklü polimerik nanopartikül sistemlerle ilgili yapılan literatür taramalarında nanotaşıyıcıların genellikle flavanoidlerin özelliklerini olumlu yönde arttırdığı göstermektedir (Çizelge 3).

Çizelge 3 Literatürdeki bazı çalışmaların örnekleri

Etken madde	Polimer	NP oluşturma yöntemi	Çalışılan özellik	NP boyutu (nm)	% EE	İn-vitro ortamda kümülatif salım
Rutin	Çitosan	iyonik çapraz bağlama	antibakteriyel etki	133.4	36.72	(Patil ve Jobanputra 2015)
Kuarçetin	PLGA	çözücü değiştirme	antioksidan etki	399	79.84	%65 (Pool ve ark., 2012)
Kateşin	PLGA	çözücü değiştirme	antioksidan etki	410	76.14	%85 (Pool ve ark., 2012)
Kateşin	Çitosan	iyonik jelasyon yöntemi	oral biyoyararlanım	130	90	%32 (Dudhani ve Kosaraju 2010)
Kafeik Asit	PLGA	yağ/su tekli emülsiyon solvent uçurma	biyoyararlanım	208	76	% 42.65
				437	85	%46.26
				163	89	%83.08
						(Derman 2015)
Apigenin	PLGA	nanoçöktürme	anti-proliferasyon	100.2	87.7	%70 (Das ve ark., 2013)

SONUÇ

Bu çalışmada, sahip oldukları avantajlarından dolayı Rutin molekülünün biyoyararlanımı arttırmak için tekli emülsiyon-solvent buharlaştırma, nano-çöktürme ve tuz etkisi ile çöktürme yöntemleri kullanılarak Rutin yüklü PLGA nanopartikülleri başarıyla sentezlenmiş, karakterizasyonları yapılmış ve seçilmiş nanopartiküllerin in vitro ortamda % salım değerleri hesaplanmıştır. Nanoçöktürme yöntemiyle elde edilen NP2 ve NP3 nanopartiküllerinden daha düşük parçacık boyutuna sahip (173.7 ± 4.352 nm) NP3 molekülünün in vitro ortamda % salım değeri en fazla %25'e ulaşmıştır. Salım parametreleri göz önüne alındığında, nanoçöktürme yöntemine göre daha başarılı olduğu düşünülen tuz etkisi ile çöktürme yöntemi ile elde edilen NP5 molekülünün in vitro ortamda % salım değeri 3. gün %41 olarak belirlenmiştir. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde, denenen yöntemler içerisinde en verimli, küçük boyutlu ve sürekli salımlı yüksek kapsülleme verimliliği olan Rutin yüklü nanopartiküllerin tespiti, ilerideki gelişmiş ve çok yönlü çalışmalar sonrasında nanotıp alanı için uygun bir aday olmasını sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Zeynep MUSTAFAEVA AKDESTE ve Doç. Dr. Serap DERMAN'a deneysel çalışmalarım boyunca sağlamış oldukları laboratuvar olanaklarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

KAYNAKLAR

Al-Dhabi N A, Arasu M V, Park C H and Park S U, 2015. An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities. *Experimental and Clinical Science*, 14: 59-63.

Bilia A R, Isacchi B, Righeschi C, Guccione C and Bergonzi M C, 2014. Flavonoids loaded in nanocarriers: an opportunity to increase oral bioavailability and bioefficacy. *Food and Nutrition Sciences*, 5(13): 1212-1327.

Budhian A S, Siegel S J and Winey K I, 2007. Haloperidol-loaded PLGA nanoparticles: systematic study of particle size and drug content. *International Journal of Pharmaceutics*, 336(2): 367-375.

Calabro M, Tommasini S, Donato P, Stancanelli R, Raneri D, Catania S, Costa C, Villari V, Ficarra P and Ficarra R, 2005. The rutin/ β -cyclodextrin interactions in fully aqueous solution: spectroscopic studies and biological assays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 36(5): 1019-1027.

Cherbi R, Saidi M, Yousfi M and Rahmani Z, 2016. Total phenols, total flavonoids contents and free radical scavenging activity of seeds extracts of *Lawsonia alba* (henna) from Algeria. *Der Pharma Chemica*, 8(11):216-221.

Chua L S, 2013. A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3): 805-817.

Das S, Das J, Samadder A, Paul A and Khuda-Bukhsh A R, 2013. Strategic formulation of apigenin-loaded PLGA nanoparticles for intracellular trafficking, DNA targeting and improved therapeutic effects in skin melanoma in vitro. *Toxicology letters*, 223(2): 124-138.

- de Oliveira I R, Fernandes W Z and Vieira I C, 2006. Development of a biosensor based on gilo peroxidase immobilized on chitosan chemically crosslinked with epichlorohydrin for determination of rutin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(2): 366-372.
- Derman S, 2015. Caffeic acid phenethyl ester loaded PLGA nanoparticles: effect of various process parameters on reaction yield, encapsulation efficiency, and particle size. *Journal of Nanomaterials*, 16(1): 318-330.
- Derman S, Kızılbey K and Akdeste Z M, 2013. Polymeric nanoparticles. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 31: 107-120.
- Dudhani A R and Kosaraju S L, 2010. Bioadhesive chitosan nanoparticles: Preparation and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 81(2): 243-251.
- Heim K E, Tagliaferro A R and Bobilya D J, 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10): 572-584.
- Hooresfand Z, Ghanbarzadeh S and Hamishehkar H, 2015. Preparation and characterization of rutin-loaded nanophytosomes. *Pharmaceutical Sciences*, 21(3): 145-151.
- Kızılbey K, 2012. Melanoma hastalığını oluşturan sentetik peptidlerin poliakrilikasit ve kopolimerleri ile konjugasyonu, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Kumar G, Shafiq N and Malhotra S, 2012. Drug-loaded PLGA nanoparticles for oral administration: fundamental issues and challenges ahead. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 29(2):149-182.
- Mainardes R M and Evangelista R C, 2005. PLGA nanoparticles containing praziquantel: effect of formulation variables on size distribution. *International Journal of Pharmaceutics*, 290(1-2): 137-144.
- Makadia H K and Siegel S J, 2011. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers*, 3(3): 1377-1397.
- Manach C, Morand C, Demigné C, Texier O, Régéat F and Rémésy C, 1997. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. *FEBS Letters*, 409(1): 12-16.
- Patil A G and Jobanputra A H, 2015. Rutin-chitosan nanoparticles: fabrication, characterization and application in dental disorders. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 54(2): 202-208.
- Pool H, Quintanar D, de Dios Figueroa J, Mano C M, Bechara J E H, Godínez L A and Mendoza S, 2012. Antioxidant effects of quercetin and catechin encapsulated into PLGA nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 86-97.
- Sah E and Sah H, 2015. Recent trends in preparation of poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles by mixing polymeric organic solution with antisolvent. *Journal of Nanomaterials*, 16(1): 61.

- Song X, Zhao Y, Hou S, Xu F, Zhao R, He J, Cai Z, Li Y and Chen Q, 2008. Dual agents loaded PLGA nanoparticles: systematic study of particle size and drug entrapment efficiency. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(2): 445-453.
- Song X, Zhao Y, Wu W, Bi Y, Cai Z, Chen Q, Li Y and Hou S, 2008. PLGA nanoparticles simultaneously loaded with vincristine sulfate and verapamil hydrochloride: systematic study of particle size and drug entrapment efficiency. *International Journal of Pharmaceutics*, 350(1-2): 320-329.
- Soppimath K S, Aminabhavi T M, Kulkarni A R and Rudzinski W E, 2001. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, 70(1-2): 1-20.
- Stuard S, Cesarone M R, Belcaro G, Dugall M, Ledda A, Cacchio M, Ricci A, Ippolito E, Di Renzo A and Grossi M G, 2008. Five-year treatment of chronic venous insufficiency with O-(β -hydroxyethyl)-rutosides: Safety aspects. *International Journal of Angiology*, 17(03): 143-148.
- Wang H, Zhao Y, Wu Y, Hu Y, Nan K, Nie G and Chen H, 2011. Enhanced anti-tumor efficacy by co-delivery of doxorubicin and paclitaxel with amphiphilic methoxy PEG-PLGA copolymer nanoparticles. *Biomaterials*, 32(32): 8281-8290.
- Webster R, Gawde M and Bhattacharya R, 1996. Protective effect of rutin, a flavonol glycoside, on the carcinogen-induced DNA damage and repair enzymes in rats. *Cancer Letters*, 109(1-2): 185-191.
- Yang J, Guo J and Yuan J, 2008. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6): 1060-1066.
- Zvezdanović J B, Stanojević J S, Marković D Z and Cvetković D J, 2012. Irreversible UV-induced quercetin and rutin degradation in solution, studied by UV-spectrophotometry and HPLC chromatography. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 77(3): 297-312.

Yeni Palladyum-*N*-Heterosiklik Karben Komplekslerinin Sentezi ve Mono-Florobenzenlerin Direkt Arilasyonundaki Katalitik Uygulamaları

Murat KALOĞLU^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, *N*-heterosiklik karben (NHC) ligandı içeren yeni palladyum kompleksleri sentezlendi ve yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR ve element analizi yöntemleri ile karakterize edildi. Palladyum-NHC komplekslerinin katalitik aktivitesi, mono-florobenzenlerin çeşitli aril bromürler ile direkt arilasyonu tepkimelerinde test edildi. Palladyum-NHC kompleksleri, elektron verici ve elektron çekici aril bromürler için yüksek katalitik aktivite gösterdi.

Anahtar kelimeler: *N*-Heterosiklik karben, palladyum, direkt arilasyon, florobenzen

Synthesis of Novel Palladium-*N*-Heterocyclic Carbene Complexes and Their Catalytic Application in the Direct Arylation of Mono-Fluorobenzenes

ABSTRACT: In this study, novel palladium complexes containing *N*-heterocyclic carbene (NHC) ligands were synthesized and their structures characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR and elemental analysis techniques. The catalytic activities of palladium-NHC complexes were tested in the direct arylation reactions of mono-fluorobenzenes with various aryl bromides. Palladium-NHC complexes showed the high catalytic activity for electron-donating and electron-drawing aryl bromides.

Keywords: *N*-Heterocyclic carbene, palladium, direct arylation, fluorobenzene

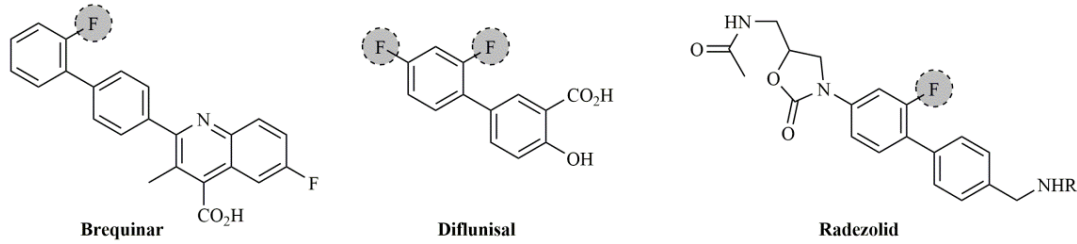
¹ Murat KALOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-2770-5532), 1Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, İnönü Üniversitesi, 44280, Malatya, Türkiye

*Sorumlu Yazar: Murat KALOĞLU, e-mail: murat.kaloglu@inonu.edu.tr

GİRİŞ

Florobenzen bileşikleri biyolojik olarak aktif çoğu kimyasalın yapı taşıdır. Bu tür bileşikler özellikle tıp ve eczacılık alanındaki uygulamaları nedeniyle yoğun bir ilgiye sahiptir (Groult ve ark., 2017).

Örneğin, bir florobenzen türevi olan Brequinar bazı kanser türlerinin tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Diflunisal steroidal olmayan anti-inflamatuar bir ajan olarak, Radezolid ise antibiyotik olarak kullanılmaktadır (Şekil 1).

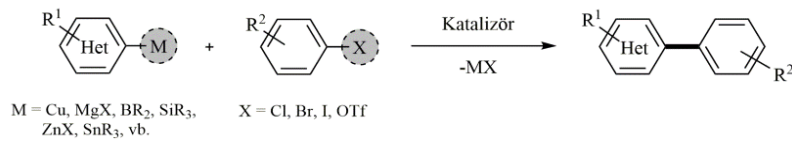


Şekil 1. Biyolojik olarak aktif bazı florobenzen türevleri

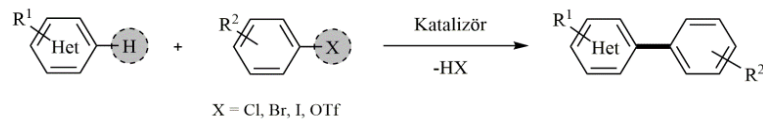
Biyolojik uygulamadaki önemi nedeniyle bu tür bileşiklerin hazırlanması organik sentez açısından önemli bir araştırma konusu olmuştur. Suzuki, Stille, Negishi ve Kumada tepkimeleri gibi geleneksel geçiş metal-katalizli çapraz-eşleşme tepkimeleri uzun bir süredir biyolojik sentezinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Li ve Gribble, 2000; Negishi, 2002; Johansson ve ark., 2012). Fakat bu tür tepkimelerde kullanılan organometalik bileşikler, genellikle ticari olarak temin edilemeyen, ya da nispeten pahalı kimyasallardır. Bu tür

bileşiklerin geleneksel çapraz-eşleşme tepkimeleri ile arenlerden hazırlanması da genellikle istenmeyen yan ürünlerin oluştuğu, çok basamaklı zorlu bir sentez süreci gerektirir (Şekil 2, A). Direkt arilasyon yöntemi, geleneksel çapraz-eşleşme tepkimelerine kıyasla daha çevreci ve ekonomik olarak daha çekici bir yöntemdir (Ackermann ve ark., 2009). Daha da önemlisi, bu yöntem sadece yan ürün oluşumunu en aza indirmekle kalmayıp, organik sentezi daha kolay hale getirdiği için büyük bir avantaja sahiptir (Şekil 2, B).

A) Geleneksel çapraz eşleşme tepkimeleri



B) Direkt arilasyon yöntemi



Şekil 2. Geleneksel çapraz-eşleşme tepkimeleri (A) ve direkt arilasyon yöntemi (B)

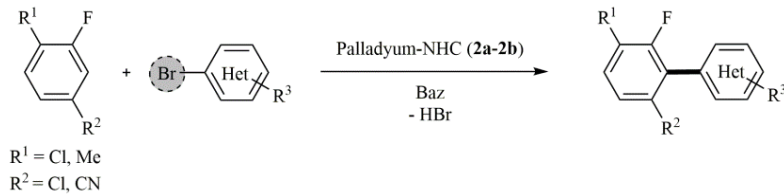
Florobenzenlerin palladyum-katalizli direkt arilasyonu ilk olarak 2006 yılında poliflorobenzenler üzerinde yaptığı çalışmalar ile

Lafrance tarafından bildirilmiştir (Lafrance ve ark., 2006). Literatür incelendiğinde, florobenzenlerin direkt arilasyonunun daha çok

penta-, tetra- ve tri-florobenzenler üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir (Lafrance ve ark., 2006; Rene ve Fagnou, 2010; Lapointe ve ark., 2011; Chen ve ark., 2012; Lentijo ve ark., 2013). Bu alanda mono-florobenzen bileşiklerinin direkt arilasyonu üzerine yapılan çalışmaların sayısının sınırlı olduğu görülmektedir (Chiong ve ark., 2007; Cornella ve ark., 2011; Li ve ark., 2011; Wang ve ark., 2012; Arroniz ve ark., 2013; Ricci ve ark., 2013; Yan ve ark., 2014).

N-Heterosiklik karbenler (NHC), azot atomu üzerindeki süstitüentlerin değiştirilmesi ile sterik, elektronik ve kimyasal açıdan en uygun katalizörün hazırlanmasına imkân veren etkili ligandlardır (Glorius, 2007; Nolan, 2014). NHC'ler güçlü σ -donör ve zayıf π -akseptör özelliği sayesinde, koordine olduğu metal ile güçlü bir etkileşime girerek metal merkezinden kolaylıkla dissosiyasyon olmazlar. Bu özelliklerinden dolayı, NHC kompleksleri son

zamanlarda direkt arilasyon tepkimelerinde etkili katalizörler olarak yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Bourissou ve ark., 2000; Hahn, 2006). NHC komplekslerinin son zamanlarda direkt arilasyon tepkimelerinde yoğun bir ilgi görmesinden ve florobenzenlerin direkt arilasyonunda palladyum-NHC komplekslerinin katalizör olarak kullanıldığı çalışmaların sayısının sınırlı olmasından dolayı bu çalışmada yeni palladyum-NHC kompleksleri (**2a** ve **2b**) sentezlendi ve yapıları NMR spektroskopisi ve element analizi yöntemleriyle karakterize edildi. Sentezlenen yeni palladyum-NHC komplekslerinin, mono-florobenzen bileşiklerinin direkt arilasyonundaki katalitik özellikleri incelendi (Şekil 3). Palladyum-NHC kompleksleri, elektron verici ve elektron çekici aril bromürler için yüksek katalitik aktivite gösterdi.



Şekil 3. Mono-florobenzen bileşiklerinin palladyum-NHC katalizli direkt arilasyonu

MATERYAL VE YÖNTEM

Gerçekleştirilen tüm sentez çalışmaları argon gazı altında standart Schlenk tekniği kullanılarak yapıldı. NMR ölçümleri, Bruker UltraShield 300 MHz NMR spektrometresinde gerçekleştirildi. NMR ölçümlerinde çözücü olarak CDCl_3 , iç standart olarak TMS kullanıldı. Bileşiklerin kimyasal kayma değerleri (δ), ppm olarak, eşleşme sabitleri (J) Hertz olarak verildi. ^1H NMR sinyal yarımları, s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multipl olarak kısaltıldı. NMR ölçümleri ve element analizleri İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezinde (İBTAM) gerçekleştirildi. Gaz kromatografisi analizleri,

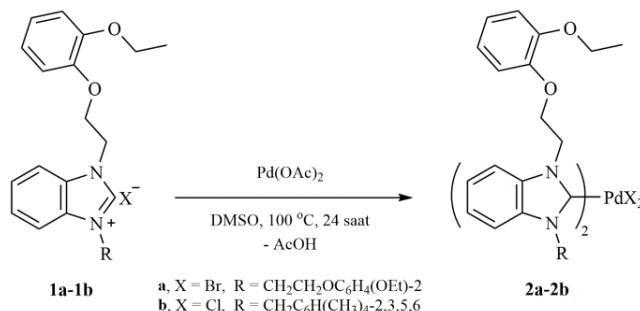
Agilent 6890N Network GC System gaz kromatografisi cihazında, kolon uzunluğu 30 m, kolon çapı 0.32 mm, kolon dolgu büyüklüğü $0.25 \mu\text{m}$ ve sıcaklık aralığı 50°C 'den 300°C 'ye kadar olan HP-5 kolonu yapıldı. GC-MS analizleri ise, Shimadzu GC-MS QP-2010 Plus kütle spektrometresi-gaz kromatografisi cihazında HP-5 kolonu kullanılarak GC-FID dedektörü yardımıyla gerçekleştirildi.

Palladyum-N-Heterosiklik Karben Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Palladyum-NHC komplekslerinin sentezi için kullanılan **1a** ve **1b** NHC ligandları literatüre uygun olarak hazırlandı (Kaloğlu ve ark., 2016). Vakum altında ısıtılıp havası

boşaltılan 50 mL'lik bir Schlenk içerisine argon gazı altında NHC ligandı (1.0 mmol), Pd(OAc)₂ (0.5 mmol) ve dimetilsülfoksit (DMSO), (3 mL) eklendi ve çözelti 100 °C'de 24 saat karıştırıldı. Tepkime tamamlandıktan sonra çözücünün tamamı vakum altında uzaklaştırıldı. Kalan sarı renkli yağimsı ham ürün önce *n*-pentan ile (2×5 mL) yıkandı daha sonra CH₂Cl₂ üzerinden mikro

silika jel kolonundan geçirilerek tepkimeye girmemiş başlangıç bileşiklerinden arındırıldı. Ham ürün CH₂Cl₂/Et₂O karışımında (1:2, *h/h*) kristallendirilerek saflaştırıldı. Sentezlenen **2a** ve **2b** kompleksleri havaya ve neme karşı kararlı bileşikler olarak yüksek verimler ile elde edildi. Palladyum-NHC komplekslerine ait genel sentez yöntemi Şekil 4'de gösterilmiştir.



Şekil 4. Palladyum-N-heterosiklik karben komplekslerinin (**2a-2b**) sentezi

Dibromo-bis[1,3-di(2-(2-etoksifenoksi)etil)-

benzimidazol-2-iliden]palladyum(II), (**2a**):

Verim: 0.43 g, %74; e.n.: 228-230 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS), δ (ppm): 1.47 (t, *J* = 7.0 Hz, 12H, NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 4.03 (q, *J* = 7.0 Hz, 8H, NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 4.77 (t, *J* = 5.7 Hz, 8H, NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 5.30 (t, *J* = 5.4 Hz, 8H, NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 6.80-6.90, 7.31-7.35 ve 7.79-7.82 (m, 24H, NC₆H₄N ve NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS), δ (ppm): 15.0 (NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 48.4 (NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 64.0 (NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 67.6 (NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 111.5, 112.8, 113.4, 120.9, 121.5, 123.3, 135.2, 148.0 ve 148.5 (NC₆H₄N ve NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 182.2 (Pd-C_{karben}). Kapalı formülü: C₅₄H₆₀Br₂N₄O₈Pd, Molekül ağırlığı: 1159,32 g.mol⁻¹; Element analizi (C₅₄H₆₀Br₂N₄O₈Pd için): Hesaplanan (%): C 55.95, H 5.22, N 4.83; Bulunan (%): C 55.98, H 5.30, N 4.87.

Dikloro-bis[1-(2-(2-etoksifenoksi)etil)-3-(2,3,5,6-tetrametilbenzil)benzimidazol-2-

iliden]palladyum(II), (**2b**): Verim: 0.47 g, %91;

e.n.: 273-275 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS), δ (ppm): 1.45 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H, NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 4.02 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H, NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 4.84 (t, *J* = 5.7 Hz, 4H, NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 5.46 (t, *J* = 5.6, 4H, NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 2.26, 2.28 (s, 24H, NCH₂C₆H(CH₃)-2,3,5,6); 6.32 (s, 4H, NCH₂C₆H(CH₃)-2,3,5,6); 6.80-6.85, 6.89-7.15 ve 7.71-7.78 (m, 16H, NC₆H₄N ve NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 6.87 (s, 2H, NCH₂C₆H(CH₃)-2,3,5,6). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS), δ (ppm): 15.0 (NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 47.9 (NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 64.0 (NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 67.1 (NCH₂CH₂OC₆H₄(OCH₂CH₃)-2); 16.7 ve 20.6 (NCH₂C₆H(CH₃)-2,3,5,6); 50.8 (NCH₂C₆H₄(CH₃)-4); 111.5, 112.9, 113.5, 120.9, 121.4, 122.6, 123.0, 130.9, 132.4, 134.3, 135.0, 135.6, 148.1, 148.6 (NC₆H₄N,

$\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OC}_6\text{H}_4(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ ve $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_{2,3,5,6}$; 182.4 (Pd-C_{karben}). Kapalı formülü: $\text{C}_{56}\text{H}_{64}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_4\text{Pd}$, Molekül ağırlığı: $1034,47 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; Element analizi ($\text{C}_{56}\text{H}_{64}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_4\text{Pd}$ için): Hesaplanan (%): C 65.02, H 6.24, N 5.42; Bulunan (%): C 65.10, H 6.27, N 5.43.

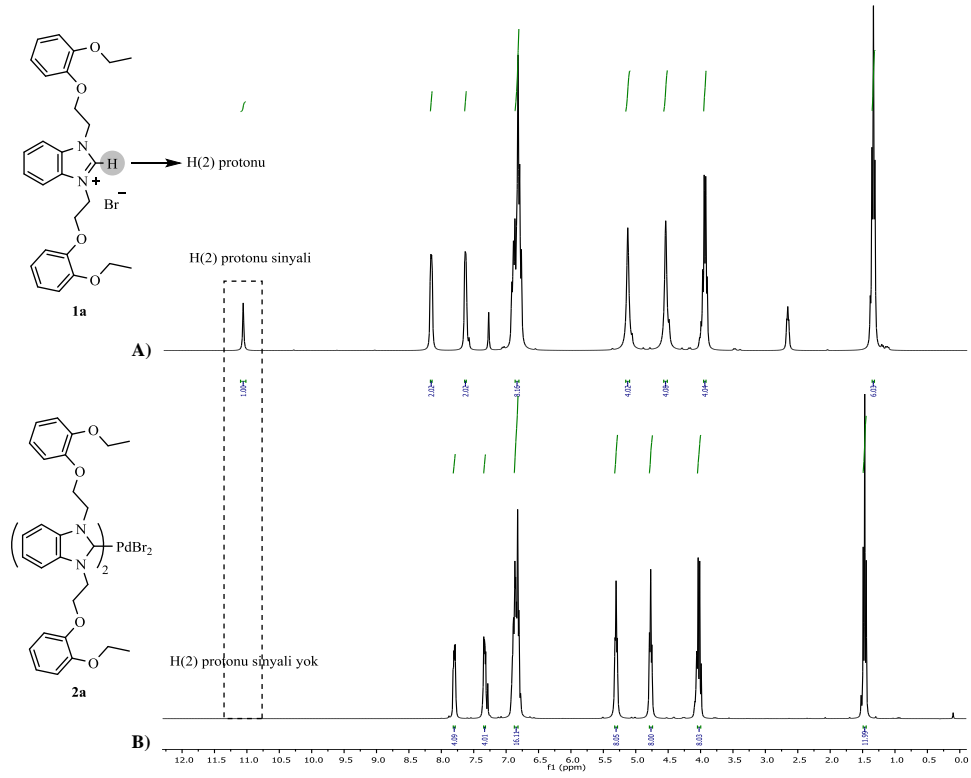
Florobenzen Türevlerinin Direkt Arilasyon Yöntemiyle Sentezi

Vakum altında ısıtılıp havası boşaltılan ve argon gazı ile doldurulan 10 mL'lik bir Schlenk içerisine florobenzen bileşiği (1.5 mmol), aril bromür (1.0 mmol), palladyum-NHC katalizörü (**2a-2b**), (0.025 mmol), potasyum pivalat (PivOK), (0.280 g, 2.0 mmol) ilave edildi ve çözücü olarak dimetilasetamit (DMAc), (3 mL) eklenerek 150 °C'de 16 saat karıştırıldı. Tepkime sonunda çözücünün tamamı vakum altında uzaklaştırıldı ve CH_2Cl_2 (5 mL) ilave edilerek çözünen kısım mikro silika jel kolonundan geçirildi. Ürün karakterizasyonları GC-MS ile yapıldı. Dönüşüm oranları aril bromür baz alınarak GC ile belirlendi. Katalitik çalışmalar sonucu elde edilen **3a-3e** ve **4a-4e** florobenzen türevleri literatürde var olup elde edilen bu bileşiklerin karakterizasyonu literatür ile uyum içerisinde (Yan ve ark., 2014).

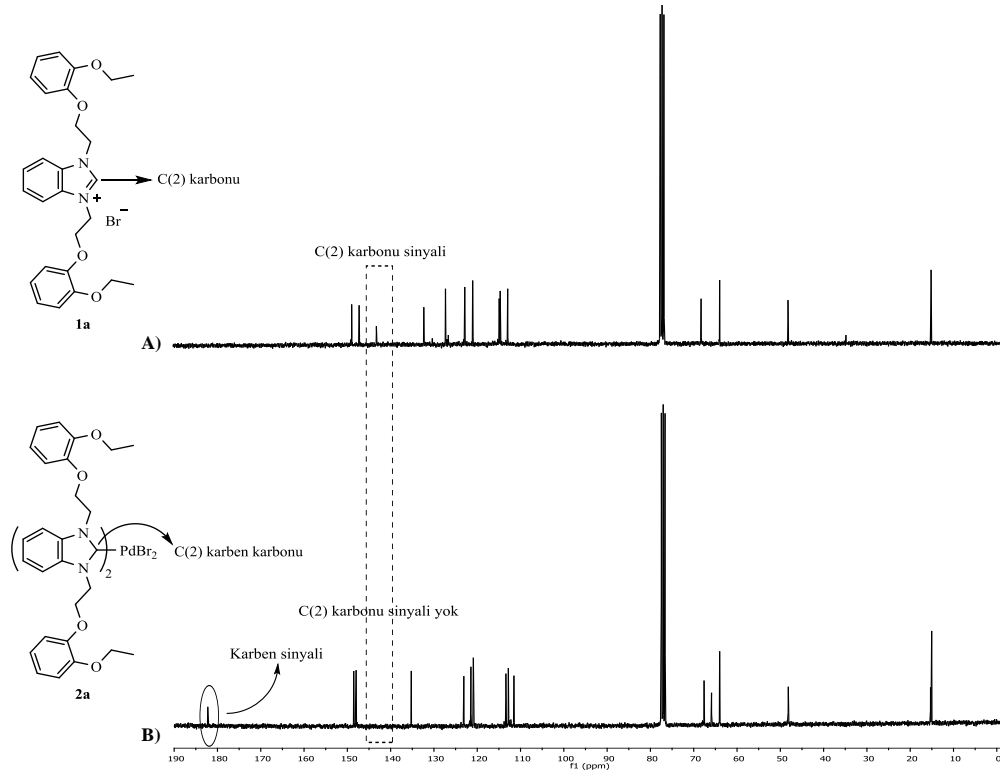
BULGULAR VE TARTIŞMA

Palladyum-NHC kompleksleri (**2a-2b**), yüksek verimler ile elde edilerek literatüre kazandırıldı. Sentezlenen yeni palladyum-NHC komplekslerinin karakterizasyonu NMR spektroskopisi ve element analizi yöntemleriyle

gerçekleştirildi. Literatüre uygun olarak hazırlanan **1a** ve **1b** NHC ligandlarının ^1H NMR spektrumu incelendiğinde, karakteristik bir sinyal olan asidik H(2)- protonuna (NCHN) ait singlet sinyalinin **2a** ve **2b** komplekslerinin ^1H NMR spektrumunda gözlenmemesi, NHC ligandının C(2) konumundan palladyuma bağlandığının bir kanıtıdır. Şekil 5'de **1a** NHC ligandı ve **2a** palladyum-NHC kompleksinin ^1H NMR spektrumları karşılaştırılmıştır. Benzer şekilde literatüre uygun olarak hazırlanan **1a** ve **1b** NHC ligandlarının ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, C(2) karbonuna (NCHN) ait sinyalin NHC ligandının palladyuma koordine olmasıyla birlikte daha aşağı alanda bir karben sinyali verdiği görülmektedir. Şekil 6'da **1a** NHC ligandı ve **2a** palladyum-NHC kompleksinin ^{13}C NMR spektrumları karşılaştırılmıştır. Benzimidazol halkası içeren NHC ligandlarının ^{13}C NMR spektrumunda C(2) karbonuna ait sinyaller genel olarak $\delta = 140-145$ ppm aralığında gözlenirken, **2a** ve **2b** bileşiklerinde bu sinyaller 182.2 ppm ve 182.4 ppm'de gözlenmiştir. Bu durum NHC ligandının C(2) konumundan palladyuma bağlanarak Pd-C_{karben} bağı oluşturduğunu kanıtlamaktadır. Literatür incelendiğinde, ilk kez bu çalışmada sentezlenen yeni palladyum-NHC komplekslerine ait spektroskopik değerlerin, literatürdeki diğer palladyum-NHC komplekslerine ait spektroskopik değerler ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir (Özdemir ve ark., 2010; Kaloğlu ve Özdemir, 2018; Kaloğlu ve ark., 2018; Kaloğlu ve Özdemir, 2018; Kaloğlu ve ark., 2018).



Şekil 5. **1a** ligandına (A) ve **2a** kompleksine (B) ait ^1H NMR spektrumları



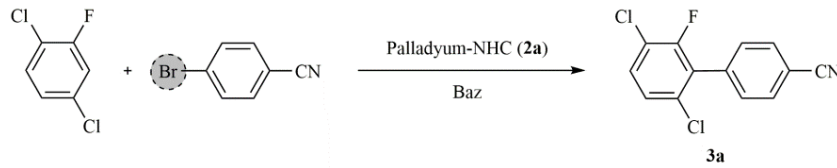
Şekil 6. **1a** ligandına (A) ve **2a** kompleksine (B) ait ^{13}C NMR spektrumları

Florobenzen Türevlerinin Direkt Arilasyonu

Mono-florobenzen bileşiklerinin palladyum-NHC katalizli direkt arilasyonunu incelemek için ilk olarak tepkimeye ait optimum koşulların belirlenmesi amacıyla model substrat olarak 1,4-dikloro-2-florobenzen ve 4-bromobenzonitril seçildi. Palladyum-NHC, **2a**

katalizörü varlığında katalizör miktarı, baz, çözücü, zaman ve sıcaklık gibi farklı parametrelerin **3a** eşleşme ürününün oluşumu üzerindeki katalitik etkisi incelendi. Gerçekleştirilen ön denemeler sonucunda elde edilen veriler Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. 1,4-Dikloro-2-florobenzenin 4-bromobenzonitril ile palladyum-NHC katalizli C3-arilasyonuna ait optimum koşulların belirlenmesi^a



Deney No	[Pd] 2a miktarı (% mol)	Baz	Çözücü	Zaman (Saat)	Sıcaklık (°C)	Dönüşüm (%) ^b	Verim (%) ^c
1	-	KOAc	NMP	24	150	-	-
2	5	KOAc	NMP	24	150	56	18
3	5	KOAc	DMF	24	150	68	43
4	5	KOAc	DMAc	24	150	87	61
5	5	NaOAc	DMAc	24	150	75	57
6	5	PivOK	DMAc	24	150	96	82
7	5	PivOK	DMAc	20	150	91	79
8	5	PivOK	DMAc	16	150	88	77
9	5	PivOK	DMAc	12	150	65	51
10	5	PivOK	DMAc	16	130	70	45
11	5	PivOK	DMAc	16	110	56	26
12	2.5	PivOK	DMAc	16	150	85	75
13	1	PivOK	DMAc	16	150	61	40

^a Tepkime şartları: Palladyum-NHC (**2a**), 1,4-dikloro-2-florobenzen (1.5 ekiv.), 4-bromobenzonitril (1.0 ekiv.), baz (2.0 ekiv.).

^b **3a** Bileşiğine ait dönüşüm oranları 4-bromobenzonitril esas alınarak GC ile belirlenmiştir.

^c **3a** Bileşiğine ait izole verimler.

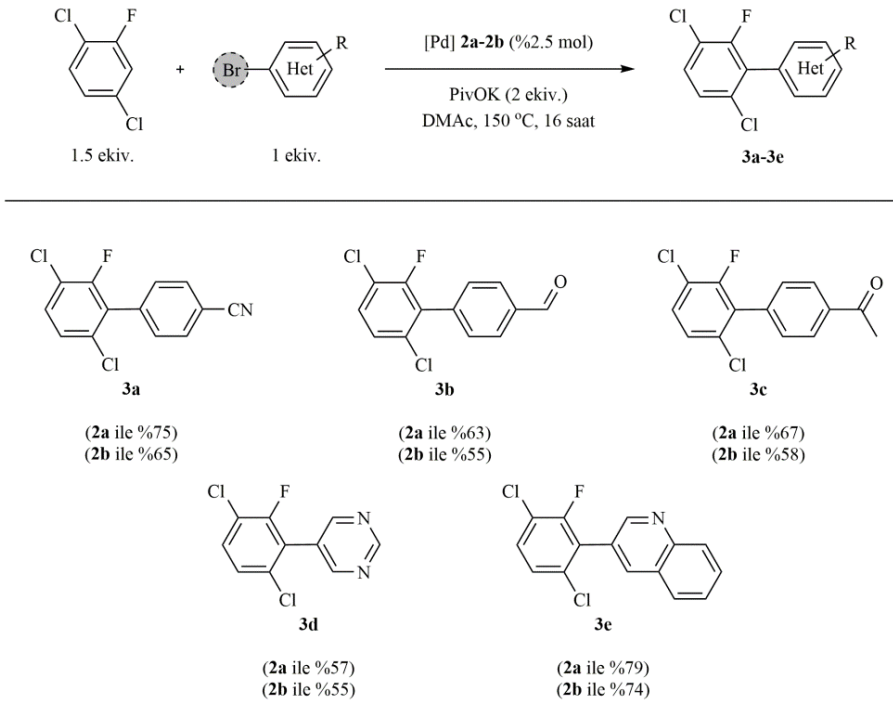
Çizelge 1 incelendiğinde, **2a** katalizörü kullanılmadığında **3a** ürününün elde edilemediği gözlenmiştir (Çizelge 1, deney no: 1). Yapılan denemelerde ilk olarak **2a** katalizörü ve KOAc bazı varlığında farklı çözücülerin tepkime üzerindeki etkisi incelenmiştir (Çizelge 1, deney no: 2-4). 150 °C ve 24 saatte gerçekleştirilen denemelerde en iyi dönüşüm oranına sahip çözücünün DMAc olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1, deney no: 4). Farklı bazların tepkime üzerindeki etkisi incelendiğinde (Çizelge 1, deney no: 5,6), PivOK bazının aynı koşullar

altında KOAc ve NaOAc bazlarından daha etkili olduğu gözlenmiştir (Çizelge 1, deney no: 5). Tepkime süresinin ürün verimi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla farklı tepkime sürelerinde denemeler yapılmıştır (Çizelge 1, deney no: 7-9). Tepkime süresi 16 saate kadar düşürüldüğünde dönüşüm oranları arasında büyük bir fark gözlenmezken, tepkime süresi 16 saatin altına indirildiğinde dönüşüm oranlarında belirgin bir düşüş gözlenmektedir. Bu nedenle optimum tepkime süresi 16 saat olarak belirlenmiştir. Tepkime sıcaklığının dönüşüm

oranları üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla farklı sıcaklıklarda denemeler yapılmıştır (Çizelge 1, deney no: 10,11). Sıcaklığın düşürülmesi ile dönüşüm oranının da azaldığı gözlenmiştir. Örneğin; tepkime 16 saatte ve 150 °C sıcaklıkta gerçekleştirildiğinde %88 dönüşüm gözlenirken (Çizelge 1, deney no: 8), sıcaklık 130 °C'ye düşürüldüğünde tepkimede %70 dönüşüm gözlenmiştir (Çizelge 1, deney no: 10). Tepkime 110 °C'de gerçekleştirildiğinde ise dönüşüm oranının %56'ya düştüğü tespit edilmiştir (Çizelge 1, deney no: 11). Bu nedenle tepkime için en ideal sıcaklığın 150 °C olduğuna karar verilmiştir. Son olarak katalizör miktarının tepkime üzerindeki etkisi incelenmiştir (Çizelge 1, deney no: 12,13). Katalizör miktarı %5 molden %2,5 mole düşürülmesi dönüşüm oranı üzerinde belirgin bir fark oluşturmamıştır

(Çizelge 1, deney no: 12), fakat katalizör miktarının %1 mole düşürülmesi sonucunda %61 dönüşüm gözlenmiştir (Çizelge 1, deney no: 13). Katalizör miktarının %2,5 molden daha aşağı kullanılması tepkime dönüşümü üzerinde olumsuz bir etki göstermiştir. Bu nedenle tepkime için optimum koşulların Çizelge 1, deney no: 12'de verilen koşullar olduğu sonucuna varılmıştır.

Belirlenen optimum koşullar altında, farklı mono-florobenzenlerin değişik aril bromürler ile direkt arilasyonu **2a** ve **2b** katalizörleri varlığında incelenmiştir. Şekil 7'de 1,4-dikloro-2-florobenzenin farklı aril bromürler ile palladyum-NHC katalizli C3-arilasyonu verilmiştir. **3a-3e** Ürünlerinin izole verimleri parantez içinde gösterilmiştir.



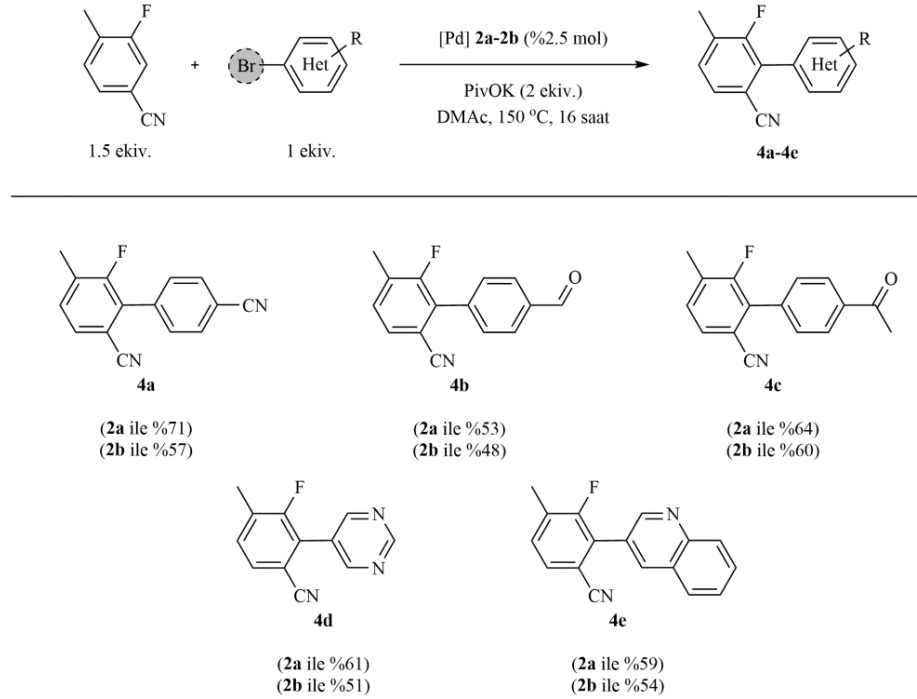
Şekil 7. 1,4-Dikloro-2-florobenzenin aril bromürler ile C3-arilasyonu

1,4-Dikloro-2-florobenzenin direkt C3-arilasyonu incelendiğinde (Şekil 7), farklı aril bromürler ile %55-79 arasında değişen verimlerde eşleşme ürünleri (**3a-3e**) elde edildiği görülmektedir. Aril bromürler arasında 4-bromobenzonitril **2a** katalizörü varlığında %75,

2b katalizörü varlığında ise %65 verimle **3a** ürünü oluşmaktadır. 4-Bromobenzaldehyt ve 4-bromoasetofenon bileşikler kullanıldığında, **3b** ve **3c** ürünleri birbirine yakın verimlerde elde edilmiştir. En düşük verimler aril bromür türevi olarak 5-bromoprimidin kullanıldığında

gözlenmiştir. 5-Bromoprimidin varlığında **3d** ürününün verimi %57'nin altında kalmaktadır. Aril bromür türevleri arasında en yüksek verim 3-bromokinolin kullanıldığında gözlenmiştir. 3-Bromokinolin ile **2a** katalizörü varlığında %79, **2b** katalizörü varlığında ise %74 verimle **3e** ürünü oluşmaktadır.

Şekil 8'de bir diğer mono-florobenzen türevi olan 3-floro-4-metilbenzonitrilin farklı aril bromürler ile palladyum-NHC katalizli C2-arilasyonu verilmiştir **4a-4e** Ürünlerinin izole verimleri parantez içinde gösterilmiştir.



Şekil 8. 3-Floro-4-metilbenzonitrilin aril bromürler ile C2-arilasyonu

3-Floro-4-metilbenzonitrilin direkt C2-arilasyonu incelendiğinde (Şekil 8), farklı aril bromürler ile %48-71 arasında değişen verimlerde eşleşme ürünleri (**4a-4e**) elde edildiği görülmektedir. Bu sonuç bize 3-floro-4-metilbenzonitrilin, 1,4-dikloro-2-florobenzenden daha az reaktif olduğunu göstermektedir. Bu tepkime için aril bromürler arasında en reaktif olanı 4-bromobenzonitril olarak görülmektedir. 4-Bromobenzonitril ile **2a** katalizörü varlığında %71, **2b** katalizörü varlığında ise %57 verimle **4a** ürünü oluşmaktadır. 4-Bromobenzaldehyt, 4-bromoasetofenon, 5-bromoprimidin ve 3-bromokinolin bileşikleri kullanıldığında, **4b**, **4c**, **4d** ve **4e** ürünleri birbirine yakın verimlerde elde edilmiştir.

Sonuç olarak, ilk kez bu çalışmada sentezlenen yeni palladyum-NHC komplekslerinin mono-florobenzen türevlerinin aril bromürler ile direkt arilasyonu için etkili katalizörler olduğu görülmüştür.

SONUÇ

Bu çalışmada, N-heterosiklik karben ligandı içeren iki yeni palladyum kompleksi sentezlenerek literatüre kazandırılmıştır. Sentezlenen palladyum-NHC komplekslerinin mono-florobenzenlerin çeşitli aril bromürler ile direkt arilasyonundaki katalitik özellikleri incelenmiştir. Gerçekleştirilen katalitik çalışmalar sonucunda yüksek verimlerde eşleşme ürünleri elde edilmiştir. Bu çalışmada direkt arilasyon yönteminin kullanılması ile yan ürün

olarak sadece HBr oluşmuş ve böylece çok basamaklı geleneksel geçiş metal-katalizli çapraz-eşleşme tepkimelerine oranla yan ürün oluşumu en aza indirilmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışma organometalik senteze katkı sağladığı gibi, mono-florobenzen türevlerinin hazırlanmasında literatüre de katkı sağlamaktadır. Ayrıca bu çalışma, çevresel ve ekonomik açıdan daha cazip olan direkt arilasyon yönteminin gelişmesi bakımından da önemlidir.

KAYNAKLAR

- Ackermann L, Vicente R, Kapdi AR, 2009. Transition- Metal- Catalyzed Direct Arylation of (Hetero)Arenes by C-H Bond Cleavage. *Angewandte Chemie International Edition*, 48 (52): 9792-9826.
- Arroniz C, Ironmonger A, Rassias G, Larrosa I, 2013. Direct *ortho*-Arylation of *ortho*-Substituted Benzoic Acids: Overriding Pd-Catalyzed Protodecarboxylation. *Organic Letters*, 15 (4): 910-913.
- Bourissou D, Guerret O, Gabbai FP, Bertrand G, 2000. Stable Carbenes. *Chemical Reviews*, 100 (1): 39-92.
- Chen F, Min Q-Q, Zhang X, 2012. Pd-Catalyzed Direct Arylation of Polyfluoroarenes on Water under Mild Conditions Using PPh₃ Ligand. *The Journal of Organic Chemistry*, 77 (6): 2992-2998.
- Chiong HA, Pham Q-N, Daugulis O, 2007. Two Methods for Direct *ortho*-Arylation of Benzoic Acids. *Journal of American Chemical Society*, 129 (32): 9879-9884.
- Cornella J, Righi M, Larrosa I, 2011. Carboxylic Acids as Traceless Directing Groups for Formal *meta*- Selective Direct Arylation. *Angewandte Chemie International Edition*, 50 (40): 9429-9432.
- Glorius F, 2007. *Topics in Organometallic Chemistry Vol. 21: N-Heterocyclic Carbenes in Transition Metal Catalysis*. Springer, Heidelberg-Germany.
- Groult H, Leroux FR, Tressaud A, 2017. *Modern Synthesis Processes and Reactivity of Fluorinated Compounds*. Elsevier Inc., London-England.
- Hahn FE, 2006. *Heterocyclic Carbenes*. *Angewandte Chemie International Edition*, 45 (9): 1348-1352.
- Johansson Seechurn CCC, Kitching MO, Colacot TJ, Snieckus V, 2012. *Palladium-Catalyzed Cross-Coupling: A Historical Contextual Perspective to the 2010 Nobel Prize*. *Angewandte Chemie International Edition*, 51 (21): 5062-5085.
- Kaloğlu M, Kaloğlu N, Özdemir İ, 2018. Direct C-H Bond Activation of Benzoxazole and Benzothiazole with Aryl Bromides Catalyzed by Palladium(II)-*N*-Heterocyclic Carbene Complexes. *Chinese Journal of Chemistry*, 36: 837-844.
- Kaloğlu M, Kaloğlu N, Özdemir İ, 2018. Direct C-H Bond Arylation of C2-Blocked Pyrrole with Aryl Halides Using Palladium(II)-*N*-Heterocyclic Carbene Catalysts. *ChemistrySelect*, 3, 5600-5607.
- Kaloğlu M, Kaloğlu N, Özdemir İ, Günal S, Özdemir İ, 2016. Novel Benzimidazol-2-ylidene Carbene Precursors and Their Silver(I) Complexes: Potential Antimicrobial Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24: 3649-3656.
- Kaloğlu M, Özdemir İ, 2018. Palladium(II)-*N*-Heterocyclic Carbene Complexes: Efficient Catalysts for the Direct C-H Bond Arylation of Furans with Aryl Halides. *Applied Organometallic Chemistry*, 32: e4399.

- Kaloğlu M, Özdemir İ, 2018. Palladium(II)-*N*-heterocyclic carbene-catalyzed direct C2- or C5-arylation of thiazoles with aryl bromides. *Tetrahedron*, 74: 2837-2845.
- Lafrance M, Rowley CN, Woo TK, Fagnou K, 2006. Catalytic Intermolecular Direct Arylation of Perfluorobenzenes. *Journal of American Chemical Society*, 128 (27): 8754-8756.
- Lafrance M, Shore D, Fagnou K, 2006. Mild and General Conditions for the Cross-Coupling of Aryl Halides with Pentafluorobenzene and Other Perfluoroaromatics. *Organic Letters*, 8 (22): 5097-5100.
- Lapointe D, Markiewicz T, Whipp CJ, Toderian A, Fagnou A, J. 2011. Predictable and Site-Selective Functionalization of Poly(hetero)arene Compounds by Palladium Catalysis. *The Journal of Organic Chemistry*, 76 (3): 749-759.
- Lentijo S, Aullon G, Miguel JA, Espinet P, 2013. Highly Fluorescent Complexes with Gold, Palladium or Platinum Linked to Perylene Through a Tetrafluorophenyl Group. *Dalton Transactions*, 42: 6353-6365.
- Li H, Sun C-L, Yu M, Yu D-G, Li B-J, Shi Z-J, 2011. The Catalytic Ability of Various Transition Metals in the Direct Functionalization of Aromatic C-H Bonds. *Chemistry A European Journal*, 17 (13): 3593-3597.
- Li JJ, Gribble GW, 2000. *Palladium in Heterocyclic Chemistry*. Pergamon, Amsterdam-Holland.
- Negishi E, 2002. *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis*. Wiley-Interscience, New York-USA.
- Nolan SP, 2014. *N-Heterocyclic Carbenes: Effective Tools for Organometallic Synthesis*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- Özdemir İ, Gök Y, Özeroğlu Ö, Kaloğlu M, Doucet H, Bruneau C, 2010. *N-Heterocyclic Carbenes: Useful Ligands for the Palladium-Catalysed Direct C5 Arylation of Heteroaromatics with Aryl Bromides or Electron-Deficient Aryl Chlorides*. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 12: 1798-1805.
- Rene O, Fagnou K, 2010. Room-Temperature Direct Arylation of Polyfluorinated Arenes under Biphasic Conditions. *Organic Letters*, 12 (9): 2116-2119.
- Ricci P, Krämer K, Cambeiro XC, Larrosa I, 2013. Arene-Metal π -Complexation as a Traceless Reactivity Enhancer for C-H Arylation. *Journal of American Chemical Society*, 135 (36): 13258-13261.
- Wang Y-N, Guo X-Q, Zhu X-H, Zhong R, Cai L-H, Hou X-F, 2012. Pd(OAc)₂ Catalyzed Direct Arylation of Electron-Deficient Arenes Without Ligands or with Monoprotected Amino Acid Assistance. *Chemical Communication*, 48: 10437-10439.
- Yan T, Zhao L, He M, Soule J-F, Bruneau C, Doucet H, 2014. Reactivity of 3-Substituted Fluorobenzenes in Palladium-Catalysed Direct Arylations with Aryl Bromides. *Advanced Synthesis and Catalysis*, 356 (7): 1586-1596.

Extraction of Fe(III) Ions through MDLM System Containing TOPO as Carrier

Ramazan DONAT^{1*}, Ömür DURMAZ¹

ABSTRACT: In this study, the transport and mechanism of Fe(III) ions in acidic solution were investigated by using TOPO as carrier dissolved in kerosene with multi-drop membrane system. The parameters which are important in the transport of Fe(III) ions and their effects on the extraction process have been studied. These parameters are the effects of concentration of HCl solutions of donor phase, concentration of NaCl solutions of acceptor phase, concentration of TOPO solution of organic phase, transfer rate of organic phase, and temperature of the system. The optimum conditions for extraction of Fe(III) ions was conducted as 2.00 M of HCl and 100 mgL⁻¹ Fe(III) ions for donor phase, 1.5x10⁻² M of TOPO, 2.00 M NaCl of acceptor phase, 50 mLmin⁻¹ of flux rate at 298.15 K. Over time, the reduction curves of the Fe(III) ions in the donor phase showed good agreement with the experimental data on the organic and acceptor phases. The activation energy was determined as 25.79 kJmol⁻¹ and the extraction of Fe(III) ions was carried out by an intermediated-controlled process.

Keywords: Iron, MDLM system, Extraction, TOPO

¹ Ramazan DONAT (**Orcid ID:** 0000-0002-5701-5030), Ömür DURMAZ (**Orcid ID:** 0000-0002-5390-9352), Pamukkale University, Faculty of Science and Arts, Chemistry Department, 20070 Denizli, TURKEY

*Sorumlu Yazar: Ramazan DONAT, e-mail: rdonat@pau.edu.tr

Bu çalışma Ömür DURMAZ'ın Doktora tezinin bir bölümüdür. Makale 05-08/06/2014 tarihleri arasında Denizlide düzenlenen IV. Fiziksel Kimya Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Geliş tarihi / *Received:*09.11.2018
Kabul tarihi / *Accepted:*20.02.2019

INTRODUCTION

Iron, Fe(II) and Fe(III) ions are found in different rock and soil minerals and are the fourth most abundant element of the earth's crust (Bagheri, et al., 2000). Iron is one of the most indispensable trace elements for the human body can be found in many enzymes, proteins structure, and acts as cofactor for many cellular metabolism reactions. Iron helps to transport oxygen to all tissues by forming hemoglobin, and deficiencies and excesses in the human body result in various pathological disorders (Nandre et al., 2014).

Iron plays a role in photosynthesis and important growth nutrients for phytoplankton in the open ocean. Totally dissolved iron in natural water systems varies from 0.20 nmolL^{-1} on the ocean surface to $400 \text{ } \mu\text{molL}^{-1}$ in polluted urban areas (Bagheri, et al, 2000). Unlike to other fundamental trace elements the human body has capability to bank excess iron to use whenever required, whereas an excess exposure to iron becomes highly toxic because of the formation of reactive oxygen intermediates that result in peroxidative harm to vital cellular structures (Alguacil et al., 2010).

Precipitation as jarosite, goethite or hematite is a general method for the removal of Fe(III) ions from aqueous solutions, solvent extraction is also used for the same purpose (Pośpiech et al., 2005). Among them, membrane technologies especially liquid membranes show their importance (Alguacil and Alonso, 2000).

The separation technique that is still developing today is a technique based on liquid membranes. The liquid membrane emulsion technique is known as a double emulsion system. This technique provides a wide and potential range of applications due to its characteristics, such as ease of operation, relatively cheap and efficient operational costs (extraction and back-extraction stages in one stage) with high selectivity, and requires a fast extraction time (Hamzah et al., 2011). This technique has been used by many researchers in the separation

(extraction) of various types of compounds and metals (Matsumoto, 1998; Djunaidi and Haris, 2003; Kargari et al., 2004; Othman et al., 2006; Gheorge et al., 2008; Kondo and Basuki, 2008; Praipruke et al., 2012). The extraction mechanism of the liquid membrane technique is that the molecule or ion to be extracted is initially in the external phase and diffuses to the internal phase through the membrane phase with the aid of the solute carrier molecule (chelating) in the membrane phase.

Fe(III) ions can be transported by using different organic carrier for liquid membrane systems such as organophosphorus acid derivatives of di-(2-ethylhexyl) phosphonic acid (PC-88A) and di-(2-ethylhexyl) phosphoric acid (D₂EHPA) (Jayachandran and Dhadke, 1997; Lupi and Pilone, 2000; Biswas and Begum, 2001). The neutral carriers used are methyl isobutyl ketone (MIBK), tributyl phosphate (TBP), trioctyl phosphine oxide (TOPO), and Cyanex 923 (Saji et al., 1999; Alguacil and Martinez, 2000; Gupta et al., 2001; Saji and Reddy, 2001; Fu et al., 2004.). Especially, TOPO is applied for supported liquid membrane system (Alguacil and Alonso, 2000).

The multi-drop liquid membrane (MDLM) system is one of the liquid membrane techniques. In the recent years, the extraction of heavy metals by MDLM system has been the subject of many studies. Contribution in this regard has been made by many researchers who have extracted number of heavy metal ions, such as Th(IV) (Tavşan, 2012), Cu(II) (Donat et al. 2017, Eyice, 2013), Mo(VI) (Donat et al., 2015) U(VI) (Erden et al., 2015), Pb(II) (Durmaz and Donat, 2016), Cr(VI) (Tuncay, 2017), Cd(II) (Donat and Eyice, 2018), Zn(II) (Erden and Donat, 2018), Mn(II) (Donat et al., 2018) and Fe(III) (in this study). MDLM technique is the most popular membrane system and has been used with great success.

The present investigation covers the single extraction of Fe(III) ions over different

temperatures, pH of donor phase, concentrations of acceptor phase and organic carrier from a dilute aqueous solution across MDLM system with TOPO as organic carrier. This MDLM technique involves the extraction of Fe(III) ions across the organic membrane via their concentration gradient by a suitable carrier dissolved in a water immiscible organic diluent that is kerosene for this study.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals and solutions used in the study

Refined kerosene (supplied by indigenously Turkish Petroleum Refineries Company) was used as diluent to obtain the desired concentrations of TOPO organic carrier. Iron(III) nitrate, TOPO, potassium thiocyanide, and all other chemicals were obtained from Merck.

Stock solution of 500 mgL^{-1} Fe(III) ions was prepared by $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, and respectively and diluted to the required concentrations when necessary. 0.10 M KSCN

was prepared by dissolving 2.43 g in water and made up to 250 mL $7.50 \times 10^{-3} \text{ M}$ TOPO was diluted by kerosene from the stock solution. 2.00 M of HCl in donor phase and 2.00 M of NaCl solution in acceptor phase was applied.

Procedure

The MDLM system was designed by Pamukkale University academics Halil Cetişli and Ramazan Donat. The scheme of MDLM system is shown in Fig. 1. The porous glass was applied to the bottom of the reactor for a more homogeneous distribution of the droplets. The organic phase is circulated in both reactors with a peristaltic pump and forms multi droplets through the pores under both reactors. The organic phase passes from either phase as bubbles and mixes the donor and acceptor phase. The organic ligands carry target metals from donor phase to stripping phase, leave it there and then turn back to donor phase again in order to re-carry the target metals (Donat et al., 2015; Erden et al., 2015).

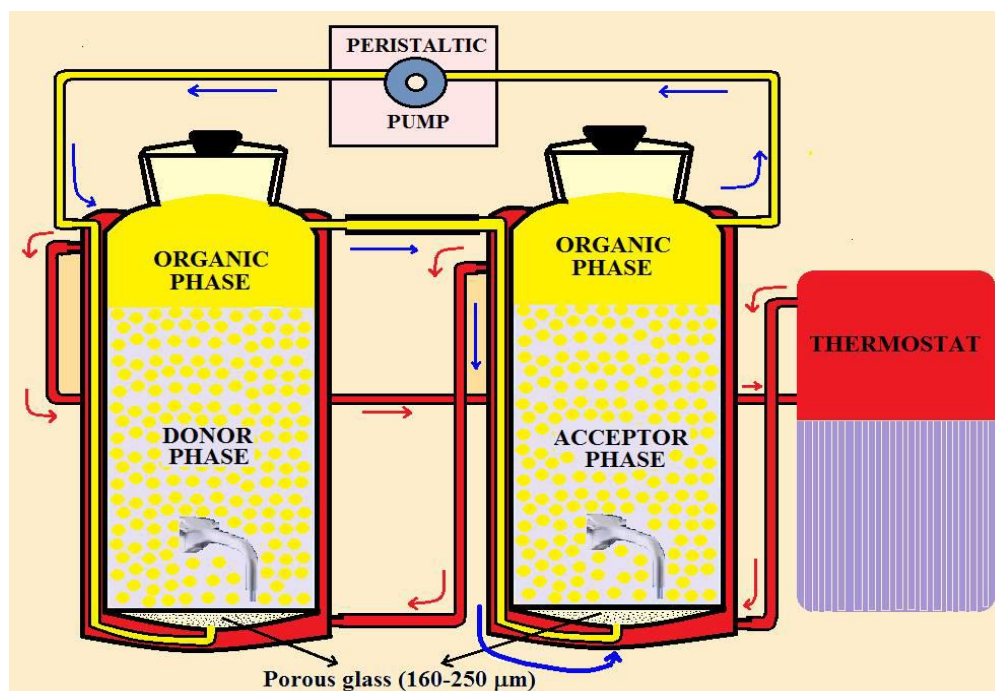


Figure 1. Picture of the measuring set with flowing MDLM.

CircuWCR P8 Wise model refrigerated bath circulator was used to keep the temperature constant of MDLM system. BT30-2J model peristaltic pump device was used to transport and flow the organic phase through the donor and acceptor phase.

Kinetic analysis

The kinetics of transport was investigated by the model used, where the reduced concentration were used. For practical reasons, the donor (C_d), organic (C_m) and acceptor (C_a) symbols were used for the Fe(III) ions in the excess of MDLM system ($C_o = C_d + C_m + C_a$ obviously being unity).

Where C_o is initially concentration of Fe(III) ions. C_d , C_m and C_a indicate the Fe(III) ions concentrations in the donor, organic and acceptor phases at time ($t > 0$).

Transport of Fe(III) ions obeys the kinetics law of two consecutive irreversible first-order reactions according to the kinetic scheme (Patel et al., 2009).



where the symbols of C_D , C_M , and C_A are Fe(III) ions in the donor, organic, and acceptor phases, respectively (Donat et al., 2015).

The integrated forms of C_d , C_m and C_a are given in equilibrium (2-4).

$$C_d = C_o \cdot e^{-k_1 t} \quad (2)$$

$$C_m = C_o \left(\frac{k_1}{k_2 - k_1} \right) (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) \quad (3)$$

$$C_a = C_o \left[1 - \frac{k_2 e^{-k_1 t} - k_1 e^{-k_2 t}}{k_2 - k_1} \right] \quad (4)$$

According to Eq. (5), the value of C_m in experimental studies increases at first, then decreases with time. Furthermore C_m value has a maximum which allows for the calculation of maximum values of Fe(III) ions concentration in the organic phase and time, according to the following equations.

$$t_{\max} = \ln(k_1/k_2)/(k_1 - k_2) \quad (5)$$

C_B^{\max} values at that time period.

$$C_B^{\max} = C_o \left(\frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{k_2}{k_1 - k_2}} \quad (6)$$

When equations (5) and (6) are combined, the following equation can be obtained:

$$k_2 = -\ln(C_m^{\max}/C_o)/t_{\max} \quad (7)$$

By considering the first-order time differentiation of equations(2-4) at $t = t_{\max}$, one obtains (Patel et al., 2009);

$$\left(\frac{dC_d}{dt} \right)_{\max} = -k_1 \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{-k_1/(k_1 - k_2)} \equiv J_d^{\max} \quad (8)$$

$$\left(\frac{dC_B}{dt} \right)_{\max} = 0 \quad (9)$$

$$\left(\frac{dC_a}{dt} \right)_{\max} = -k_2 \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{-k_2/(k_1 - k_2)} \equiv J_a^{\max} \quad (10)$$

The maximum membrane input (J_d^{\max}) and output (J_a^{\max}) fluxes values are equal to each other but have reverse signs:

$$J_a^{\max} = -J_d^{\max} \quad (11)$$

The process of achieving complex transition states requires energy supplied from outside the system. This energy is called the activation energy. In both endotherm and exothermic reactions, both have a positive activation energy, since the complex transition state has a higher energy level than the reactant.

The kinetics of extractions throughout the MDLM system is defined as a first order reaction in the metal ion concentration (Erden et al., 2015):

$$\ln(C_o/C_e) = kt \quad (12)$$

where C_o is the initial concentration of Fe(III) ions and C_e is the Fe(III) ions concentration at a given time in the donor phase respectively. The k values were determined by the plots of $\ln(C_o/C_e)$ vs. time.

The activation energy values were obtained from the Arrhenius equation by using the membrane input or output flux values at the different temperature. The following arranged version of the equation.

$$\ln \pm J_{d,a}^{max} = \ln(A) - (E_a/RT) \quad (13)$$

where J is the rate constant, A is the frequency factor, E_a is the activation energy, $R = 8.314 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ is the gas constant, and T is the Kelvin temperature.

Determination of the percentage of extraction of Fe(III) ions successfully extracted into the organic phase, then measured the amount of Fe(III) ions still dissociated in the external phase using the spectrophotometer. To know the percentage of extraction of Fe(III) ions obtained in this research used equation (14) as follows:

$$E, \% = \frac{[Fe(III)]_{ini} - [Fe(III)]_{fin}}{[Fe(III)]_{ini}} \times 100 \quad (14)$$

where $E, \%$ = percent extraction; $[Fe(III)]_{ini}$ = initial concentration of Fe(III) in the donor phase and $[Fe(III)]_{fin}$ = the final concentration of the Fe(III) ions in the acceptor phase (Donat et al., 2015; Erden et al., 2015).

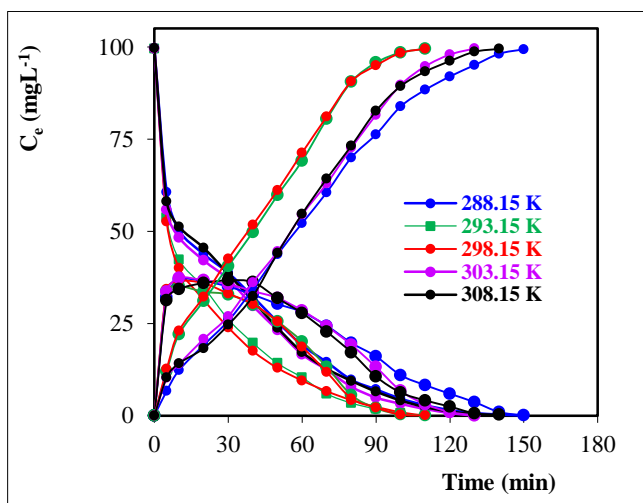


Figure 2. Concentrations of Fe(III) ions in the donor, acceptor, and organic phases versus time for the experiments carried out at different temperature.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of temperature on extraction of Fe(III) ions

The MDLM system used throughout this extensive experimental part consisted of 100 mL of donor, organic and acceptor phase, 100 mgL^{-1} of Fe(III) ions and 2.00 M of HCl solution at donor phase, 2.00 M of NaCl solution as acceptor phase and $7.50 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ of kerosene diluted TOPO as organic phase. The transfer rate of TOPO dissolved in kerosene from donor phase to acceptor phase was adjusted to 50 mLmin^{-1} . The batch experiment was accomplished at five different temperatures being adjusted by creosote device as 288.15, 293.15, 298.15, 303.15, and 308.15 K. Concentration of Fe(III) ions for donor, organic and acceptor phase solutions versus time plot is highlighted in Fig. 2. The change of $\ln(C_o/C_e) \sim$ time plots is illustrated in Fig. 3.

The recovery efficiency of Fe(III) ions at five temperatures (288.15-308.15K) was obtained 99.94, 99.95, 99.95, 99.96 and 99.75%, respectively. Duration varied for different temperatures(288.15-308.15K) as 150, 110, 110, 130, and 140 min, respectively.

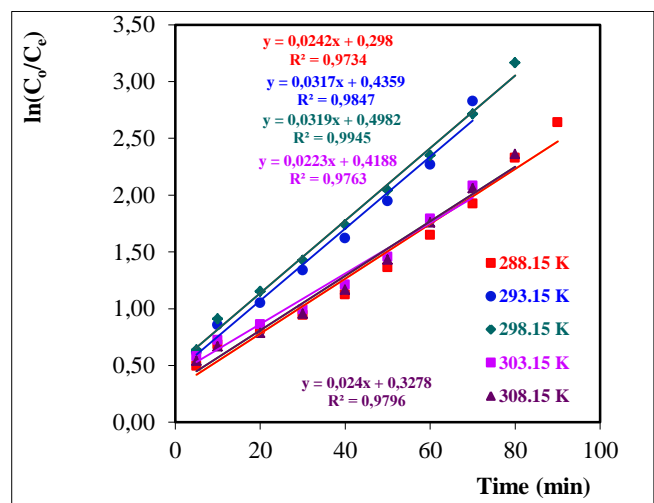


Figure 3. Plots of $\ln(C_o/C_e)$ vs. time t for the transport of Fe(III) ions through the MDLM system at five different temperatures.

Based on the data given in Table 1, reaction rate constant(k_1) differed for varying temperatures (288.15-308.15 K) as 2.42×10^{-2} , 3.17×10^{-2} , 3.19×10^{-2} , 2.23×10^{-2} , and $2.40 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, respectively. k_1 (stands for the reaction rate constant of the reaction takes place at the interface of donor and organic phase) and k_2 (stands for the reaction rate constant of the reaction takes place at the interface of acceptor and organic phase) elevates due to temperature rise until the temperatures reached to 303.15 K. Moreover, half-life of the reaction and flux rates of donor and acceptor phases (J_d^{\max} and J_a^{\max})

likewise varied with k_1 and k_2 for rising temperature. The change of viscosity of three phases and the rise of mobility of Fe(III) ions may cause the discrepancy between the data based on 288.15-298.15 K and 303.15-308.15 K. Furthermore, less contact time of organic phase with donor and acceptor phases at higher temperatures may drive the extension of stripping time.

Comparative kinetic parameters of the stripping process of Fe(III) ions via MDLM system at five different temperatures is exhibited in Table 1.

Table 1. Kinetic parameters of the stripping process of Fe(III) ions via MDLM at five temperatures.

Temp. (K)	$k_1 \cdot 10^2 (\text{min}^{-1})$	$k_2 \cdot 10^2 (\text{min}^{-1})$	$t_{1/2} (\text{min})$	$C_m^{\max} (\text{mgL}^{-1})$	$J_d^{\max} \cdot 10^3 (\text{min}^{-1})$	$J_a^{\max} \cdot 10^3 (\text{min}^{-1})$
288.15	2.42	7.20	28.63	13.00	39.01	-13.93
293.15	3.17	7.82	21.86	12.20	38.35	-17.12
298.15	3.19	12.51	21.72	8.00	36.56	-19.98
303.15	2.23	9.80	31.07	10.00	37.35	-14.42
308.15	2.40	3.33	28.87	30.00	36.69	-10.31

Based on the literature, a process of which activation energy is less than 20 kJmol^{-1} is referred as diffusion-controlled, between 20 kJmol^{-1} and 50 kJmol^{-1} as intermediated-controlled, and more than 50 kJmol^{-1} as chemical reaction-controlled (Chang et al., 2011). Eq. (13) is used for the determination of activation energy. The activation energy of the transportation process by the help of maximum output rates (J_a^{\max}) and input (J_d^{\max}) and whether

the transportation is diffusion controlled or chemically controlled (Lazarova Z, Boyadzhiev, 1993; Kobya et al., 1997). Activation energy was found out by the slope of J_a^{\max} versus $1/T$ plot that is given in Fig. 4. The activation energy for transportation of Fe(III) ions was calculated as 25.79 kJmol^{-1} and this transportation process was found to be intermediate-control process (Erden et al., 2015).

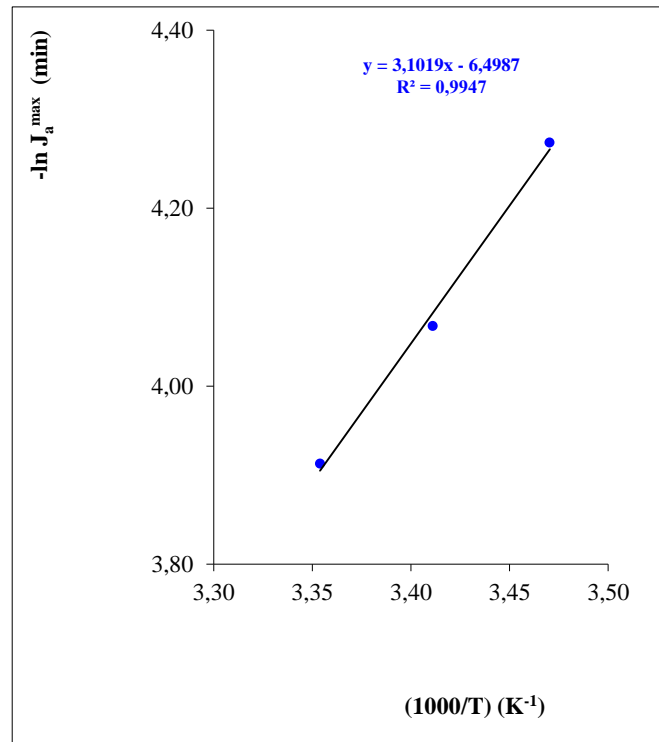


Figure 4. Maximum output rates versus $1/T$ graph.

The effect of HCl concentration in the donor phase

The extraction behavior of Fe(III) ions by TOPO across MDLM system was investigated through different concentrations (0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, and 3.00 M) of HCl solution of donor phase at 298.15 K. The extraction was performed through the concentration of acceptor phase as 2.00 M NaCl, concentration of TOPO as 7.50×10^{-3} M, the volume of feed, organic and stripping solutions as 100 mL and the transfer rate of the peristaltic pump fixed as 50 mLmin^{-1} .

Fe(III) concentration of feed, membrane and acceptor phase solutions against time plot is reported in Fig. 5. Data based on different HCl concentration of donor phase are applied to plot concentrations of Fe(III) ions versus time graphs

by the help of each concentration of Fe(III) ions in the donor, organic and acceptor phase.

According to the Eq. (14), extraction efficiency of Fe(III) ions for different HCl concentrations is over 99% and extraction time for different HCl concentrations (0.50-3.00 M) is 160, 140, 130, 110, 100, and 90 min, respectively. The extraction and stripping of the Fe(III) ions treatments conforms to the successive first-order reaction kinetics according to the change of $\ln(C_o/C_e)$ with the time plots plotted in Figure 6.

For six different concentrations of HCl solution (0.50-3.00 M) in donor phase, k_1 is 1.69×10^{-2} , 2.01×10^{-2} , 2.16×10^{-2} , 3.16×10^{-2} , 3.47×10^{-2} , and $3.89 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, respectively. Increasing concentration also elevated the k_1 values.

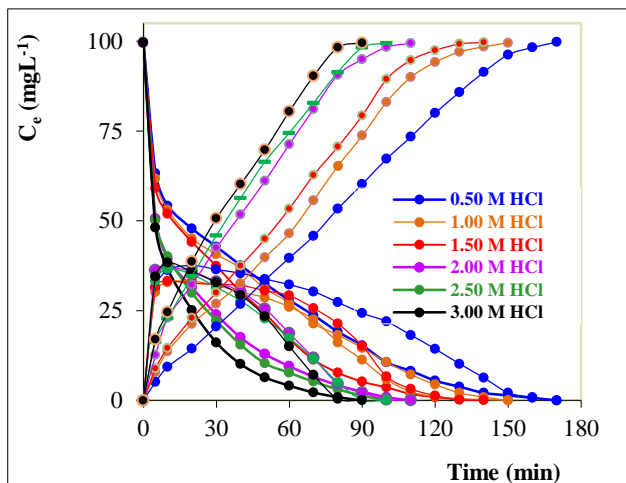


Figure 5. Graph of change of extraction of Fe(III) ions from different HCl concentration in donor phase against time.

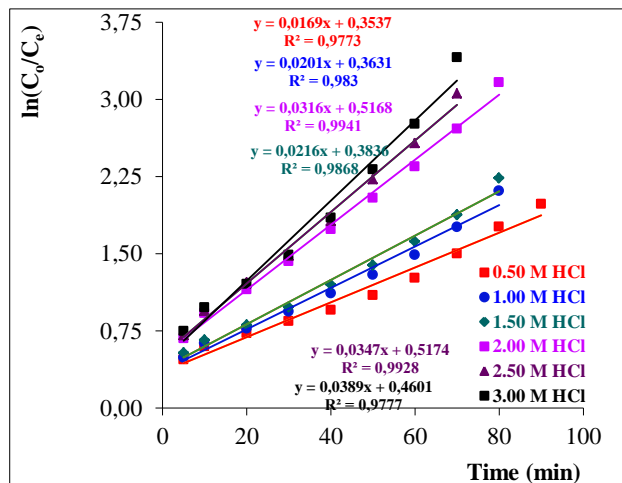
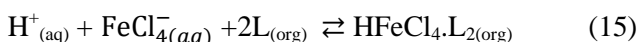


Figure 6. $\ln(C_o/C_e)$ versus time plots for the single extraction studies of Fe(III) ions through MDLM system at different HCl concentrations of donor phase.

According to these results, the transport and recovery of higher Fe(III) ions can be obtained effectively at any HCl concentration.

Alguacil et al., 2000, extracted Fe(III) ions by using different concentrations (0.20, 0.80, and 2.00 M) of HCl solution in the donor phase and rising HCl concentration increased the retrieval of Fe(III) ions. Highest extraction was observed at 2.00 M HCl solution and at the interface of the donor and organic phase, the reaction given below occurred.



Mechanism of the extraction is illustrated in Fig. 7.

The effect of NaCl concentration in the acceptor phase

The stripping process of the transportation of Fe(III) ions plays an important role to complete the extraction. The NaCl in the stripping solution functioned as a back-extractant.

The effect of the acceptor phase concentration on the extraction of Fe(III) ions was carried out by changing the NaCl concentration from 0.50 to 3.50 M. The other parameters are kept constant during experiments.

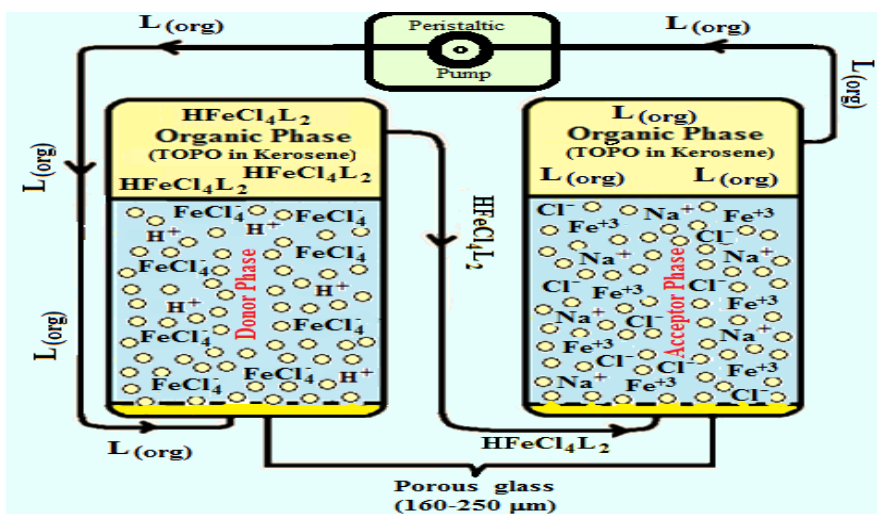


Figure 7. Diagram of transport mechanism of Fe(III) ions in MDLM system

Fig. 8 shows the kinetic profiles of each phase at different NaCl concentrations. Extraction efficiency of Fe(III) ions at different

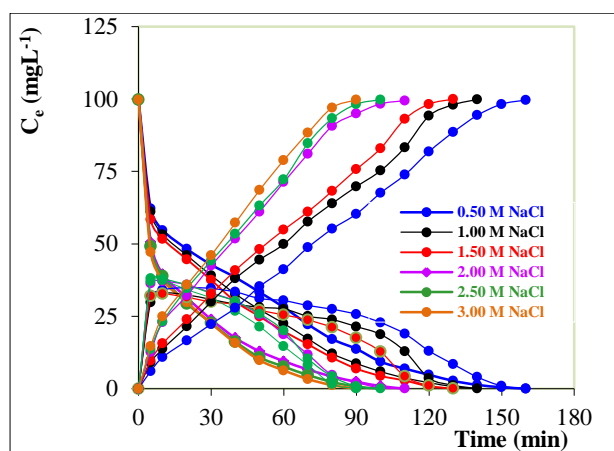


Figure 8. Time evolution of donor, organic acceptor phase for Fe(III) extraction through MDLM on different NaCl concentrations in acceptor phase.

$\ln(C_o/C_e)$ vs time plots are illustrated in Fig. 9. When the concentration of NaCl was 0.50-3.50, by changing transfer time (from 0 to 90 min) measured the natural logarithm of the ratio of initial concentration (C_o) to given time concentration (C_e) of Fe(III) the kinetic curve can be obtained (see Fig. 9)(Erden et al.,2015). $\ln C_o/C_e \sim t$ curve line is a good straight line respectively, this shows that the concentration of chlorine ions in the stripping solution don't interfere.

Time of extraction for different receiving phase concentration (0.50-3.00 M NaCl) is 170, 150, 140, 110, 100, and 90 min, respectively. It can be concluded that the rise of NaCl concentration in the acceptor phase accelerates rate of Fe(III) ions extraction marginally. Hereby, best results are obtained at 2.00 M NaCl in the acceptor phase.

The effect of the concentration of TOPO on Fe(III) transport

To analysis the effect of the TOPO carrier concentration in the organic solution of the pseudo-emulsion phase, several experiments were performed using Comesaña et al., 2011)

acceptor phase concentration (0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 and 3.00 M NaCl) is 99.96, 99.98, 99.90, 99.95, 99.97, and 99.95%, respectively.

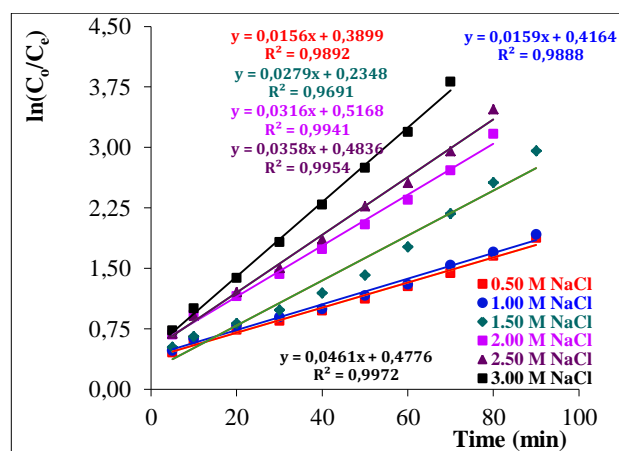


Figure 9. The graph of the extraction kinetics of Fe(III) ions for experiments performed at different NaCl concentrations (0.5-3.0 M).

donor phase of 100 mgL^{-1} Fe(III) in 2.0 molL^{-1} HCl and strip solutions of 2.00 M NaCl and organic solutions of TOPO carrier (3.75×10^{-3} , 7.50×10^{-3} , 1.125×10^{-2} , and $1.50 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$) in kerosene. The effect of the concentration of TOPO in the organic phase on the extraction of Fe(III) ions is shown in Figure 10. Furthermore, $\ln(C_o/C_e)$ vs time plots are illustrated in Fig.11.

According to Figure 11, the extraction and elution of Fe(III) in the different acceptor phase concentration processes conforms to the successive first order reaction kinetics. Extraction efficiency of Fe(III) ions at different extractant concentration (3.75×10^{-3} , 7.50×10^{-3} , 1.125×10^{-2} , and $1.50 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$) is 99.95, 99.98, 99.96, and %99.97, respectively. Time of extraction for different TOPO concentration in kerosene (3.75×10^{-3} - $1.50 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$) is 140, 100, 90, and 80 min, respectively. For four different concentrations of TOPO solution (3.75×10^{-3} - $1.50 \times 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$) in donor phase, k_1 is 1.72×10^{-2} , 3.49×10^{-2} , 3.41×10^{-2} , and $3.85 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, respectively. When the concentration of TOPO was $>3.75 \times 10^{-3}$ the transport of Fe(III) would decrease with transfer time.

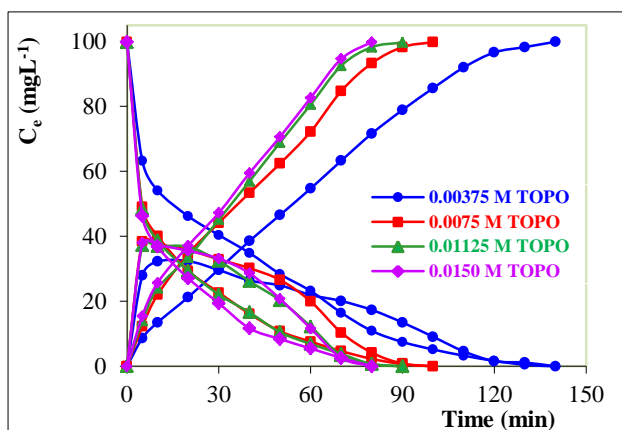


Figure 10. The effect of TOPO concentration in the organic phase on the percent extraction of Fe(III) ions.

Extraction efficiency of Fe(III) ions rises with increasing TOPO concentration. However, some deviations were observed in k_1 values. This may be caused by decreasing the complexation amount of Fe(III) ions with TOPO in the donor phase as passing through or stripping of Fe(III) ions could be slowed down the reaction in the acceptor phase. Thus, 3.75×10^{-3} M TOPO concentration for the next parameter was chosen as the most suitable carrier concentration.

We can conclude that the carrier concentration in the organic phase has very important effect on the transport of Fe(III) ions from MDLM system, especially at transport times and flux rates.

CONCLUSION

Based on the results of the research that has been done, some conclusions can be drawn:

MDLM technology can be used to extract Fe(III) ions in solution.

The optimum condition that is obtained to extract Fe(III) ions from the feed solution to obtain >99% efficiency are hydrochloric acid concentrations in 2.00 M donor phase, the concentration of TOPO in the organic phase 1.5×10^{-2} M, NaCl concentrations in 2.00 M acceptor phase, 50 mLmin^{-1} of flux rate at 298.15 K.

As a result; The TOPO ligand has been found to be an effective carrier ligand for the

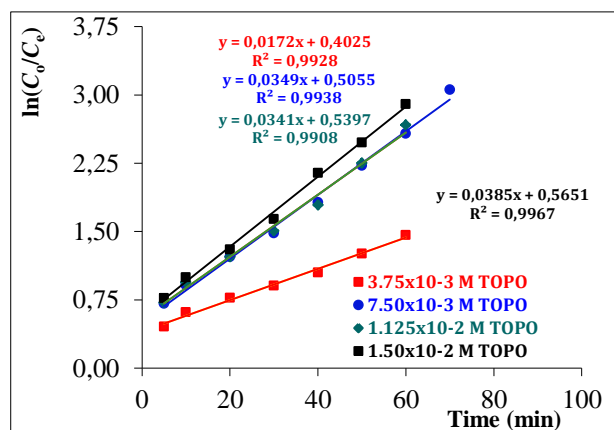


Figure 11. Plots of $\ln(C_o/C_e)$ vs. time t for the transport of Fe(III) ions through the MDLM system at different carrier concentrations.

transport and recovery of Fe(III) ions. In addition, in the separation and purification of heavy metals, it has been determined that the system is more economical, modular and simple compared to other methods, and it can be used to recover metal ions in optimal conditions in a short time.

REFERENCE

- Alguacil, FJ, Alonso M, 2000. Iron(III) transport using a supported liquid membrane containing Cyanex 921. Hydrometallurgy, 58:81–88.
- Alguacil FJ, Martinez S, 2000. Permeation of iron(III) by an immobilised liquid membrane using Cyanex 923 as mobile carrier. Journal of Membrane Science, 176: 249–255.
- Alguacil FJ, Alonso M, Lopez FA, Lopez-Delgado A, Padilla I, Tayibi H, 2010. Pseudo-emulsion based hollow fiber with strip dispersion pertraction of iron(III) using (PJMTH₂)₂(SO₄²⁻) ionic liquid as carrier. Chemical Engineering Journal, 157:366–372.
- Bagheri H, Gholami A, Najafi A, 2000. Simultaneous preconcentration and speciation of iron(II) and iron(III) in water samples by 2-mercaptobenzimidazole-silica gel sorbent and flow injection analysis system. Analytica Chimica Acta, 424:233–242.

- Balkaya T, 2017. Çok Damlacıklı Sıvı Membran ile Dikromat iyonu ekstraksiyonunun incelenmesi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Basuki KT, 2008. Mathematical modeling for the extraction of uranium and molybdenum with emulsion liquid membrane, including industrial application and cost evaluation of the uranium recovery. *Jurnal Forum Nuklir*, 2(1):63-87.
- Biswas RK, Begum DA, 2001. Kinetics of stripping of Fe^{3+} -D2EHP complexes from D2EHPA-kerosene phase by aqueous $\text{HCl}-\text{Cl}^-$ phase using the single drop technique. *Hydrometallurgy*, 60:81-97.
- Chang SH, Teng TT, Norli I, 2011. Cu(II) transport through soybean oil-based bulk liquid membrane: Kinetic study". *Chemical Engineering Journal*, 173:352-360.
- Comesaña A, Rodriguez-Monsalve J, Francisco AC, Alguacil J, 2011. Non-dispersive solvent extraction with strip dispersion (NDSXSD) pertraction of Cd(II) in HCl medium using ionic liquid CYPHOS IL101. *Chemical Engineering Journal*, 175(15):228-232.
- Djunaidi MC, Haris A 2003. Pemisahan logam berat menggunakan membran cair berpendukung dengan variabel konsentrasi ion logam dan ph fasa umpan. *Jurnal Kimia Sains & Aplikasi*, 6(2):1-4.
- Donat R, Durmaz Ö, Cetişli H, 2015. Transportation and kinetic analysis of Mo(VI) ions through a MDLM system containing TNOA as carrier. *Journal of Hazardous Materials*, 294:17-26.
- Donat R, Durmaz Ö, Cetişli H, 2017. The kinetic analysis of optimization and selective transportation of Cu(II) ions with TNOA as carrier by MDLM system. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 25(4):415-425.
- Donat R, Eyice Mİ, 2018. Extraction of Cd^{2+} ions from MDLM System with TNOA carrier. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 4:467-477.
- Donat R, Kunter A, Cetişli H, 2018. Mn^{2+} İyonlarının Kerozen İçinde Çözünmüş DİODFA ile geri kazanımı. 13. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, 03-06 EYLÜL 2018, Van.
- Durmaz O, Donat R, Cetişli H, 2016. Transportation of Pb(II) ions with D2EHPA as Carrier by MDLM System. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 5(12):47-56.
- Erden KE, Donat R, Aytaş Ş, 2015. Simultaneous Extraction and Stripping of Uranium Ions via Multi-Dropped Liquid Membrane System. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 88:1902-1912.
- Erden KE, Donat R, 2018. Transportation and kinetic analysis of Zn(II) ions via MDLM system containing D2EHPA as carrier, *Membrane Water Treatment*, 19(1):23-31.
- Eyice Mİ, 2013. Emülsiyon Sıvı Membran Tekniği ile Cu^{2+} ve Cd^{2+} İyonlarının Ekstraksiyonunun İncelenmesi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Fu X, Yu L, Lin Y, Zhu H, Wang H, Zhou X, 2004. Structure Adjustment of Mesoporous ZrO_2 Prepared with the Middle Phase Formed in Extraction Systems. *Solvent Extraction and Ion Exchange*, 22(5):885-895.
- Gheorge A, Stoica A, Floarea O, 2008. Emulsion liquid membranes stability. *Universitatea Politehnica Bucuresti Scientific Bulletin*, 70(3):23-30.
- Gupta VK, Gupta M, Sharma S, 2001. Process development for the removal of lead and chromium from aqueous solutions using red mud-an aluminium industry waste. *Water Research*, 35:1125-1134.

- Hamzah B, Jalaluddin N, Wahab AW, Upe A, 2011. Pengaruh ion kadmium(II) dan nikel(II) pada ekstraksi ion tembaga(II) dengan ekstrak 4-benzoil -1-fenil-3-metil-2-pirazolin-5-on menggunakan emulsi membran cair. *Natur Indonesia*, 13(3):269-275.
- Jayachandran J, Dhadke PM, 1997. Liquid-liquid extraction separation of iron (III) with 2-ethyl hexyl phosphonic acid mono 2-ethyl hexyl ester. *Talanta*, 44(7):1285–1290.
- Kargari A, Kaghazchi T, Sohrabi M, Soleimani M, 2004. Batch extraction of gold(III) ions from aqueous solutions using emulsion liquid membrane via facilitated carrier transport. *Membrane Science*, 233(1-2):1-10.
- Koby M, Topçu N, Demircioğlu N, 1997. Kinetic analysis of coupled transport of thiocyanate ions through liquid membranes at different temperatures". *Journal of Membrane Science*, 130:7–15.
- Kondo K, Matsumoto M, 1998. Separation and concentration of indium(III) by an emulsion liquid membrane containing diisostearylphosphoric acid as a mobile carrier. *Separation and Purification Technology*, 13(2):109-115.
- Lazarova Z, Boyadzhiev L, 1993. Kinetic aspects of copper(II) transport across liquid membrane containing LIX-860 as a carrier. *Journal of Membrane Science*, 78:239–245.
- Lupi C, Pilone D, 2000. Reductive stripping in vacuum of Fe(III) from D2EHPA. *Hydrometallurgy*, 57:201–207.
- Nandre KP, Puyad AL, Bhosale SV, Bhosale SV, 2014. A novel donor-acceptor receptor for selective detection of Pb(2+) and Fe(3+) ions. *Talanta*, 130C:103–107.
- Othman N, Mat H, Goto M, 2006. Separation of silver from photographic wastes by emulsion liquid membrane system. *Membrane Science*, 282(1-2):171-177.
- Patel B, Kumar A, Menon SK, 2009. Liquid Membrane Transport Kinetics of Hg(II) by Dithio Derivatized Macrotricyclic Compound. *Journal of Macromolecular Science R, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 46:1151–1155.
- Pośpiech B, Walkowiak W, Woźniak MJ, 2005. Application of TBP in selective removal of iron(III) in solvent extraction and transport through polymer inclusion membranes processes. *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, 39:89–98.
- Praipruke S, Kriausakul K, Tantayanon S, 2012. Extraction of palladium from acidic chloride media into emulsion liquid membranes using LIX 984N-C. *Nonferrous Metallurgy*, 1:13-22.
- Saji John K, Sajin J, Reddy MLP, Ramamohan, TR, Rao TP, 1999. Solvent extraction of titanium(IV) from acidic chloride solutions by Cyanex 923. *Hydrometallurgy*, 51:9–18.
- Saji J, Reddy MLP, 2001. Liquid-liquid extraction separation of iron(III) from titania wastes using TBP-MIBK mixed solvent system. *Hydrometallurgy*, 61:81–87.
- Tavşan E, 2012. Sıvı Membran Tekniği ile Toryumun Ekstraksiyonunun İncelenmesi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).

Hidrojen Bağlı 8OBA/ADA İkili Kompleks Sıvı Kristalin Termal ve Mikroyapısal Özellikleri

Murat SÜNKÜR^{1*}

Mustafa OKUMUŞ²

ÖZET: Bu çalışmada, mezojenik 4-oktiloksi benzoik asit (8OBA) ve mezojenik olmayan adipik asit (ADA)'in ikili kompleksinden sentezlenen yeni bir sıvı kristalin termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ve mikroyapı özellikleri polarize optik mikroskop (POM) ile incelenmiştir. 8OBA ve ADA arasında hidrojen bağının oluştuğu zayıflatılmış toplam yansıma-kızılötesi spektroskopisi (ATR-IR) ile doğrulanmıştır. Ayrıca, 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksinin kimyasal yapısı ¹H-NMR çalışmasıyla incelenmiştir. DSC ve POM sonuçları sentezlenen yeni sıvı kristal kompleksin sıvı kristalik özellikler sergilediğini göstermektedir. 8OBA/ADA ikili kompleksi, DSC ile sürekli ısıtma ve soğutma esnasında faz geçiş pikleri göstermektedir. Soğutma esnasında gözlenen smektik C fazı sürekli ısıtma esnasında gözlenmemiştir. Sürekli ısıtma esnasında elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değişim değerleri, sürekli soğutma esnasında elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değişim değerlerinden daha yüksek, fakat nematik alan daha düşüktür. Ayrıca bu değerlerin ısıtma oranına bağlılığı da araştırılmıştır. Isıtma oranı arttıkça faz geçiş sıcaklıklarının arttığı fakat entalpi değerlerinin azaldığı gözlemlenmiştir. DSC ile ölçülen faz geçiş sıcaklık değerlerinin POM ile ölçülen faz geçiş sıcaklık değerleri ile yaklaşık aynı olduğu görülmüştür. 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksin faz geçişleri için faz geçiş aktivasyon enerjileri hesaplanmıştır ve elde edilen değerler, faz sırasına göre faz geçiş aktivasyon enerjilerinin arttığını göstermiştir. Bu sonuç da 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksin faz geçişlerinin sürekli ısıtma esnasında düzenli olarak gerçekleştiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hidrojen bağlı sıvı kristaller, Termal özellikler, Mikroyapı, DSC, POM.

Thermal and Microstructural Properties of Hydrogen Bonded 8OBA/ADA Binary Complex Liquid Crystal

ABSTRACT: In this study, the phase transition temperatures and enthalpy changes of a novel liquid crystal synthesized from the binary complex of mesogenic 4-octyloxy benzoic acid (8OBA) and non-mesogenic adipic acid (ADA) were investigated by differential scanning calorimeter (DSC) and phase structures by polarized optical microscopy (POM). The hydrogen bonding that occurs between 8OBA and ADA was confirmed by attenuated total reflection- infrared spectroscopy (ATR-IR). In addition, the chemical structure of the 8OBA/ADA liquid crystal complex was studied by ¹H-NMR study. The ¹H-NMR results also showed that some chemical shifts occurred and a new liquid crystal was synthesized. According to DSC and POM results, it appears that the new liquid crystal complex synthesized exhibits liquid crystalline properties. The 8OBA/ADA binary complex shows phase transition peaks during continuous heating and cooling with DSC. The observed smectic C (SmC) phase during cooling was not observed during continuous heating. The phase transition temperature and enthalpy change values obtained during continuous heating are higher than the phase transition temperature and enthalpy change values obtained during continuous cooling, but the nematic range is lower. Also, the dependence of these values on the heating rate has been investigated. As the heating rate increased, it was seen that the phase transition temperatures increased but enthalpy values decreased. It was observed that the phase transition temperature values measured by DSC are approximately the same as the phase transition temperature values measured by POM. Phase transition activation energies for the phase transitions of the 8OBA/ADA liquid crystal complex were calculated using Kissinger, Ozawa and Takhor equations, and the values obtained indicated that the phase transition activation energies were increased relative to the phase sequence. This result shows that the phase transitions of 8OBA/ADA liquid crystal complex occur regularly during continuous heating.

Keywords: Hydrogen bonded liquid crystals, Thermal properties, Microstructure, DSC, POM.

¹ Murat SÜNKÜR (Orcid ID: 0000-0002-8513-7860), Batman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Batman, Türkiye

² Mustafa OKUMUŞ (Orcid ID: 0000-0003-0369-7686), Batman Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Batman Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Murat SÜNKÜR, e-mail: murat.sunkur@batman.edu.tr

Bu çalışma 3 Mayıs 2018 tarihinde Batman Üniversitesinde düzenlenen International Engineering and Technology Symposium' da poster olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

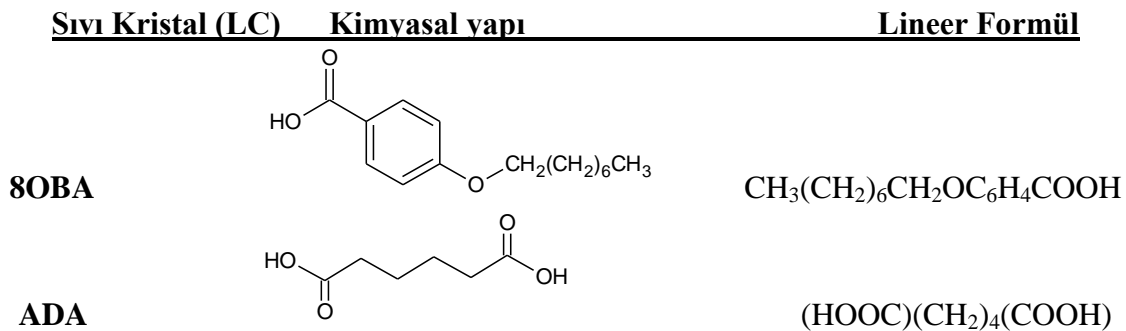
Maddenin katı fazı ile sıvı fazı arasında bir faz olan hem katı hem de sıvı faz özellikleri gösteren sıvı kristaller sıvı kristal görüntü (LCD) sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Priestley ve ark., 1975; Wang ve ark., 2002; Cook ve ark., 2005). Görüntü sistemlerinde kaliteli görüntü ve daha ekonomik görüntü sistemleri elde etmek için yeni sıvı kristal mezojenik materyaller geliştirmek, sentezlemek ve karakterize etmek çok sayıda araştırmacının her zaman ilgi odağı olmuştur (Wang ve ark., 2002; Wu ve ark., 2003; Aira ve ark., 2004). Sentezlenmiş sıvı kristal malzemelerle farklı gruplardan çeşitli kimyasalların karışımı ile sıvı kristal özellik gösteren malzemeler üretilmiş (Naoum ve ark., 2008; Muniprasada ve ark., 2012; Prabu ve ark., 2015) veya sıvı kristallerle farklı kimyasallar arasında hidrojen bağları oluşturularak yeni supramoleküler sıvı kristalik malzemeler sentezlenmiştir (Vijayakumar ve ark., 2009; Kavitha ve ark., 2012; Prabu ve ark., 2013). Hidrojen bağlı supramoleküler sistemler hem kararlı yapıda olma hem de elektrik alanda hızlıca yönlenebilme gibi ilginç özelliklere sahip olduğundan, mezojenik olan veya mezojenik olmayan, zengin faz polimorfizmi sergileyen kimyasal bileşiklerdir (Kang ve ark., 2000; Kavitha ve ark., 2012).

Sıvı kristal malzemeler termotropik ve liotropik olmak üzere ikiye ayrılırlar. Termotropik sıvı kristal malzemeler smektik, nematik veya kolesterik fazlar sergilerler. Sentezlenen kimyasal kompleks, bu fazlardan

herhangi birisini veya daha fazlasını sergilerse sentezlenen malzemeye sıvı kristalik malzeme denir. Sıvı kristalik malzemenin teknolojik uygulamalarda kullanılabilmesi için üretilen malzemenin sıvı kristal faz aralığı geniş ve uygun sıcaklık aralığında olmalı, aynı zamanda optiksel ve elektriksel özellikleri rakiplerine göre daha üstün olmalıdır. Bu çalışmamızda, üstün özelliklere sahip sıvı kristalik malzeme üretmek ve özelliklerini incelemek için üzerinde yeterli çalışma olmayan 4,n-alkiloksibenzoik asit (nOBA) ve dikarboksilik asit grubu seçilmiştir. Burada, n sabiti sıvı kristalin alkiloksi zincirindeki karbon sayısını ifade eder. 4,n-alkiloksibenzoik asit grubundan 4-(oktiloksi) benzoik asit (8OBA) ve dikarboksilik asit grubundan adipik asit (ADA) molekülleri arasında hidrojen bağı oluşturularak yeni supramoleküler kompleks sistemin termal ve mikroyapısal karakterizasyonu yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan sıvı kristal 4-(oktiloksi) benzoik asit (8OBA) ve adipik asit (ADA) % 99 saflıkla Almanya, Sigma Aldrich firmasından satın alındı. Bu iki kimyasal arasında hidrojen bağı oluşturmak için Dimetilformamit (DMF) ve dimetil sülfoksit (DMSO) çözücüleri, yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) saflık seviyesinde, kullanıldı. Satın alınan saf kimyasal malzemelerin moleküler yapıları Şekil 1'de verilmiştir.

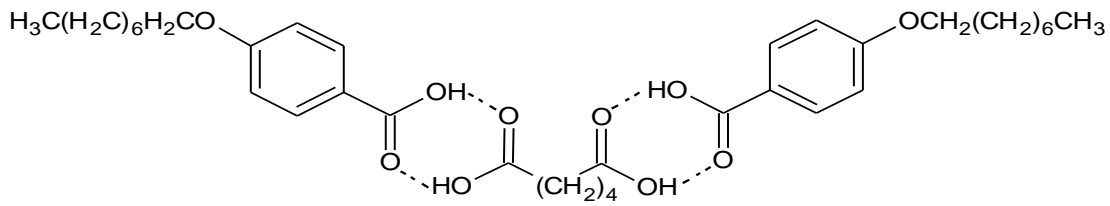


Şekil 1. Kimyasal malzemelerin yapıları ve lineer formülleri.

Hidrojen Bağlı Sıvı Kristalin Sentezi

Hidrojen bağlı 8OBA/ADA ikili kompleks mezojen, *Dimetilformamit* içinde *Adipik asidin* bir molüne karşılık iki mol *4-(oktiloksi) benzoik asit* karıştırılarak hazırlandı. İkili kompleks karışımı oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile 12 saat süreyle karıştırılarak oluşturuldu. Karıştırma işlemi sonunda yoğun çözeltide

beyaz bir çökelek oluştuğu görüldü. Çözelti içinde ortaya çıkan *Dimetilformamit* fazlalığı karışımdan uzaklaştırıldı ve *dimetil sülfoksit* ile yeniden kristallendirme işlemi yapılarak beyaz kristal yapılı saf 8OBA/ADA kompleksi sentezlendi. Sentezlenen yeni kristal kompleksin moleküler yapısı ve moleküller arası hidrojen bağ oluşumu Şekil 2’de görülmektedir.



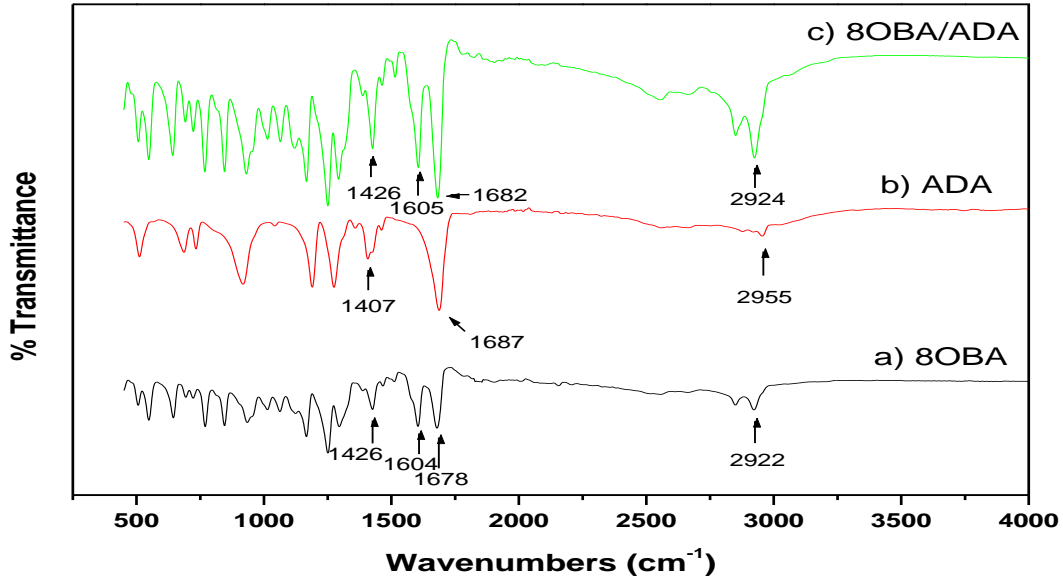
Şekil 2. 8OBA+ADA+8OBA sıvı kristalinin kimyasal yapısı

BULGULAR VE TARTIŞMA

ATR-IR Spektroskopi Çalışmaları

8OBA, ADA ve hidrojen bağlı 8OBA/ADA ikili sıvı kristal kompleksinin ATR-IR spektrumları oda sıcaklığında çözücü kullanılmadan zayıflatılmış toplam yansımakızılötesi spektroskopisi (ATR-IR) ile elde edildi ve elde edilen spektrumlar Şekil 3’te verilmiştir. 8OBA molekülünün ATR-IR spektrumu (Şekil 3a) incelendiğinde, serbest alkoksi benzoik asitler için literatürde (Nakamoto, 2009) belirtilenden farklı olarak, $\nu(\text{C}=\text{O})$ gerilmesine bağlı olarak 1678 cm^{-1} de sadece bir pik görülmektedir. Bu sonuç 8OBA sıvı kristalinin, dimer yapıda olmadığını gösterir. Benzer şekilde ADA kimyasalı da 1687 cm^{-1} de bir pik vermiştir (Şekil 3b) ve bundan dolayı ADA kimyasalı da dimer yapıda

değildir. 8OBA/ADA kompleks karışımının ATR-IR spektrumu (Şekil 3c) incelendiğinde 1426 cm^{-1} ’de görülen pik, $\nu(\text{C}=\text{O})$ ’nın gerilme titreşimleri ile eşleşmiş $\nu(\text{O}-\text{H})$ ’nın düzlem içi eğilme titreşimine atfedilir. Ayrıca 1687 cm^{-1} ’deki $\nu(\text{C}=\text{O})$ gerilmesine ait pikin 1682 cm^{-1} ’ye ve 2922 cm^{-1} ’deki $\nu(\text{O}-\text{H})$ gerilmesine ait pikin de 2924 cm^{-1} ’ye kaydığı görülmektedir. Ayrıca 8OBA ve 8OBA/ADA kompleks karışımında 1605 cm^{-1} yakınlarında gözlenen pikler ADA kimyasalında gözlemlenmemiştir. Böylece gözlemlenen $\nu(\text{O}-\text{H})$ pikleri ve $\nu(\text{C}=\text{O})$ pik kaymaları, 8OBA ile ADA molekülleri arasında bir kompleksleşmeyi ve bu kompleksin de yeni bir sıvı kristal karışım sentezi olduğunu göstermektedir.



Şekil 3: (a) 8OBA, (b) ADA ve (c) 8OBA+ADA kompleksinin ATR-IR spektrumları.

¹H-NMR Çalışmaları

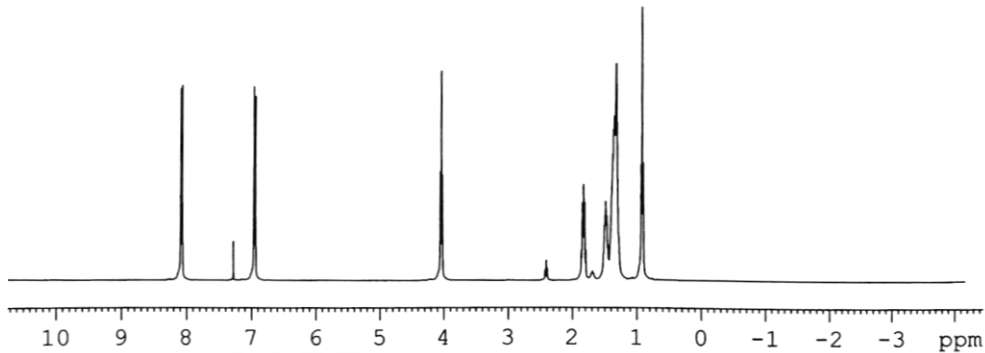
8OBA/ADA sıvı kristal kompleksinin kimyasal yapısı, çözücü olarak Döterolu kloroform (CDCl_3) kullanarak ¹H-NMR çalışmasıyla incelenmiştir. Elde edilen spektrum Şekil 4'te verilmiştir. Şekil 4'te görüldüğü gibi aşağıda sıralanan kimyasal kaymalar gözlenmiştir:

(a) Metil ve metilen protonları için yaklaşık 0.9 ile 1.9 ppm arasında geniş rezonans pikleri gözlenmiştir.

(b) 6.941–6.964 ve 8.069–8.091 ppm de iki multipl set, aromatik protonların pikleri olarak gözlenmiştir.

(c) Kompleksteki metoksi proton birimlerinin rezonansı 4.025–4.058 ppm arasındaki karakteristik piklerle gözlenmiştir.

Sonuçlar literatür (Pavia ve ark., 2007) çalışmaları ile uyumludur ve 8OBA/ADA ikili kimyasal kompleks yapısının oluştuğunu göstermektedir.

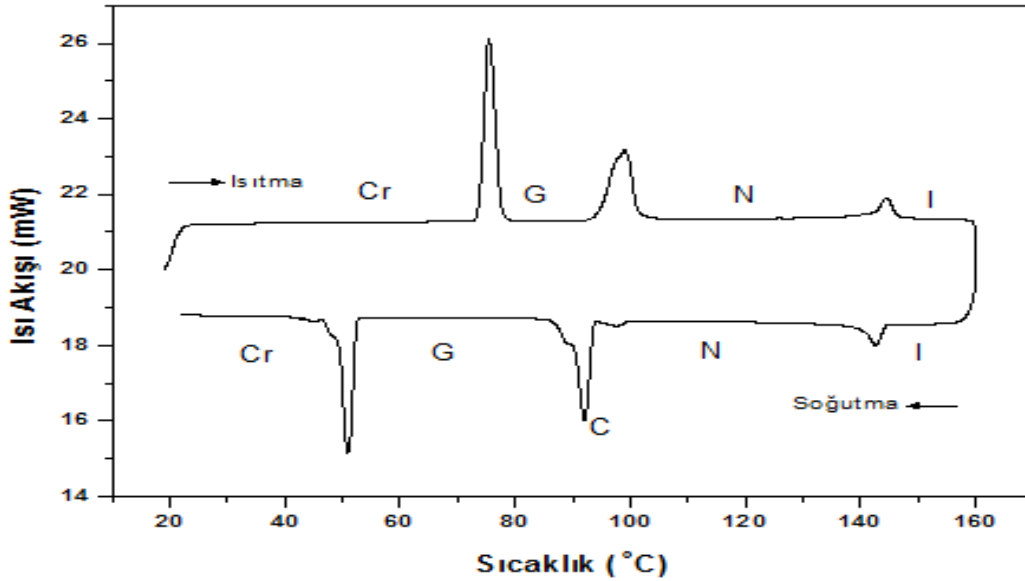


Şekil 4. 8OBA+ADA kompleksinin ¹H-NMR spektrumu (çözücü: CDCl_3).

DSC Çalışmaları

8OBA/ADA supramoleküler sıvı kristal kompleksi 1 mol 8OBA ile 2 mol ADA kimyasallarından sentezlenmiştir. Sentezlenen 8OBA/ADA ikili sıvı kristal kompleksi DSC ile 20 °C'den 160 °C'ye kadar 5 °C dak⁻¹ ısıtma oranında ısıtıldı. Tamamen termal dengenin sağlanması için 160 °C sıcaklıkta 2 dakika bekletildikten sonra 5 °C dak⁻¹ soğutma oranında tekrar 20 °C'ye kadar soğutuldu. Sürekli ısıtma ve soğutma esnasında elde edilen DSC grafiği Şekil 5'te verilmiştir. Şekil 5'te görüldüğü gibi DSC ile sürekli ısıtma sırasında üç endotermik faz geçiş piki görülmüştür. Sürekli ısıtma esnasında gözlenen faz geçiş

sıralaması Kristal (Cr) – Smektik G (SmG) – Nematik (N) – İzotropik (I) şeklindedir. Sürekli soğutma esnasında gözlenen faz geçiş sıralaması ise Kristal (Cr) – Smektik G (SmG) – Smektik C (SmC) - Nematik (N) – İzotropik (I) şeklindedir. Bu faz geçişleri numunenin soğutulması esnasında da gözlenmiştir. Faz geçiş sıralaması POM deneyleri ile de doğrulandı ve DSC ile elde edilen faz geçiş pik sıcaklık değerlerinin POM ile elde edilen faz geçiş sıcaklık değerleri ile yaklaşık aynı olduğu görüldü. DSC deneylerinde gözlenen faz geçişleri, POM gözlemleri ve literatür (Gray ve Goodby, 1984) karşılaştırması yapılarak adlandırılmıştır.



Şekil 5. Hidrojen Bağlı 8OBA/ADA ikili kompleksin DSC grafiği.

DSC ve POM sonuçlarına göre 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksi sıvı kristal bir malzemedir ve sıvı kristallerin özelliklerini sergilemektedir. Sürekli ısıtma ve soğutma sırasında elde edilen faz geçiş pik sıcaklıkları ve entalpi değişim değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelge 1 ve Şekil 5'te görüldüğü gibi sürekli ısıtma sırasında elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değişim değerleri

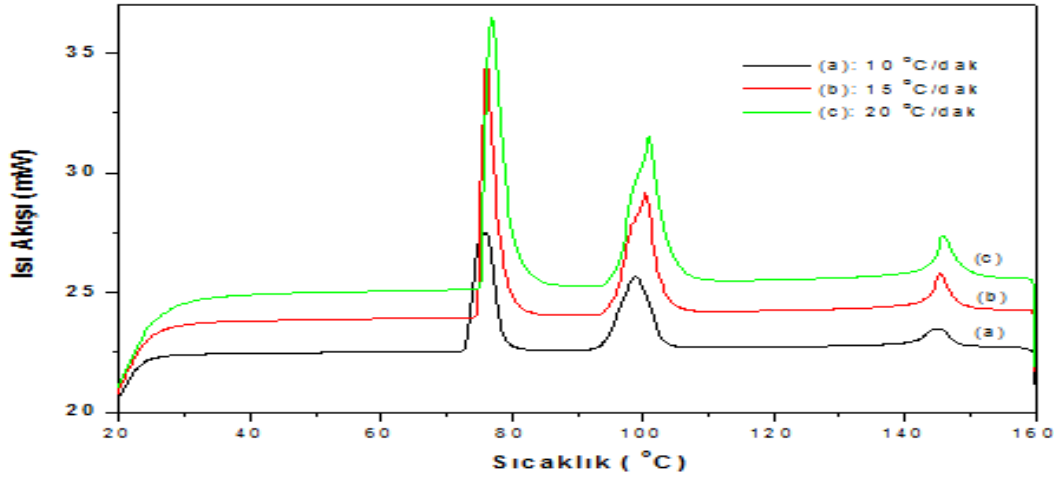
sürekli soğutma sırasında elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değişim değerlerinden daha yüksektir. Ayrıca soğutma sırasında gözlenen Smektik C fazı ısıtma sırasında gözlenmemiştir. Buna rağmen, DSC ve POM verileri kullanılarak hesaplanan değerlere göre ısıtma sırasında elde edilen nematik alan değeri soğutma sırasında elde edilen nematik alan değerinden daha düşüktür.

Çizelge 1. 8OBA/ADA ikili kompleksin faz geçiş pik sıcaklıkları (T) ve entalpi değişimleri (ΔH)

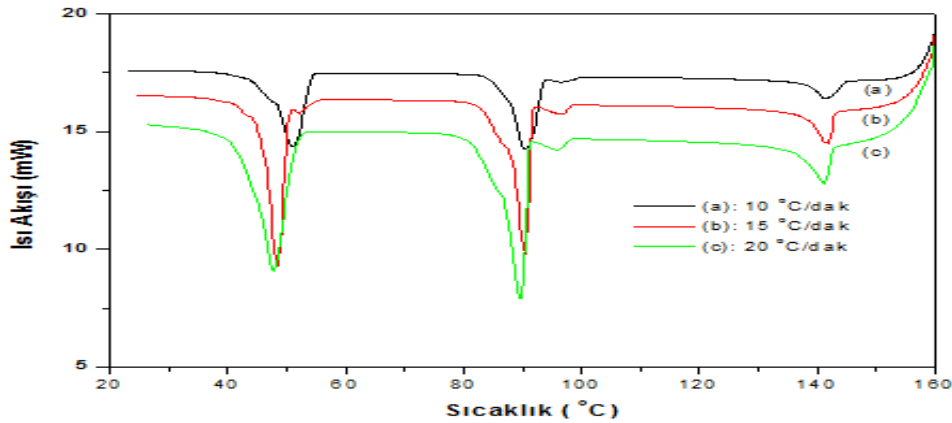
Deneysel Çalışma	T_{CrG}	ΔH_{CrG} ($J g^{-1}$)	T_{GC}	ΔH_{GC} ($J g^{-1}$)	T_{GN} ($^{\circ}C$)	ΔH_{GN} ($J g^{-1}$)	T_{CN} ($^{\circ}C$)	ΔH_{CN} ($J g^{-1}$)	T_{NI} ($^{\circ}C$)	ΔH_{NI} ($J g^{-1}$)
DSC Isıtma	75.54	131.7	-	-	99.5	98.8	-	-	144.6	18.6
DSC Soğutma	51.12	-99.3	92.25	-93.6	-	-	97.60	-3.59	142.95	-17.1
POM Isıtma	73.7	-	-	-	97.5	-	-	-	142.8	-
POM Soğutma	54.9	-	91.42	-	95.8	-	96.31	-	141.4	-

8OBA/ADA ikili sıvı kristal kompleksin ısıtma ve soğutma sırasında gözlenen faz geçişlerinin aktivasyon enerjilerini hesaplamak için numuneler farklı ısıtma ve soğutma oranlarında DSC ile ısıl işleme tabi tutuldu.

8OBA/ADA kompleksi için farklı ısıtma oranlarında ısıtma ve soğutma sırasında elde edilen DSC grafikleri Şekil 6 ve Şekil 7’de verilmiştir.



Şekil 6. Hidrojen Bağlı 8OBA/ADA ikili kompleksin farklı ısıtma oranlarında elde edilen DSC grafikleri.



Şekil 7. Hidrojen Bağlı 8OBA/ADA ikili kompleksin farklı ısıtma oranlarında elde edilen DSC grafikleri.

Şekil 6 ve Şekil 7’de görüldüğü gibi 8OBA/ADA ikili kompleksi DSC ile 10 °C dak⁻¹, 15 °C dak⁻¹ ve 20 °C dak⁻¹ ısıtma oranlarında sürekli ısıtma ve soğutma işlemine tabi tutulmuştur. Sürekli ısıtma esnasında üç endotermik faz geçiş piki gözlenirken soğutma sırasında dört ekzotermik faz geçiş piki gözlenmiştir. Sürekli ısıtma esnasında ısıtma oranı arttıkça faz geçiş sıcaklıkları artarken entalpi değişimleri azalmıştır. Buna karşın sürekli soğutma sırasında soğutma oranı arttıkça

faz geçiş sıcaklık değerleri azalmakta ve entalpi değişim değerleri artmaktadır. Şekil 6 ve Şekil 7’den elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değişim değerleri Çizelge 2 ve Çizelge 3’te verilmiştir. Her iki çizelgede görüldüğü gibi ısıtma sırasında elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değişim değerleri, soğutma sırasında elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değerlerinden daha yüksektir. Nematik alan ise soğutma sırasında daha yüksektir.

Çizelge 2. 8OBA/ADA kompleksin farklı ısıtma oranlarında elde edilen faz geçiş pik sıcaklıkları (T) ve entalpi değişimleri (ΔH)

Isıtma Oranı	T _{CrG} (°C)	ΔH_{CrG} (J g ⁻¹)	T _{GN} (°C)	ΔH_{GN} (J g ⁻¹)	T _{NI} (°C)	ΔH_{NI} (J g ⁻¹)
10 °C/dak	75.28	111.02	99.89	98.18	144.94	24.83
15 °C/dak	76.08	109.76	100.44	97.93	145.51	22.07
20 °C/dak	76.70	108.62	101.14	96.53	145.89	21.77

Çizelge 3. 8OBA/ADA kompleksin farklı soğutma oranlarında elde edilen faz geçiş pik sıcaklıkları (T) ve entalpi değişimleri (ΔH)

Soğutma Oranı	T _{CrG} (°C)	ΔH_{CrG} (J g ⁻¹)	T _{GC} (°C)	ΔH_{GC} (J g ⁻¹)	T _{CN} (°C)	ΔH_{CN} (J g ⁻¹)	T _{NI} (°C)	ΔH_{NI} (J g ⁻¹)
10 °C/dak	51.11	-101.66	91.13	-92.13	96.98	-5.48	142.38	-24.94
15 °C/dak	48.42	-102.11	90.41	-92.98	96.57	-5.97	141.82	-25.51
20 °C/dak	47.85	-103.92	89.51	-93.84	95.96	-6.34	141.08	-25.79

Faz geçiş aktivasyon enerjisi

Sıvı kristallerde faz geçiş aktivasyon enerjisi, o fazın sıcaklığa karşı duyarlılığının bir ölçüsüdür. Aktivasyon enerjisini hesaplamak için sıvı kristal numune, DSC içinde farklı ısıtma oranlarında ısıtılır. Isıtma oranının, faz geçiş başlangıç sıcaklığına etkisi belirlenir. Faz

sıcaklıklarının ısıtma oranı ile değişiminden elde edilen verilerden her faz için aktivasyon enerjisi, Kissinger (Kissinger, 1957), Ozawa (Ozawa, 1970) ve Takhor (Takhor, 1971) eşitlikleri kullanılarak hesaplanır (Okumuş, 2012). Bu eşitlikler sırasıyla;

$$\text{Kissinger eşitliği; } \ln\left(\frac{T^2}{\beta}\right) = \frac{E_a}{RT} + A, \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$\text{Ozawa eşitliği; } \log(\beta) = -0.4567\left(\frac{E_a}{RT}\right) + B, \quad (\text{Eşitlik 2})$$

$$\text{Takhor eşitliği; } \ln(\beta) = -\frac{E_a}{RT} + C \quad (\text{Eşitlik 3})$$

şeklindedir. Burada T sıcaklık, β ısıtma oranı, E_a aktivasyon enerjisi, R gaz sabiti ve A, B ve C ise sabitlerdir.

Şekil 6'dan elde edilen faz geçiş pik sıcaklıkları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge.2'de verilen faz geçiş sıcaklık değerleri Kissenger, Ozawa ve Takhor eşitliklerinde yerine konularak faz geçiş aktivasyon enerjileri hesaplanmıştır. Hesaplanan aktivasyon enerji değerleri Çizelge 4'te verilmiştir.

Faz geçişinin olması için gerekli bir enerji bariyeri vardır. Bu enerji bariyeri yeteri kadar yüksekse aktivasyon enerjisi sıcaklıkla değişir. Çizelge 4'te görüldüğü gibi her üç metoda göre aktivasyon enerji değerleri yaklaşık aynıdır ve faz geçiş sırasına göre faz geçiş aktivasyon enerjileri artmıştır. Bu sonuçlara göre 8OBA/ADA kompleksinin faz geçişleri düzenli olarak gerçekleşmektedir.

Çizelge 4. 8OBA/ADA ikili kompleksin faz geçiş aktivasyon enerjileri

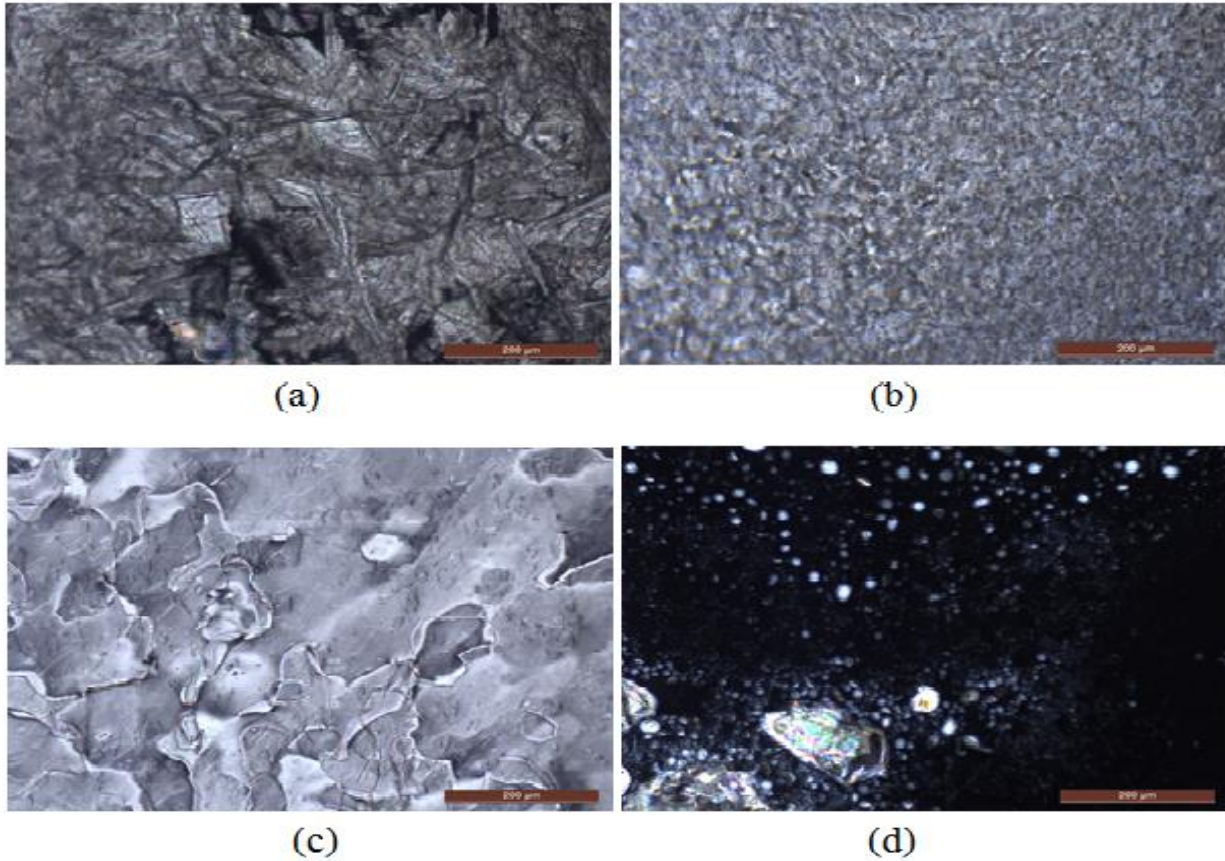
Aktivasyon Enerji	Kristal-Smektik G	Smektik G-Nematik	Nematik-İzotropik
Kissenger ($\pm 10 \text{ kJ mol}^{-1}$)	398	630	1053
Ozawa ($\pm 10 \text{ kJ mol}^{-1}$)	384	605	1009
Takhor ($\pm 10 \text{ kJ mol}^{-1}$)	404	636	1060

POM Çalışmaları

Üretilen 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksi sandviç şeklinde sıvı kristal hücre içerisine yüzey gerilim kuvvetleri etkisiyle yerleştirildi ve sıvı kristal kompleksin morfolojik yapısı ısıtma tablalı bir POM ile araştırıldı. Sürekli ısıtma ve soğutma esnasında POM ile gözlenen faz geçiş sıcaklık değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1'de görüldüğü gibi POM sonuçları ile DSC sonuçları uyum içindedir. 8OBA/ADA kompleksinin faz geçişlerinin adlandırılması, POM ile elde edilen fotoğraflarla standart literatür çalışmaları (Gray ve Goodby, 1984) karşılaştırılarak yapılmıştır. Hidrojen bağlı 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksinin, POM ile sürekli ısıtma esnasında gözlenen görüntüleri Şekil 8'de verilmiştir.

Şekil 8(a)'da 8OBA/ADA kompleksinin oda sıcaklığında POM ile çekilen ve kristal fazı gösteren fotoğrafı görülmektedir. Şekil 8(b)'de 85 °C'de smektik G fazının pürüzlü çok renkli mozaik yapısı görülmektedir. Şekil 8(c)'de 125 °C sıcaklıkta nematik faz yapısı görülmektedir. Şekil 8(d)'de ise 144 °C sıcaklıkta nematik damlacıklarının nematik-izotropik geçiş anı görülmektedir. POM ile elde edilen faz geçiş sıcaklıkları DSC ile elde edilen faz geçiş sıcaklıkları ile yaklaşık aynıdır. Bu da yapılan çalışmaların doğruluğunu göstermektedir. Ayrıca elde edilen sonuçlar literatür çalışmaları (Chen, 2007; Vijayakumar ve Mohan, 2012; Okumuş ve Özgan 2014; Sundaram ve ark., 2017) ile uyum içindedir.



Şekil 8. 8OBA/ADA ikili kompleksin POM fotoğrafları. (a): Kristal, (b): Smektik G, (c): Nematik, (d): Nematik-İzotropik

SONUÇ

Bu çalışmada, hidrojen bağlı 8OBA + ADA sıvı kristal kompleksinin tasarımı yapıldı, sentezlendi ve karakterize edildi. Sentezlenen kompleksin hidrojen bağlarla oluştuğu hem ATR-IR hem de $^1\text{H-NMR}$ çalışmaları ile doğrulandı. DSC ve POM sonuçları ise sentezlenen kompleksin sıvı kristal yapıda olduğunu gösterdi. 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksi sürekli ısıtma esnasında Kristal – Smektik G – Nematik – İzotropik faz geçişlerini gösterirken, sürekli soğutma esnasında Kristal – Smektik G – Smektik C - Nematik – İzotropik faz geçişlerini göstermektedir. 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksi için sürekli ısıtma sırasında elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değişim değerleri sürekli soğutma sırasında elde edilen faz geçiş sıcaklık ve entalpi değişim

değerlerinden daha yüksektir. 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksinin soğutma sırasında ölçülen nematik alan değeri ısıtma sırasında ölçülen nematik alan değerinden daha büyüktür. 8OBA/ADA sıvı kristal kompleksinin faz geçişleri için aktivasyon enerjileri hesaplanmıştır ve elde edilen değerler, faz sırasına göre faz geçiş aktivasyon enerjilerinin arttığını göstermiştir. Buna göre 8OBA/ADA karışımının faz geçişleri düzenli olarak gerçekleşmektedir. Ayrıca POM sonuçlarının DSC sonuçları ile uyum içinde olduğu görüldü.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya BTUBAP-2013-MMF-9 nolu proje ile sağladığı maddi destek nedeniyle Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğüne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Aira H, Ray H, Kohki T, 2004. Effect of non-DC voltage applied during N*-Sc* phase transition on alignment of half-V-shaped switching ferroelectric liquid crystal. *Japanese Journal of Applied Physics*, 43(9A): 6243-6247.
- Chen LG, 2007. Thermo-optical properties of polymer dispersed liquid crystals. RMIT University, Australia, Ph.D. Thesis (Printed).
- Cook AG, Baumeister U, Tschierske C, 2005. Supramolecular dendrimers: Unusual mesophases of ionic liquid crystals derived from protonation of DAB dendrimers with facial amphiphilic carboxylic acids, *Journal of Materials Chemistry*. 15: 1708-1721.
- Gray GW, Goodby JW, 1984. *Smectic liquid crystals: textures and structures*. Leonard Hill, USA.
- Kang SK, Samulski ET, 2000. Liquid crystals comprising hydrogen-bonded organic acids I. Mixtures of non-mesogenic acids. *Liquid Crystals*. 27 (3): 371-376.
- Kavitha C, Prabu NPS, Mohan MLNM, 2012. Design, synthesis and characterization of a linear hydrogen bonded homologous series. *Physica B: Condensed Matter*. 407 (5): 859-867.
- Kavitha C, Prabu NPS, Mohan MLNM, 2012. Study of optical shuttering action in supramolecular hydrogen bonded nematogens. *Phase Transitions: A Multinational Journal*. 85 (11): 973-994.
- Kissinger HE, 1957. Reaction Kinetics in Differential Thermal Analysis. *Analytical Chemistry*, 29: 1702-1706.
- Muniprasada M, Srinivasulub M, Chalapathic PV, Potukuchia DM, 2012. Influence of chemical moieties and the flexible chain for the tilted smectic phases in linear hydrogen bonded liquid crystals with Schiff based pyridene derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1015: 181-191.
- Nakamoto K, 2009. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Part B*. 6th Edition, John Wiley and Sons, New-Jersey-USA.
- Naoum MM, Fahmi AA, Alaasar MA, 2008. Supramolecular Hydrogen-Bonded Liquid Crystals Formed from 4-(4'-Pyridylazophenyl)-4''-Substituted Benzoates and 4-Alkoxybenzoic Acids, *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 482 (1): 57-70.
- Okumuş M, 2012. Alkil ve alkiloksi siyanobifenil-benzoik asit sıvı kristaller ve karışımlarının faz dönüşümleri, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Okumuş M, Özgan S, 2014. Thermal and mesomorphic properties of ternary mixtures of some hydrogen-bonded liquid crystals. *Liquid Crystals*, 41 (9): 1293-1302.
- Ozawa T, 1970. Kinetic Analysis of Derivative Curves in Thermal Analysis. *Thermal Analysis*, 2: 301-324.
- Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS, 2007. *Introduction to Spectroscopy*, Thomson Learning Inc.: pp. 142-145, India.
- Prabu NPS, Mohan MLNM, 2013. Characterization of a new smectic ordering in supramolecular hydrogen bonded liquid crystals by X-ray, optical and dielectric studies. *Journal of Molecular Liquids*. 182: 79-90.

- Prabu NPS, Mohan MLNM, 2015. Thermal Analysis, Calorimetric and Electrical Polarization Studies in Smectic X* Phase of Hydrogen-Bonded Ferroelectric Liquid Crystals. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 606 (1): 12-35.
- Priestley EB, Wojtowicz PJ, Sheng P, 1975. *Introduction to liquid crystals*. 1st ed. Plenum Press. New York.
- Sundaram S, Subhasri P, Rajasekaran TR, Jayaprakasam R, Senthil TS, Vijayakumar VN, 2017. Induced Smectic X Phase Through Intermolecular Hydrogen-Bonded Liquid Crystals Formed Between Citric Acid and p-n-(Octyloxy)Benzoic Acid. *Brazilian Journal of Physics*, 47 (4): 382-392.
- Takhor RL, 1971. *Advances in Nucléation and Crystallization of Glasses*; Americal Chemical Society: Columbus, OH. 166-172.
- Vijayakumar VN, Murugadass K, Mohan MLNM, 2009. Study of intermolecular hydrogen bonding in p-n-alkoxybenzoic acids and alkyl aniline homologous series – part I. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*. 515 (1): 39–48.
- Vijayakumar VN, Mohan MLNM, 2012. Design and characterization of hydrogen bonded ferroelectric liquid crystals: A study of light modulation in nematic and smectic orderings. *International Journal for Light and Electron Optics*. 123 (12): 1044-1050.
- Wang JM, Kim YJ, Kim CJ, Kim KS, 2002. V-Shaped Switching in a Ferroelectric Liquid Crystal with the Phase Sequence of N*-SmC*, *Ferroelectrics*. 277: 185-195.
- Wu SL, Lin CY, 2003. V-shaped switching in ferroelectric liquid crystal mixtures induced by an achiral swallow-tailed material, *Liquid Crystals*. 30(2): 205-210.

Synthesis and Antifungal Activity of New Nitrobenzofuran Derivatives

Ahmet Çağrı KARABURUN^{1*}

ABSTRACT: The object of present study is to assess anticandidal activities of some new aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)keton and ketoxime compounds. Eight aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)ketones and ketoximes were synthesized. IR, ¹H-NMR and HR-MS spectroscopic data, performed the structure elucidation of the synthesized compounds. Anticandidal activities of the all synthesized compounds were studied. Compound **2c** bearing methoxy group on phenyl ring showed the highest activity with MIC value of 3.12 µg mL⁻¹ against *Candida albicans* and *Candida glabrata*. None of the compounds activity results were equal to or better than that of the control compounds ketoconazole and fluconazole. However, compound **2c** displayed a promising anticandidal activity.

Keywords: Aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)ketones, aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)ketoximes, anticandidal activity.

Yeni Nitrobenzofuran Türevlerinin Sentezi ve Antifungal Etkileri

ÖZET: Bu çalışmada bazı yeni aril (5-nitrobenzofuran-2-il)keton ve ketoksim bileşiklerinin antikandidal etkinliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Sekiz aril (5-nitrobenzofuran-2-il)keton ve ketoksimi sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapı aydınlatmaları IR, ¹H-NMR ve HR-MS spektroskopik verileri ile gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin antikandidal etkinlikleri incelenmiştir. Fenil halkası üzerinde metoksi grubu taşıyan bileşik **2c**, 3.12 µg mL⁻¹ MİK değeri ile *Candida albicans* ve *Candida glabrata*'ya karşı en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Hiçbir bileşik kontrol bileşikleri olan ketokonazol ve flukonazole eş ya da daha iyi aktivite sergileyememiştir. Ancak, bileşik **2c**'nin aktivite sonuçları umut verici olarak değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aril (5-nitrobenzofuran-2-il)ketonlar, aril (5-nitrobenzofuran-2-il)ketoksimler, antikandidal aktivite.

¹ Ahmet Çağrı KARABURUN (Orcid ID: 0000-0002-2503-3824), Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Eskişehir, Türkiye

Sorumlu yazar/Corresponding Author: Ahmet Çağrı KARABURUN, e-mail: ackarabu@anadolu.edu.tr

Geliş tarihi / Received:07.11.2018
Kabul tarihi / Accepted:30.11.2018

INTRODUCTION

Worldwide, the physicians draw attention on fungal infections due to the frequency of suffered patients from fungal diseases (Valerio et al., 2015; Benedict et al., 2017). It has been reported by clinical data that the incidence of fungal infections are increased in patients with cancer and tuberculosis since immunity falls or disappears (Sipsas and Kontoyiannis, 2012; Osman et al., 2013). Also, the development of multi-drug and pandrug resistances cause insufficient treatment, especially for one of the largest group of fungal pathogens, *Candida* species which are also the most reported species regarding resistance development (Dos Santos Abrantes et al., 2014; Dimopoulos et al., 2015; Healey et al., 2016). Thus, researchers have focused on the development of more effective agents against opportunistic fungi and they tried to inhibit the development of resistance. On the other hand, it is petitive that these antimicrobial agents to be developed have broad spectrum with low cytotoxicity against human cells (Miyazaki et al., 2011; Ravu et al., 2013).

In medicinal chemistry, benzofuran ring system has a special importance because of its pharmacological properties such as analgesic (Rádl et al., 2000), antinociceptive (Goncalves et al., 2012), antibacterial (Jiang et al., 2011), antifungal (Demirayak et al., 2016), antiviral (Engler et al., 1996), antihypertensive (de Souza Nunes et al., 2014) and anticancer (Mao et al., 2016) activities. Its antifungal activity is supported by recent studies (Telvekar et al., 2012; Geronikaki et al., 2013), which reported the clinical uses of griseofulvin (Grover et al., 2012), in which benzofuran is located as a core structure. Furthermore, griseofulvin has been indicated successful on patients in comparison with other antifungal agents independent of the fungus type (Wallace, 1977; Shemer et al., 2013).

Oximes are used as a constitutive structure to gain biologically active compounds and they are a preference for bioisosteric replacement and protection of carbonyl groups (Primožič et al., 2014). Moreover, having the easy modification for substitutions on oxygen atom, it could increase or maintain the antifungal activity vis-à-vis carbonyl group (Kirilmis et al., 2008).

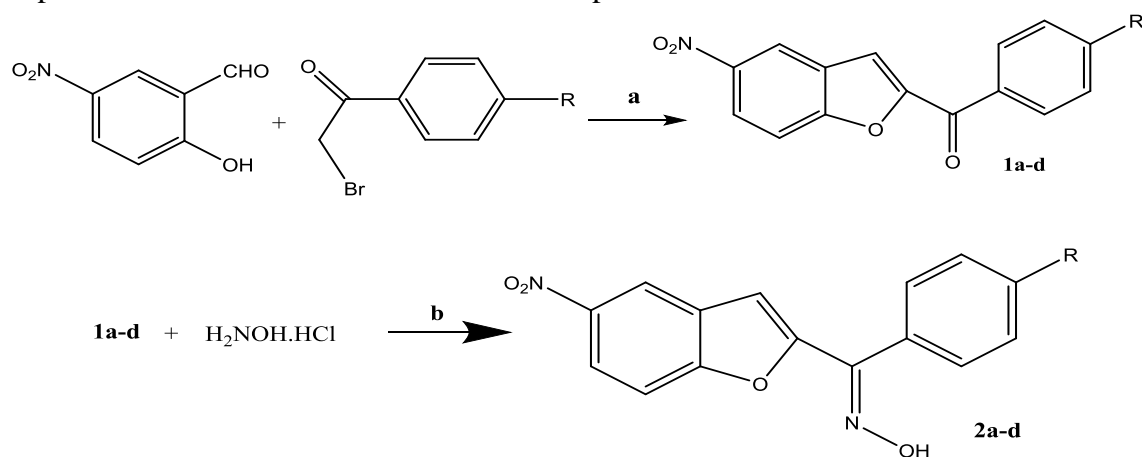
Thus, for the above mentioned reasons eight compounds (**1a-1d**, **2a-2d**), involved 5-nitrobenzofuran as core structure, were synthesized and analyzed for antifungal activity.

MATERIALS AND METHODS

Chemistry

All chemicals used in the syntheses were purchased either from Sigma-Aldrich Chemicals (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA) or Merck Chemicals (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Melting points were determined by using an Electrothermal 9100 digital melting point apparatus and were presented as uncorrected. ¹H-NMR spectra was recorded by a Bruker 300 MHz digital FT-NMR spectrometer (Bruker Bioscience, Billerica, MA, USA) in DMSO-*d*₆. In the NMR spectra, splitting patterns were designated as follows: s: singlet; d: doublet; t: triplet; m: multiplet. Coupling constants (*J*) were reported as Hertz. The IR spectra of the compounds were recorded using an IRAffinity-1S Fourier transform IR (FTIR) spectrometer (Shimadzu, Kyoto, Japan). Mass spectra were recorded on an LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japan) by using ESI method. The purities of compounds were checked by TLC on silica gel 60 F254 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)ketone derivatives were synthesized in accordance with previous methods (Pestellini et al., 1988).

New compounds were obtained with the reactions depicted in Scheme 1.



R: H, CH₃, OCH₃, Cl

a: K₂CO₃ / CH₃CN / reflux

b: CH₃COONa / C₂H₅OH / reflux

Scheme 1. Synthetic procedure for the compounds

Some characteristics of the synthesized compounds were given in **Table 1**.

Table 1. Some characteristics of the synthesized compounds

Compounds	R	m.p. (°C)	Yield (%)	Formulae	Mol. Weight
1a	H	205-6*	78	C ₁₅ H ₉ NO ₄	267.24
1b	CH ₃	214-5	82	C ₁₆ H ₁₁ NO ₄	281.27
1c	OCH ₃	233-4	75	C ₁₆ H ₁₁ NO ₅	297.27
1d	Cl	209-10	87	C ₁₅ H ₈ ClNO ₄	301.69
2a	H	126-7	75	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ O ₄	282.26
2b	CH ₃	240-1	80	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₄	296.29
2c	OCH ₃	263-4	72	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₅	312.28
2d	Cl	234-5	82	C ₁₅ H ₉ ClN ₂ O ₄	316.70

* Lit (Vinh et al., 1999) m.p. 203 °C.

Synthesis of Aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)ketones (1a-d)

Aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)ketone derivatives were synthesized in accordance with previous methods (Pestellini et al., 1988).

(5-Nitrobenzofuran-2-yl)(phenyl)methanone (1a)

Yield: 78 %, M.P. = 205-6 °C, FTIR (ATR, cm⁻¹): 3096, 1645 (C=O), 1090, 800, 696. ¹H-NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ = 7.63- 7.68 (2H, m, phenyl CH), 7.75- 7.77 (1H, m, phenyl CH), 7.96 (1H, s, BF-H), 7.98 (1H, d, J=9.36 Hz,

BF-H), 8.11- 8.14 (2H, m, phenyl CH), 8.48 (1H, dd, J=9.12 Hz-2.43 Hz, BF-H), 8.85 (1H, d, J= 2.37 Hz, BF-H). HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₉NO₄: 268.0604; found 268.0614.

(5-Nitrobenzofuran-2-yl)(p-tolyl)methanone (1b)

Yield: 82 %, M.P. = 214-5 °C, FTIR (ATR, cm⁻¹): 2986, 1645 (C=O), 1051, 833, 746. ¹H-NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ = 2.49 (3H, s, CH₃), 7.47 (2H, d, J= 8.19 Hz, methylphenyl CH), 7.93 (1H, s, BF-H), 7.97 (1H, d, J= 9.15 Hz, BF-H), 8.05 (2H, d, J=8.19 Hz,

methylphenyl CH), 8.48 (1H, dd, J=9.15 Hz-2.40 Hz BF-H), 8.84 (1H, d, J= 2.37 Hz, BF-H). HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₁NO₄: 282.0761; found 282.0770.

(4-Methoxyphenyl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanone (1c)

Yield: 75 %, M.P. = 233-4 °C, FTIR (ATR, cm⁻¹): 2936, 1639 (C=O), 1063, 800, 752. ¹H-NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ = 3.97 (3H, s, OCH₃), 7.17 (2H, d, J= 8.94 Hz, methoxyphenyl CH), 7.92 (1H, s, BF-H), 7.97 (1H, d, J= 9.09 Hz, BF-H), 8.18 (2H, d, J=8.94 Hz, methoxyphenyl CH), 8.47 (1H, dd, J=9.15 Hz-2.40 Hz, BF-H), 8.85 (1H, d, J= 2.34 Hz, BF-H). HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₁NO₅: 298.0710; found 298.0723.

(4-Chlorophenyl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanone (1d)

Yield: 87 %, M.P. = 209-10 °C, FTIR (ATR, cm⁻¹): 3093, 1661 (C=O), 1092, 800, 748. ¹H-NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ = 7.70 (2H, d, J= 8.55 Hz, chlorophenyl CH), 7.97-8.00 (2H, m, BF-H), 8.17 (2H, d, J=8.55 Hz, chlorophenyl CH), 8.49 (1H, dd, J=9.00 Hz-2.22 Hz, BF-H), 8.85 (1H, d, J= 2.40 Hz, BF-H). HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₈NO₄Cl: 302.0215; found 302.0225.

Synthesis of Aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)ketoximes (2a-d)

The suitable aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl) ketone derivative (5 mmol), **1a-d**, was heated in ethanol with hydroxylamine hydrochloride (7 mmol) for 3 hours with catalyze of anhydrous sodium acetate (7 mmol). After completion of reaction, the mixture was allowed to cool for crystallization. The precipitated product was filtered and recrystallized from ethanol.

(E/Z)-(5-nitrobenzofuran-2-yl)(phenyl)methanone oxime (2a)

Yield: 75 %, M.P. = 126-7 °C, FTIR (ATR, cm⁻¹): 3379 (O-H), 2988, 1634 (C=O), 1013,

820, 696. ¹H-NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ = 7.47- 7.65 (5H, m, phenyl CH), 7.75 (1H, d, J=9.32 Hz, BF-H), 8.08 (1H, s, BF-H), 8.33 (1H, dd, J=9.12 Hz-2.40 Hz, BF-H), 8.77 (1H, d, J= 2.37 Hz, BF-H). HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₁₀N₂O₄: 283.0713; found 283.0719.

(E/Z)-(5-nitrobenzofuran-2-yl)(p-tolyl)methanone oxime (2b)

Yield: 80 %, M.P. = 240-1 °C, FTIR (ATR, cm⁻¹): 3202 (O-H), 3001, 1622 (C=O), 1013, 818, 685. ¹H-NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ = 2.40 (3H, s, CH₃), 7.29 (2H, d, J= 8.01 Hz, methylphenyl CH), 7.52 (2H, d, J=8.13 Hz, methylphenyl CH), 7.77 (1H, d, J= 8.79 Hz, BF-H), 8.05 (1H, s, BF-H), 8.32 (1H, dd, J=8.79 Hz-2.40 Hz, BF-H), 8.76 (1H, d, J= 2.37 Hz, BF-H). HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₂N₂O₄: 297.0870; found 297.0877.

(E/Z)-(4-methoxyphenyl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanone oxime (2c)

Yield: 72 %, M.P. = 263-4 °C, FTIR (ATR, cm⁻¹): 3227 (O-H), 2997, 1639 (C=O), 1018, 810, 750. ¹H-NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ = 3.88 (3H, s, OCH₃), 7.03 (2H, d, J=8.94 Hz, methoxyphenyl CH), 7.58 (2H, d, J=8.94 Hz, methoxyphenyl CH), 7.78 (1H, d, J=9.09 Hz, BF-H), 8.03 (1H, s, BF-H), 8.33 (1H, dd, J=9.09 Hz-2.40 Hz, BF-H), 8.77 (1H, d, J= 2.34 Hz, BF-H). HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₁₆H₁₂N₂O₅: 313.0819; found 313.0830.

(E/Z)-(4-chlorophenyl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanone oxime (2d)

Yield: 82 %, M.P. = 234-5 °C, FTIR (ATR, cm⁻¹): 3177 (O-H), 3001, 1651 (C=O), 1022, 818, 685. ¹H-NMR (300 MHz, Acetone-d₆): δ = 7.53 (2H, d, J=8.61 Hz, chlorophenyl CH), 7.69 (2H, d, J=8.61 Hz, chlorophenyl CH), 7.79 (1H, d, J=9.06 Hz, BF-H), 8.11 (1H, s, BF-H), 8.33 (1H, dd, J=9.09 Hz-2.40 Hz, BF-H), 8.78 (1H, d, J= 2.37 Hz, BF-H). HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₁₅H₉N₂O₄Cl: 317.0324; found 317.0333.

Antifungal Activity

Anticandidal activity, according to the protocol of the EUCAST (Rodriguez-Tudela et al., 2008), was performed for gained final compounds **1a-d**, **2a-d** against *Candida albicans* (ATCC 24433), *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) and *Candida glabrata* (ATCC 90030). Synthesized

compounds as well as ketoconazole and fluconazole as reference drugs were tested. The minimum inhibitory concentrations (MICs) of the all synthesized compounds were determined by fluorometric measurements (Palomino et al., 2002; Borra et al., 2009). **Table 2** presents MIC values of all compounds as antifungal results.

Table 2. MIC₅₀ (µg mL⁻¹) values of compounds (**1a-d**, **2a-d**)

Compounds	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
1a	50	50	100	100
1b	25	25	50	25
1c	12.50	25	50	50
1d	12.50	50	100	100
2a	25	50	25	100
2b	12.50	12.50	25	50
2c	3.12	3.12	6.25	12.50
2d	6.25	12.50	25	12.50
Ketoconazole	0.78	1.56	1.56	1.56
Fluconazole	0.78	1.56	1.56	0.78

RESULTS AND DISCUSSION

Chemistry

The reactions, depicted in scheme were followed for the synthesis of aryl (5-nitrobenzofuran-2-yl)ketoxime compounds. A slightly altered Rap-Störmer Reaction gave the ketonic compounds, **1a-d**, (Pestellini et al., 1988). The ketones were allowed to react with hydroxylamine hydrochloride to obtain the oxime derivatives (**2a-d**). In evaluation of the spectral data of the synthesized compounds, all data were obtained as expected. In IR spectra; ketone compounds showed characteristic carbonyl stretching bands at about 1640-1660 cm⁻¹ region, also oxime compounds showed characteristic O-H bands at about 3200-3400 cm⁻¹ region. Characteristic nitro group symmetric and asymmetric stretching bands were observed for all compounds. In ¹H-NMR spectra; all aliphatic and aromatic protons were observed as expected with corresponding integral values.

However, oxime hydrogens which were effortlessly identified in IR spectra, could not be observed in NMR. It may be attributed to the proton exchange with deuterio solvent used in NMR. It is also of consideration that the electron withdrawing effect of nitro group increases the acidity of the oxime which facilitates the proton exchange of this group. For all compounds HRMS spectra showed exact molecular mass and formula.

Antifungal Activity

According to antifungal activity results, all compounds displayed anticandidal activity. Compounds with oxime moiety (**2a-2d**) were found more active than their carbonyl substitution derivatives (**1a-1d**) against *Candida* species. In fact, compound **2c** was found to be the most potent derivative in the series against all *Candida* species with MIC₅₀ values of 3.12 and 12.50 µg mL⁻¹. Moreover, it can be seen that

compound **2d** showed remarkable activity against *Candida albicans* with a MIC₅₀ value of 6.25 µg mL⁻¹. Also, any substitution at the 4th position of the benzene ring increased anticandidal activity, particularly 4-methoxy substitution was found two times more active than other substitutions. On the other hand, none of the synthesized compounds showed higher activity than the standard drug.

In consideration of the antifungal activity results, it is seen that ketone compounds showed very little activity on tested fungi. When the carbonyl group converted to its oxime, the activity elevated for all compounds. In addition, effect of the substituent positioned on the phenyl ring is crucial for activity. Especially compound **2c** displayed a promising anticandidal activity. Methoxy substitution on the phenyl ring resulted in the highest activity among the synthesized compounds.

CONCLUSION

None of the compounds activity results was equal to or better than that of the control compounds ketoconazole and fluconazole. However, compound **2c** displayed a promising anticandidal activity. In general, it is expected that oxime derivatives of nitrobenzofuran might be promising antifungal candidates. Hence, with further study and synthesis of new oxime derivatives, better nitrobenzofuran antifungal agents can possibly be obtained. This in turn can contribute to the inhibition of the ongoing fungal resistance development to currently available antifungal agents.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial contribution of Anadolu University Scientific Projects Fund (Project No.: 1807S253) is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- Benedict K, Richardson M, Vallabhaneni S, Jackson BR, Chiller T, 2017. Emerging issues, challenges, and changing epidemiology of fungal disease outbreaks. *The Lancet Infectious Diseases*, 17 (12): e403-e11.
- Borra RC, Lotufo MA, Gaglioti SM, Barros Fde M, Andrade PM, 2009. A simple method to measure cell viability in proliferation and cytotoxicity assays. *Brazilian Oral Research*, 23 (3): 255-262.
- de Souza Nunes JP, da Silva KA, da Silva GF, Quintao NL, Correa R, Cechinel-Filho V, et al, 2014. The antihypersensitive and antiinflammatory activities of a benzofuranone derivative in different experimental models in mice: the importance of the protein kinase C pathway. *Anesthesia & Analgesia*, 119 (4): 836-846.
- Demirayak S, Yurttas L, Karaburun AC, Gundogdu-Karaburun N, Kayagil I, 2016. Synthesis and antiproliferative activity of 2-arylidene 6-(2-aryl-2-oxoethoxy)benzofuran-3-one derivatives. *Letters in Drug Design & Discovery*, 13 (6): 563-569.
- Dimopoulos G, Koulenti D, Tabah A, Poulakou G, Vesin A, Arvaniti K, et al, 2015. Bloodstream infections in ICU with increased resistance: epidemiology and outcomes. *Minerva Anestesiologica*, 81 (4): 405-418.
- Dos Santos Abrantes PM, McArthur CP, Africa CW, 2014. Multi-drug resistant oral *Candida* species isolated from HIV-positive patients in South Africa and Cameroon. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 79 (2): 222-227.
- Engler TA, LaTessa KO, Iyengar R, Chai W, Agrios K, 1996. Stereoselective syntheses of substituted pterocarpan with anti-HIV activity, and 5-aza-/5-thia-pterocarpan and 2-aryl-2,3-dihydrobenzofuran analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 4 (10): 1755-1769.

- Geronikaki A, Fesatidou M, Kartsev V, Macaev F, 2013. Synthesis and biological evaluation of potent antifungal agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 13 (21): 2684-2733.
- Goncalves CJ, Lenoir AS, Padaratz P, Correa R, Niero R, Cechinel-Filho V, et al, 2012. Benzofuranones as potential antinociceptive agents: structure-activity relationships. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 56: 120-126.
- Grover C, Arora P, Manchanda V, 2012. Comparative evaluation of griseofulvin, terbinafine and fluconazole in the treatment of tinea capitis. *International Journal of Dermatology*, 51 (4): 455-458.
- Healey KR, Zhao Y, Perez WB, Lockhart SR, Sobel JD, Farmakiotis D, et al, 2016. Prevalent mutator genotype identified in fungal pathogen *Candida glabrata* promotes multi-drug resistance. *Nature Communications*, 7: 11128.
- Jiang X, Liu W, Zhang W, Jiang F, Gao Z, Zhuang H, et al, 2011. Synthesis and antimicrobial evaluation of new benzofuran derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46 (8): 3526-3530.
- Kirilmis C, Ahmedzade M, Servi S, Koca M, Kizirgil A, Kazaz C, 2008. Synthesis and antimicrobial activity of some novel derivatives of benzofuran: Part 2. The synthesis and antimicrobial activity of some novel 1-(1-benzofuran-2-yl)-2-mesitylethanone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43 (2): 300-308.
- Mao ZW, Zheng X, Lin YP, Hu CY, Wang XL, Wan CP, et al, 2016. Design, synthesis and anticancer activity of novel hybrid compounds between benzofuran and *N*-aryl piperazine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26 (15): 3421-3424.
- Miyazaki M, Horii T, Hata K, Watanabe NA, Nakamoto K, Tanaka K, et al, 2011. *In vitro* activity of E1210, a novel antifungal, against clinically important yeasts and molds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55 (10): 4652-4658.
- Osman NM, Gomaa AA, Sayed NM, Abd el aziz AA, 2013. Microarray detection of fungal infection in pulmonary tuberculosis. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 62 (1): 151-157.
- Palomino JC, Martin A, Camacho M, Guerra H, Swings J, Portaels F, 2002. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46 (8): 2720-2722.
- Pestellini V, Giolitti A, Pasqui F, Abelli L, Cutrufo C, De Salvia G, et al, 1988. Synthesis and hypolipidemic activity of new substituted (benzofuran-2-yl)-phenyl-carbinols. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 23 (2): 203-206.
- Primožič I, Hrenar T, Baumann K, Krišto L, Križić I, Tomić S, 2014. Mechanochemical and conformational study of *N*-heterocyclic carbonyl-oxime transformations. *Croatica Chemica Acta*, 87 (2):153-160.
- Rádl S, Hezký P, Konvička P, Krejčí I, 2000. Synthesis and analgesic activity of some substituted 1-benzofurans and 1-benzothiophenes. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 65 (7): 1093-1108.
- Ravu RR, Chen YL, Jacob MR, Pan X, Agarwal AK, Khan SI, et al, 2013. Synthesis and antifungal activities of miltefosine analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23 (17): 4828-4831.

- Rodriguez-Tudela JL, Arendrup MC, Barchiesi F, Bille J, Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M, Dannaoui E, Denning DW, Donnelly JP, Dromer F, Fegeler W, 2008. EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clinical Microbiology and Infection*, 14 (4): 398-405.
- Shemer A, Plotnik IB, Davidovici B, Grunwald MH, Magun R, Amichai B, 2013. Treatment of tinea capitis - griseofulvin versus fluconazole - a comparative study. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 11 (8): 737-741.
- Sipsas NV, Kontoyiannis DP, 2012. Invasive fungal infections in patients with cancer in the Intensive Care Unit. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39 (6): 464-471.
- Telvekar VN, Belubbi A, Bairwa VK, Satardekar K, 2012. Novel *N*-benzylidene benzofuran-3-carbohydrazide derivatives as antitubercular and antifungal agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22 (6): 2343-2346.
- Valerio M, Vena A, Bouza E, Reiter N, Viale P, Hochreiter M, et al, 2015. How much European prescribing physicians know about invasive fungal infections management? *BMC Infectious Diseases*, 15: 80.
- Vinh TK, Ahmadi M, Lopez Delgado PO, Fernandez Perez S, Walters HM, Smith HJ, Nicholls PJ, Simons C, 1999. 1-[(Benzofuran-2-yl)phenylmethyl]-triazoles and -tetrazoles - potent competitive inhibitors of aromatase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9 (14): 2105-2108.
- Wallace SM, Shah VP, Epstein WL, Greenberg J, Riegelman S, 1977. Topically applied antifungal agents. Percutaneous penetration and prophylactic activity against *Trichophyton mentagrophytes* infection. *Archives of Dermatology*, 113 (11): 1539-1542.

Sulu Ortamda *N*-Heterosiklik Karben/Pd(OAc)₂ Katalizli Heck C-C Eşleşmesi

Nazan KALOĞLU^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, *N*-heterosiklik karben (NHC) ligandı olarak yeni 4-fenoksibütil sübtitüyenli benzimidazolyum tuzları sentezlendi ve yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR, FT-IR ve element analizi yöntemleri ile karakterize edildi. Pd(OAc)₂ ve NHC ligandları kullanılarak *in situ* oluşturulan katalitik sistem, su/DMF karışımında, potasyum karbonat varlığında stiren ve aril bromürlerin Heck eşleşme tepkimelerinde kullanıldı. Eşleşme ürünleri yüksek dönüşüm oranlarında elde edildi.

Anahtar kelimeler: *N*-Heterosiklik karben, C-C çapraz eşleşme tepkimeleri, Heck eşleşmesi

N-Heterocyclic Carbene/Pd(OAc)₂ Catalyzed Heck Coupling in Aqueous Medium

ABSTRACT: In this study, novel 4-phenoxybutyl-substituted benzimidazolium salts as *N*-heterocyclic carbene (NHC) ligands were successfully synthesized and their structures characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR, FT-IR, and elemental analysis techniques. The *in situ* formed catalytic system using the NHC ligands and Pd(OAc)₂ was used in the Heck coupling reactions between aryl bromides and strene with potassium carbonate in water/DMF mixture. The corresponding coupling products were obtained in high yields.

Keywords: *N*-Heterocyclic carbene, C-C cross-coupling reactions, Heck coupling

¹ Nazan KALOĞLU (Orcid ID: 0000-0003-3547-4209), İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Malatya, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Nazan KALOĞLU, e-mail: nznemelli@hotmail.com

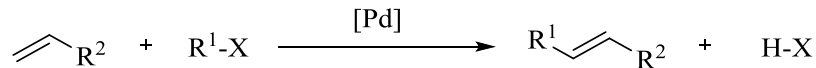
GİRİŞ

N-Heterosiklik karbenler (NHC) organometalik kimya ve homojen katalizde önemli bir role sahiptirler (Herrmann, 2002; Peris ve Crabtree, 2004; Hadei ve ark., 2005; Demir ve ark., 2011; Borguet ve ark., 2013; Paradiso ve ark., 2016). NHC ligandlarının bu önemi, direkt olarak elektronik ve sterik özelliklerinin bir sonucudur. NHC ligandlarının yapısında bulunan sübstitüentlerin değiştirilmesi, karben türlerinin donör ve akseptör özelliğini değiştirdiği gibi, sübstitüentlerin sterik özellikleri de molekül geometrisini değiştirebilmektedir (McGuinness ve ark., 2001; Bazinet ve ark., 2003; Bazinet ve ark., 2007; Titcomb ve ark., 2011). Günümüzde çevre dostu kimyaya olan gereksinim ve atom ekonomisi sunan süreçlerin geliştirilmesi oldukça önem kazanmış durumdadır. Bu nedenle katalitik tepkimelere olan ilgi hızla artmaktadır (Joo, 2002; Mecking ve ark., 2002; The Nobel Prize in Chemistry, 2010; Suscem.org, 2013). Son zamanlarda organometalik kimya alanında yapılan çalışmaların çoğu katalizör dizaynı ve yeni katalitik sistemlerin geliştirilmesi üzerinde yoğunlaşmış durumdadır. Bu durum NHC ligandlarını ve bu ligandları içeren geçiş-metal komplekslerinin önemini oldukça arttırmaktadır.

Çapraz eşleşme tepkimeleri, çapraz yapılı organik bileşikler elde etmek için kullanılan

önemli bir yöntemdir. Bu yöntem ile iki organik molekülün ılımlı koşullarda istenilen özellikleri birleştirilebilir. Organik sentezdeki bu öneminden dolayı çapraz eşleşme tepkimeleri son yıllarda yoğun bir ilgi ile çalışılmaktadır ve bunun bir sonucu olarak 2010 yılı Nobel Kimya Ödülü, geçiş-metal katalizli çapraz eşleşme tepkimeleri alanında yapmış oldukları başarılı çalışmalarından dolayı Richard F. Heck, Ei-ichi Negishi ve Akira Suzuki'ye verilmiştir (Beller, 2010).

Organopalladyum katalizörlü C-C bağ oluşumu tepkimeleri, organik moleküllerin sentezinde en etkili yaklaşımlardan biridir (Heck ve Nolley, 1972; Trost ve Verhoeven, 1982). Olefinlerin aril ya da alkenil halojenür kullanılarak yapılan palladyum katalizörlü arillendirilme ve vinillendirilmesi 16. yüzyılın başlarından itibaren hemen hemen aynı zamanlarda Mizoroki ve arkadaşları tarafından Japonya'da ve Heck tarafından Amerika'da çalışılmıştır. Bu olefinik bağlanma Mizoroki-Heck eşleşmesi olarak da adlandırılır. Heck eşleşmesi, alkenlerin aril halojenürler ile palladyum katalizörlüğünde sübstitüe alkenleri oluşturma tepkimesidir (Şekil 1) (Kaloğlu ve Özdemir, 2018). Heck tepkimesi özellikle sentetik kimyada ve ilaç endüstrisinde biyolojik olarak aktif moleküllerin sentezinde sıkça kullanılan önemli bir yöntemdir.



Şekil 1. Heck eşleşme tepkimesi

Bu çalışmada, 4-fenoksibütil grubu içeren bir seri yeni benzimidazolyum tuzu (**1a-d**) sentezlendi. Karben öncüsü olarak **1a-d** tuzlarını ve palladyum öncüsü olarak Pd(OAc)₂'ı kullanarak *in situ* ortamda oluşturulan katalizörlerin aril bromürlerin stiren ile Heck eşleşme tepkimesindeki katalitik aktivitesi araştırıldı. Hazırlanan tüm NHC

ligandlarının yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR, FT-IR spektroskopisi ve element analizi yöntemleriyle karakterize edildi.

MATERYAL VE YÖNTEM

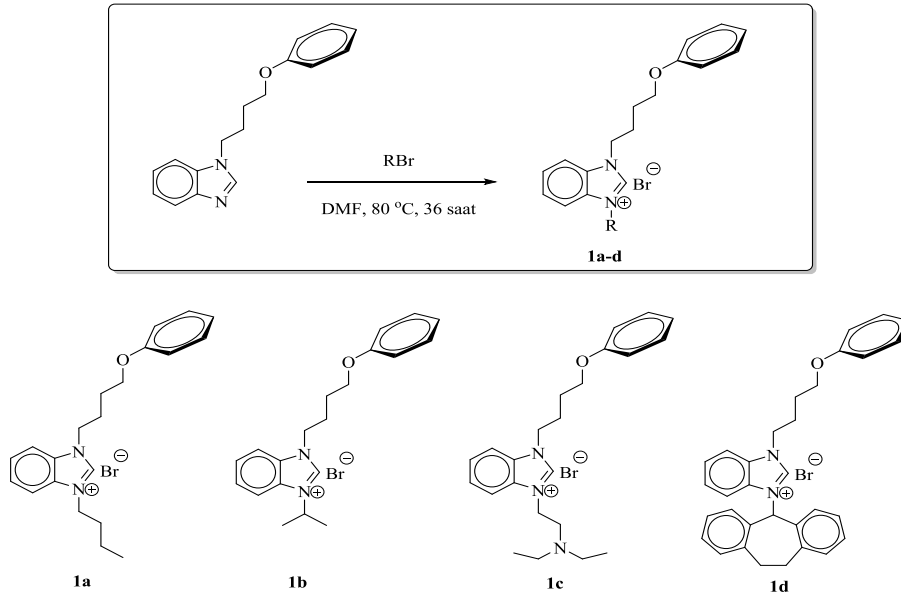
Sentezlenen bileşiklerin bir kısmı havanın nemine ve oksijenine karşı hassas olduğundan, sentez aşamalarının bir bölümü inert atmosfer

ortamında gerçekleştirildi. Gerçekleştirilen tepkimelerde Schlenk tekniği kullanıldı. Tepkimelerde kullanılan cam malzemeler kullanılmadan önce vakum uygulanıp ısıtılarak içerisindeki nem ve oksijen uzaklaştırıldı ve daha sonra argon gazıyla dolduruldu. Tepkimelerde kullanılan reaktifler Sigma Aldrich ve Merck firmalarından ticari olarak temin edildi. NMR spektrumları, Bruker Avance III 400 MHz NMR spektrofotometresinde, İnönü Üniversitesi Kataliz Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında alındı. NMR ölçümlerinde çözücü olarak CDCl₃, iç standart olarak TMS kullanıldı. FT-IR ölçümleri, Perkin Elmer Spektrum 100 spektrofotometresinde ATR ünitesi üzerinde 400-4000 cm⁻¹ aralığında alındı. Element analizleri İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezinde (İBTAM) yapıldı. Gaz kromatografisi analizleri, Agilent 6890N Network GC System de kolon uzunluğu 30 m, kolon çapı 0.32 mm, kolon dolgu büyüklüğü 0.25 µm ve sıcaklık

aralığı 50 °C'den 300 °C'ye kadar olan HP-5 kolonu yapıldı. GC-MS analizleri ise, Shimadzu GC-MS QP-2010 Plus cihazında HP-5 kolonu kullanılarak gerçekleştirildi.

Benzimidazolyum Tuzlarının (1a-d) Genel Sentezi

NHC ligandları (1a-d) ilk kez bu çalışmada sentezlenerek literatüre kazandırıldı. NHC ligantlarının sentezi için *N*-(4-fenoksibütil)benzimidazol (1g, 3.75 mmol) kuru DMF'de (15 mL) çözüldü ve üzerine alkil bromür (3.75 mmol) ilave edildi. Çözelti 80 °C'de 36 saat karıştırıldı. Tepkime sonunda soğutulan çözeltiye dietil eter (15 mL) eklendi ve oluşan tuz çöktürüldü. Çöken tuz filtreden süzüldü, dietil eter ile yıkandı (3 x 10 mL) ve vakumda kurutuldu. Ham ürün etil alkol / Et₂O karışımında (1:2, *h/h*) kristallendirilerek saflaştırıldı. 4-Fenoksibütil grubu içeren benzimidazolyum tuzlarının sentezine ait genel yöntem Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. 4-Fenoksibütil grubu içeren benzimidazolyum tuzlarının sentezi

1-(4-Fenoksibütil)-3-(*n*-**bütil)benzimidazolyum bromür, 1a:** Verim:

1.21 g, %80; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ (ppm): 4.72 (t, 2H, *J* = 7.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 2.30 (p, 2H, *J* = 7.2 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 1.98 (p, 2H, *J* = 5.4 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 4.03 (t, 2H, *J* = 5.2 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 4.59 (t, 2H, *J* = 7.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₃); 1.97 (p, 2H, *J* = 7.2 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₃); 1.43 (h, 2H, *J* = 7.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₃); 0.97 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₃); 6.79-7.77 (m, 9H, NC₆H₄N ve CH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 11.41 (s, 1H, NCHN). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ (ppm): 66.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 26.5 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 26.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 47.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 47.5 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 31.3 (NCH₂CH₂CH₂CH₃); 19.9 (NCH₂CH₂CH₂CH₃); 13.5 (NCH₂CH₂CH₂CH₃); 113.2, 113.3, 114.4, 120.8, 127.2, 127.3, 129.5, 131.3, 131.4, 158.5 (NC₆H₄N ve CH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 142.6 (NCHN). FT-IR (cm⁻¹): 752 ve 3177 (aromatik CH gerilmesi); 1045 (alifatik C-N gerilmesi); 1167 (Ar-O-C gerilmesi); 1244 ve 3406 (alifatik CH gerilmesi); 1560 (imino C=N gerilmesi); 2929 (kuvaterner amonyum gerilmesi). % Element analizi C₂₁H₂₇BrN₂O: Hesaplanan: C, 62.50; H, 6.74; N, 6.92. Bulunan: C, 62.55; H, 6.76; N, 6.97.

1-(4-Fenoksibütil)-3-**(izopropil)benzimidazolyum bromür, 1b:**

Verim: 1.30 g, %89;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ (ppm): 4.81 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 2.27 (p, 2H, *J* = 7.1 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 1.92 (p, 2H, *J* = 5.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 3.98 (t, 2H, *J* = 5.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅);

4.99 (m, 1H, NCH(CH₃)₂); 1.78 (d, 6H, *J* = 7.2 Hz, NCH(CH₃)₂); 6.75-7.91 (m, 9H, NC₆H₄N ve CH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 11.24 (s, 1H, NCHN). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ (ppm): 66.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 26.5 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 26.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 47.4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 51.8 (NCH(CH₃)₂); 113.4, 113.6, 114.4, 114.9, 120.8, 124.6, 125.9, 127.2, 129.4, 130.6, 131.6, 158.5 (NC₆H₄N ve CH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 141.0 (NCHN). FT-IR (cm⁻¹): 745 ve 3045 (aromatik CH gerilmesi); 1032 (alifatik C-N gerilmesi); 1172 (Ar-O-C gerilmesi); 1238 (alifatik CH gerilmesi); 1458 ve 1476 (izopropil ikili pikleri); 1555 (imino C=N gerilmesi); 2942 (kuvaterner amonyum gerilmesi). % Element analizi C₂₀H₂₅BrN₂O: Hesaplanan: C, 61.70; H, 6.47; N, 7.20. Bulunan: C, 61.71; H, 6.48; N, 7.22.

1-(4-Fenoksibütil)-3-(2-(*N,N*-**dietil)etil)benzimidazolyum klorür, 1c:**

Verim: 1.32 g, %79; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ (ppm): 4.59 (t, 2H, *J* = 7.1 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 2.29 (p, 2H, *J* = 7.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 1.95 (p, 2H, *J* = 5.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 4.0 (t, 2H, *J* = 5.4 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 5.49 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, NCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂); 3.88 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz, NCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂); 3.35 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, NCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂); 1.41 (t, 6H, *J* = 7.2 Hz, NCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂); 6.77-8.53 (m, 9H, NC₆H₄N ve CH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 10.87 (s, 1H, NCHN). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ (ppm): 66.8 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 26.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 26.1 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 47.5 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 50.0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 47.8 (NCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂); 42.0 (NCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂); 9.0 (NCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂);

(NCH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂); 112.9, 114.4, 114.6, 121.0, 127.6, 128.1, 129.5, 131.1, 131.2, 158.4 (NC₆H₄N ve CH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 142.5 (NCHN). FT-IR (cm⁻¹): 758 ve 3158 (aromatik CH gerilmesi); 1043 (alifatik C-N gerilmesi); 1169 (Ar-O-C gerilmesi); 1255 ve 3434 (alifatik CH gerilmesi); 1562 (imino C=N gerilmesi); 2966 (kuvaterner amonyum gerilmesi). % Element analizi C₂₃H₂₃BrN₃O: Hesaplanan: C, 63.16; H, 5.28; N, 9.59. Bulunan: C, 63.15; H, 5.30; N, 9.62.

1-(4-Fenoksibütil)-3-

(dibenzosüberil)benzimidazolyum bromür, **1d**: Verim: 1.52 g, %75; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ (ppm): 4.88 (t, 2H, *J* = 7.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 2.20 (p, 2H, *J* = 7.2 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 1.91 (p, 2H, *J* = 5.4 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 4.00 (t, 2H, *J* = 5.3 Hz, NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 3.26 (s, 1H, NCH(C₆H₄)₂CH₂CH₂); 2.90 (t, 4H, *J* = 6.9 Hz, NCH(C₆H₄)₂CH₂CH₂); 6.81-7.75 (m, 17H, NC₆H₄N, NCH(C₆H₄)₂CH₂CH₂ ve CH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 9.87 (s, 1H, NCHN). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ (ppm): 66.9 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 26.6 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 26.0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 47.6 (NCH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 70.7 (NCH(C₆H₄)₂CH₂CH₂); 31.9 (NCH(C₆H₄)₂CH₂CH₂); 113.2, 114.2, 114.4, 115.2, 120.9, 127.5, 129.5, 130.8, 131.8, 132.0, 132.2, 140.1, 158.6 (NC₆H₄N, NCH(C₆H₄)₂CH₂CH₂ ve CH₂CH₂CH₂CH₂OC₆H₅); 140.6 (NCHN). FT-IR (cm⁻¹): 745 ve 3174 (aromatik CH gerilmesi); 1035 (alifatik C-N gerilmesi); 1184 (Ar-O-C gerilmesi); 1243 ve 3406 (alifatik CH gerilmesi); 1543 (imino C=N gerilmesi); 2943 (kuvaterner amonyum gerilmesi). % Element analizi C₃₂H₃₁BrN₂O: Hesaplanan: C, 71.20; H, 5.79; N, 5.19. Bulunan: C, 71.19; H, 5.81; N, 5.22.

Heck Eşleşmesine Ait Genel Yöntem

4-Fenoksibütil grubu içeren benzimidazolyum tuzları ve Pd(OAc)₂'ın *in situ* koşullardaki etkileşiminden hazırlanan katalitik sistemin, stiren ve aril bromürlerin Heck eşleşmesindeki katalitik aktivitesi incelendi. Vakum altında ısıtılıp havası boşaltılan ve ardından argon gazı ile doldurulan 10 mL'lik bir Schlenke stiren (1.5 mmol), aril bromür türevi (1.0 mmol), Pd(OAc)₂ (0.01 mmol), benzimidazol tuzu (**1a-d**) (0.02 mmol), K₂CO₃ (2.0 mmol) ilave edildi ve su / DMF (2 mL / 2 mL) karışımı eklenerek 80 °C'de 3 saat karıştırıldı. Tepkime sonunda oda sıcaklığına kadar soğutulan çözelti etil asetat / hekzan (1:5, *h/h*) karışımında ekstrakte edildi. Organik faz MgSO₄ üzerinde kurutuldu ve mikro silikajel kolonundan geçirilen çözelti konsantre edildi. Ürün karakterizasyonları GC-MS ile yapıldı. Tepkime verimleri aril bromür baz alınarak GC ile belirlendi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Benzimidazolyum Tuzlarının (1a-d) Sentezi

4-Fenoksibütil grubu içeren ve ilk kez bu çalışmada sentezlenen benzimidazolyum tuzları (**1a-d**), *N*-(4-fenoksibütil)benzimidazol'ün farklı alkil bromürler ile DMF içerisinde, 80 °C'de, 36 saat etkileştirilmesi ile yüksek verimlerde (%75-89) elde edildi. Sentezlenen benzimidazolyum tuzlarının karakterizasyonu ¹H NMR, ¹³C NMR, FT-IR spektroskopisi ve element analizi yöntemleriyle gerçekleştirildi. **1a-d** tuzlarının ait ¹H NMR spektrumunda asidik H(2)-protonuna (NCHN) ait karakteristik singlet pikleri δ = 9.87-11.41 ppm aralığında gözlenmiştir. **1a-d** tuzlarının ¹³C NMR spektrumunda ise C(2)-karben karbonuna (NCHN) ait sinyaller δ = 140.6-142.6 ppm aralığında gözlenmiştir. **1a-d** tuzlarına ait FT-IR spektrumlarında imino grubuna ait CN titreşimleri 1543-1562 cm⁻¹ aralığında sinyal vermektedir. Sentezlenen benzimidazolyum

tuzlarına ait spektroskopik değerler literatürdeki diğer benzimidazolyum tuzları ile karşılaştırıldığında, elde edilen değerlerin literatür ile uyum içerisinde olduğu

görülmektedir (Kaloğlu ve ark., 2016; Kaloğlu ve ark., 2017; Kaloğlu ve ark., 2018). Sentezlenen bileşiklere ait bazı fiziksel ve spektroskopik veriler Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Sentezlenen bileşiklerin fiziksel ve spektroskopik özellikleri

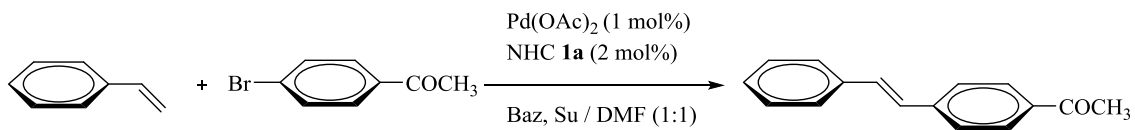
Bileşik	Molekül formülü	Verim [%]	FT-IR $\nu_{(C=N)}$ [cm ⁻¹]	H(2) ¹ H NMR [ppm]	C(2) ¹³ C NMR [ppm]
1a	C ₂₁ H ₂₇ BrN ₂ O	80	1560	11.41	142.6
1b	C ₂₀ H ₂₅ BrN ₂ O	89	1555	11.24	141.0
1c	C ₂₃ H ₂₃ BrN ₃ O	79	1562	10.87	142.5
1d	C ₃₂ H ₃₁ BrN ₂ O	75	1543	9.87	140.6

Heck Eşleşmesine Ait Optimum Koşulların Belirlenmesi

Heck eşleşmesine ait optimum koşullarının belirlenmesi için alken türevi olarak stiren ve eşleşme bileşiği olarak 4-bromoasetofenon seçildi. Su / DMF karışımı (1:1, *h/h*) içerisinde benzimidazolyum tuzu / Pd(OAc)₂ (2:1) katalitik sistemi varlığında farklı baz ve sıcaklık koşullarının tepkime üzerindeki katalitik etkisi incelendi. Gerçekleştirilen ön denemeler sonucunda elde edilen veriler Çizelge 2’de gösterilmiştir.

Çizelge 2 incelendiğinde stiren varlığında, 100 °C’de ve 5 saatte, çözücü olarak su / DMF karışımında, baz olarak KOH, NaOH, KOBu^t, K₂CO₃ veya Cs₂CO₃ kullanıldığında en yüksek dönüşümlerin K₂CO₃ ve Cs₂CO₃ varlığında gerçekleştiği görülmektedir. Her iki baz varlığında da tam dönüşüm gerçekleştiğinden, tepkimede

ekonomik açıdan daha cazip olan K₂CO₃ bazının kullanılması tercih edilmiştir. Sıcaklığın 100 °C’den 80 °C’ye düşürülmesi dönüşüm oranını %100’den %97’ye indirmektedir. Sıcaklıktaki bu düşüşün tepkime dönüşümünü çok küçük oranda etkilediği gözlenmiştir. Tepkime süresinin 5 saatten 3 saate düşürülmesi ise dönüşüm oranını %97’den %94’e düşürmüştür. Tepkime süresindeki bu azalma dönüşüm oranını fazla etkilememiştir. Çözücü olarak yalnızca DMF kullanıldığında koşulların K₂CO₃ baz varlığında, 80 °C’de ve 3 saat sonunda dönüşüm oranı %77 olarak gözlenirken, DMF yerine yalnızca su kullanıldığında dönüşüm oranı %32’ye düşmüştür. Bu nedenle Heck tepkimesi için optimum koşulların DMF / su karışımında, K₂CO₃ baz varlığında, 80 °C’de ve 3 saat süreyle sağlandığı belirlenmiştir.



Çizelge 2. Heck eşleşmesine ait optimum koşulların belirlenmesi^a

Deney No	Baz	Zaman [Saat]	Sıcaklık [°C]	Dönüşüm [%] ^d
1	KOH	5	100	80
2	NaOH	5	100	76
3	KOBu ^f	5	100	82
4	K ₂ CO ₃	5	100	100
5	Cs ₂ CO ₃	5	100	100
6	K ₂ CO ₃	3	100	97
7	K ₂ CO ₃	1	100	61
8	K ₂ CO ₃	5	80	97
9	K ₂ CO ₃	5	60	35
10	K₂CO₃	3	80	94
11	K ₂ CO ₃	1	80	50
12	K ₂ CO ₃	3	80	77 ^b
13	K ₂ CO ₃	3	80	32 ^c

^a Tepkime şartları: Stiren (1.5 mmol), 4-bromoasetofenon (1.0 mmol), baz (2.0 mmol), NHC **1a** (0.02 mmol), Pd(OAc)₂ (0.01 mmol), su (2 mL), DMF (2 mL).

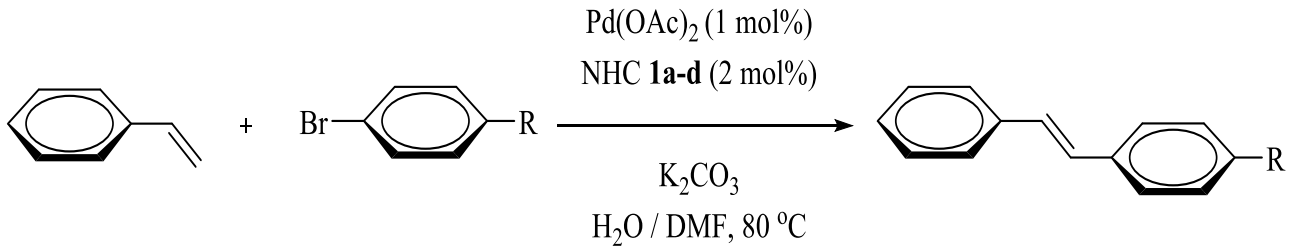
^b Çözücü olarak DMF (4 mL) kullanılmıştır.

^c Çözücü olarak su (4 mL) kullanılmıştır.

^d Ürün verimleri aril bromür baz alınarak GC ile belirlendi.

Sentezlenen NHC tuzlarının Pd(OAc)₂ ile *in situ* koşullarda oluşturduğu katalitik sistemin, stiren ile farklı aril bromürlerin Heck eşleşme tepkimesindeki katalitik aktivitesi sulu ortamda ve ılımlı koşullarda gerçekleştirilmiş ve bu katalitik sistemle yüksek oranda eşleşme ürünleri elde edilmiştir (Çizelge 3, deney no: 1-24). Eşleşme ortağı olarak, elektronca daha fakir 4-bromoasetofenon kullanıldığında diğer substratlara kıyasla daha yüksek oranda ürünler elde edilmiştir (Çizelge 3, deney no: 1-4). Benzer şekilde elektronca fakir bir diğer eşleşme ortağı olan 4-bromobenzaldehit kullanıldığında da %79-87 oranında değişen yüzdelerde eşleşme ürünleri elde edilmiştir (Çizelge 3, deney no: 5-8). Elektron çekici grup içeren 4-nitrobrombenzen kullanıldığında ise diğer aril bromürlere kıyasla daha kısa sürede ve yüksek oranda eşleşme ürünleri elde edildiği

gözlenmiştir (Çizelge 3, deney no: 21-24). Bu durum elektron yoğunluğu fazla olan substratlarda tam tersidir. Örneğin, eşleşme ortağı olarak brombenzen, 4-bromotoluen veya 4-bromoanisol kullanıldığında elektron yoğunluğu daha az olan substratlarda kıyasla dönüşüm oranının düştüğü görülmektedir (Çizelge 3, deney no: 9-20). Bu durum katalitik döngü boyunca, oksidatif katılma basamağında elektron yoğunluğu daha az olan aril bromürlerin palladyum merkezine daha kolay bağlanmasının bir sonucu olabilir. Yapılan katalitik çalışmalarda benzimidazolyum tuzlarının katalitik aktiviteleri arasında belirgin bir farkın olmadığı da görülmüştür. Benzimidazolyum tuzlarının katalitik aktiviteleri arasındaki tek farkın sterik ve elektronik özelliklerindeki küçük farklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 3. Stiren ile aril bromürlerin Heck eşleşme tepkimesi^a

Deney No	Aril bromür	NHC	Ürün	Süre [saat]	Dönüşüm [%] ^b
1		1a		3	94
2		1b		3	90
3		1c		3	85
4		1d		3	89
5		1a		3	87
6		1b		3	80
7		1c		3	79
8		1d		3	86
9		1a		3	60
10		1b		3	65
11		1c		3	72
12		1d		3	69
13		1a		3	72
14		1b		3	69
15		1c		3	60
16		1d		3	70
17		1a		3	65
18		1b		3	63
19		1c		3	60
20		1d		3	64
21		1a		2	95
22		1b		2	92
23		1c		2	90
24		1d		2	93

^a Tepkime şartları: Stiren (1.5 mmol), aril bromür (1.0 mmol), K_2CO_3 (2.0 mmol), NHC **1a-d** (0.02 mmol), Pd(OAc)_2 (0.01 mmol), su (2 mL), DMF (2 mL), 80 °C.

^b Ürün verimi aril bromür baz alınarak GC ile belirlendi.

SONUÇ

Bu çalışmada 4-fenoksibütil grubu içeren dört yeni benzimidazolyum tuzu (**1a-d**) sentezlendi. Sentezlenen bu bileşikler ¹H NMR, ¹³C NMR, FT-IR spektroskopisi ve elemental analiz yöntemleri ile karakterize edildi. Benzimidazolyum tuzlarının, Pd(OAc)_2 ile *in*

situ ortamda oluşturduğu katalitik sistemin Heck eşleşme tepkimesindeki katalitik aktivitesi incelendi. Sulu ortamda gerçekleştirilen katalitik tepkimeler sonucunda yüksek oranda eşleşme ürünleri elde edildi. Bu çalışma, literatürdeki diğer *in situ* sistemde ve sulu ortamda gerçekleştirilen benzer tepkimeler ile karşılaştırıldığında (Demir ve ark., 2012, Yiğit

ve ark., 2010), bu çalışmada daha düşük sıcaklıkta ve daha kısa sürede yüksek oranda eşleşme ürünleri elde edildiği görülmektedir. Heck tepkimeleri organik sentezlerde yeni bir karbon-karbon bağ oluşumu ile sonuçlanan çok etkili katalitik yöntemlerden biri olarak güncelliğini korumaktadır. Bundan sonraki çalışmalarda benzer katalitik sistemler kullanılarak NHC ligandlarının farklı C-C çapraz eşleşme tepkimelerindeki katalitik aktivitesinin araştırılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Bazinet P, Ong TG, O'Brien JS, Lavoie N, Bell E, Yap GPA, Korobkov I, Richerson DS, 2007. Design of Sterically Demanding, Electron-Rich Carbene Ligands With The Perimidine. Scaffold Organometallics, 26: 2885-2895.
- Bazinet P, Yap GPA, Richeson DS, 2003. Constructing a Stable Carbene with a Novel Topology and Electronic Framework. Journal of American Chemical Society, 125: 13314-13315.
- Beller M, Wu XF, Anbarasan P, Neumann H, 2010. From Noble Metal to Nobel Prize: Palladium-Catalyzed Coupling Reactions as Key Methods in Organic Synthesis. Angewandte Chemie International Edition, 49: 9047-9050.
- Borguet Y, Zaragoza G, Demonceau A, Delaude L, 2013. Assessing the ligand properties of 1,3-dimesitylbenzimidazol-2-ylidene in ruthenium-catalyzed olefin metathesis. Dalton Transaction, 42: 7287-7296.
- Demir S, Özdemir İ, Çetinkaya B, Arslan H, VanDerveer D, 2011. Synthesis and characterization of bidentate NHC-Pd complexes and their role in amination reactions. Polyhedron, 30: 195-200.
- Demir S, Zengin R, Özdemir İ, 2012. Potential *N*-Heterocyclic Carbene Precursors in the Palladium-Catalyzed Heck Reaction. Heteroatom Chemistry, 24: 77-83.
- Hadei N, Kantchev EAB, O'Brien CJ, Organ MG, 2005. Electronic Nature of *N*-Heterocyclic Carbene Ligands: Effect on the Suzuki Reaction. Organic Letters, 7-10: 1991-1994.
- Heck RF, Nolley JP, 1972. Palladium-Catalyzed Vinylic Hydrogen Substitution Reactions with Aryl, Benzyl, and Styryl Halides. Journal of Organic Chemistry, 37: 2320-2322.
- Herrmann WA, 2002. *N*-Heterocyclic Carbenes: A New Concept in Organometallic Catalysis. Angewandte Chemie International Edition, 41: 1290-1309.
- Joo F, 2002. Aqueous Biphasic Hydrogenations. Accounts of Chemical Research, 35: 738-745.
- Kaloğlu M, Kaloğlu N, Özdemir İ, Günal S, Özdemir İ, 2016. Novel benzimidazol-2-ylidene carbene precursors and their silver(I) complexes: Potential antimicrobial agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 24: 3649-3656.
- Kaloğlu M, Özdemir İ, 2018. Palladium(II)/*N*-Heterocyclic Carbene Complexes: Efficient Catalysts for the Direct C-H Bond Arylation of Furans with Aryl Halides. Applied Organometallic Chemistry, DOI: 10.1002/aoc.4399.
- Kaloğlu M, Özdemir İ, Dorcet V, Bruneau C, Doucet H, 2017. PEPSI-Type Palladium-NHC Complexes: Synthesis, Characterization, and Catalytic Activity in the Direct C5-Arylation of 2-Substituted Thiophene Derivatives with Aryl Halides. European Journal of Inorganic Chemistry, 1382-1391.

- McGuinness DS, Saendig N, Yates BF, Cavell KJ, 2001. Kinetic and Density Functional Studies on Alkyl-Carbene Elimination from Pd^{II} Heterocyclic Carbene Complexes: A New Type of Reductive Elimination with Clear Implications for Catalysis. *Journal of American Chemical Society*, 123: 4029-4040.
- Mecking S, Held A, Bauers FM, 2002. Aqueous Catalytic Polymerization of Olefins. *Angewandte Chemie International Edition*, 41: 544-561.
- Paradiso V, Costabile C, Grisi F, 2016. NHC Backbone Configuration in Ruthenium-Catalyzed Olefin Metathesis. *Molecules*, 21: 117.
- Peris E, Crabtree RH, 2004. Recent homogeneous catalytic applications of chelate and pincer *N*-heterocyclic carbenes. *Coordination Chemistry Reviews*, 248: 2239-2246.
- Sustainable Chemistry Strategic Research Agenda, 2013. [Suscem.org](http://www.suschem.org)
http://www.suschem.org/upl/3/default/doc/Suschem_SRA_final.pdf.
- The Nobel Prize in Chemistry, 2010. Press Release, [Nobelprize.org](http://www.nobelprize.org)
http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2010/press.html. (E.T: 06.10.2010).
- Titcomb LR, Caddick S, Cloke FGN, Wilson DJ, McKerrecher D, 2001. Unexpected reactivity of two-coordinate palladium-carbene complexes; synthetic and catalytic implications. *Chemical Communications*, 1388-1389.
- Trost BM, Verhoeven TR, 1982. Organopalladium Compounds in Organic Synthesis and in Catalysis. In *Comprehensive Organometallic Chemistry*. Pergamon: Oxford, 799-938.
- Yiğit B, Yiğit M, Özdemir İ, Çetinkaya E, 2010. Picolyl Substituted *N*-Heterocyclic Carbene Palladium Catalyzed Heck Reactions. *Turkish Journal of Chemistry*, 34: 327-334.

Biyoaktif Giemsa Boyama Ajanı İle Suda Çözünen Sülfonat Kaliksaren Moleküllerinin Etkileşiminin Spektrofotometrik Olarak İncelenmesi

Mevlüt BAYRAKCI^{1*}

Bahar YILMAZ¹

ÖZET: Bu çalışmada, Giemsa floresan boyasının suda çözünür sülfonat kaliksaren türevleri ile etkileşimleri spektrofotometrik yöntemlerle incelenmiştir. Bu araştırmanın amacı sülfonat kaliks[n]arenler ve Giemsa arasındaki olası moleküller arası etkileşimi değerlendirmektir. Spektrofotometrik veriler, bu etkileşimin absorpsiyon ve emisyon ölçümlerindeki değişimlere bağlı olarak kaliks[n]arenler ve Giemsa arasında muhtemel bir bağlanma meydana geldiğini göstermiştir. Sülfonat kaliks[n]arenler ve Giemsa arasındaki moleküler etkileşim, Giemsa'nın, lökosit, eritrosit, nükleus ve sitoplazma morfolojisi gibi biyolojik boyama uygulamaları sırasında kullanılmasına ilişkin bazı durumlara yön verebilir.

Anahtar Kelimeler: Giemsa, moleküler etkileşim, kaliksaren, floresans boya, spektrofotometre

The Spectrophotometric Investigation of Interaction of Water-Soluble Calixarene with Coloring Agent Bioactive Giemsa Dye

ABSTRACT: In this study, the interactions of Giemsa fluorescent dye with water- soluble sulfonate calixarene derivatives were investigated by spectrophotometry methods. The purpose of this research is to evaluate the possible interaction between sulfonate calix[n]arenes and Giemsa. The spectrophotometric data showed that this interaction was due to possible binding between calix[n]arenes and Giemsa, depending on the changes in absorption and emission measurements. Molecular interaction between sulfonate calix[n]arenes and Giemsa could give direction to some status related to the using of Giemsa during biological staining applications as leucocytes, erythrocytes, nucleus and cytoplasm morphology.

Keywords: Giemsa, molecular interaction, calix[n]arene, fluorescence dye, spectrophotometry

¹ Mevlüt BAYRAKCI (Orcid ID: 0000-0002-0416-2870), Bahar YILMAZ (Orcid ID: 0000-0002-0416-2870), Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Karaman, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mevlüt BAYRAKCI, e-mail: mevlutbayrakci@gmail.com

GİRİŞ

Kan ve kemik iliği yaymalarının klasik boyası olan Giemsa, alkol-bazlı bir boyadır ve vücut sıvılarından ya da dokulardan hazırlanan yaymalarda en başarılı boyalardan biridir. Özellikle lökositlerin, eritrositlerin, trombosit ve parazitlerin nükleus ve sitoplazma morfolojilerini ayırt etmek için kullanılır (Rowley, 1973; Hayashi ve ark., 1990). Ayrıca, yine parazitolojide diğer kan protozoonlarının (özellikle hemoflajellatların), mikroflaryaların tanısında, bazı örneklerde inklüzyon cisimciklerinin aranmasında da yararlanılır. Diğer bazı bakteriyel, viral, fungal ajanların doku invazyonlarında gelişen patolojilerin incelenmesi dahil klinik mikrobiyolojide pek çok durumda Giemsa boyası önemli bir tanı aracıdır (Perry ve Wolff, 1974). Giemsa boyasının canlı üzerinde veya ortamda istenilen bölgeyi boyaması için bazı moleküller ile kompleks oluşturup kullanılmalıdır ve zamanla molekülden salınıp boyama işlemi yapması değerlendirilmelidir.

Supramoleküller kompleks oluşumu, farklı özelliklere sahip olan iki veya daha fazla molekül, iyon veya koordinasyon bileşiklerinin molekül içi etkileşimler ile birleşmesi sonucu oluşmaktadır. Bu etkileşimlerin çoğu konakçı ve konuk tipinde olmaktadır ve konakçı moleküller kriptandlar, taç eterler, kaliksarenler, siklofanlar ve siklodekstrinler (SD) gibi kafes yapısında olan bileşiklerdir. Bu konakçı moleküller arasında en kullanışlı moleküller kaliksarenlerdir. Çünkü bu bileşikler diğer makrosiklik bileşiklerden daha kolay sentezlenip fonksiyonlandırılabilirler (Akceylan, 2011). Ayrıca kaliksarenler supramoleküler kimyada, makrosiklik bileşikler içerisinde son zamanlarda en popüler bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Bu bileşikler, supramoleküler kimyada, organik bileşikleri hidrofobik boşluklarına kapsülleme kabiliyetlerinden dolayı bir konakçı molekül

olarak yaygın şekilde kullanılmıştır (Bayrakçı ve ark 2012). Kaliksaren iskeletine bağlı olarak, bu moleküller nötr veya yüklü konaklar için “moleküler sepetler” olarak işlev görebilirler (Bayrakçı ve ark., 2011). Kaliksaren molekülleri, genel organik çözücüler içinde daha fazla çözünebilir bileşiklerdir, fakat en önemlisi hidrofilik birimler içeren yapıların suda çözünür olmasıdır. Örneğin, sülfonat kaliksaren türevleri, özellikle biyolojik uygulamalarda daha iyi suda çözünürlük özelliklerine sahip olmaları nedeniyle, küçük yüklü konuk moleküllerini boşluklarında kapsülleyen daha uygun konakçı moleküllerdir (Fei ve ark., 2013).

Bu çalışmanın amacı; kolay sentezlenebilen, çözünürlük ve inklüzyon kompleks yeteneği gibi çeşitli avantajlara sahip suda çözünür sülfonat kaliks[n]aren (n: 4, 6 veya 8) moleküllerinin floresan özellik taşıyan Giemsa boyası ile etkileşimini araştırmak ve incelemektir. Etkileşim kompleksleri için kaliks[n]aren molekülleri ile Giemsa floresan söndürme ve emisyon verileri elde edilmiştir (Lakowicz, 2006; Agudelo ve ark., 2012). Ayrıca, elde edilen etkileşim ile biyolojik boya çalışmalarında Giemsa kullanımı ve yönlendirilebilirliği ortaya konulabilir.

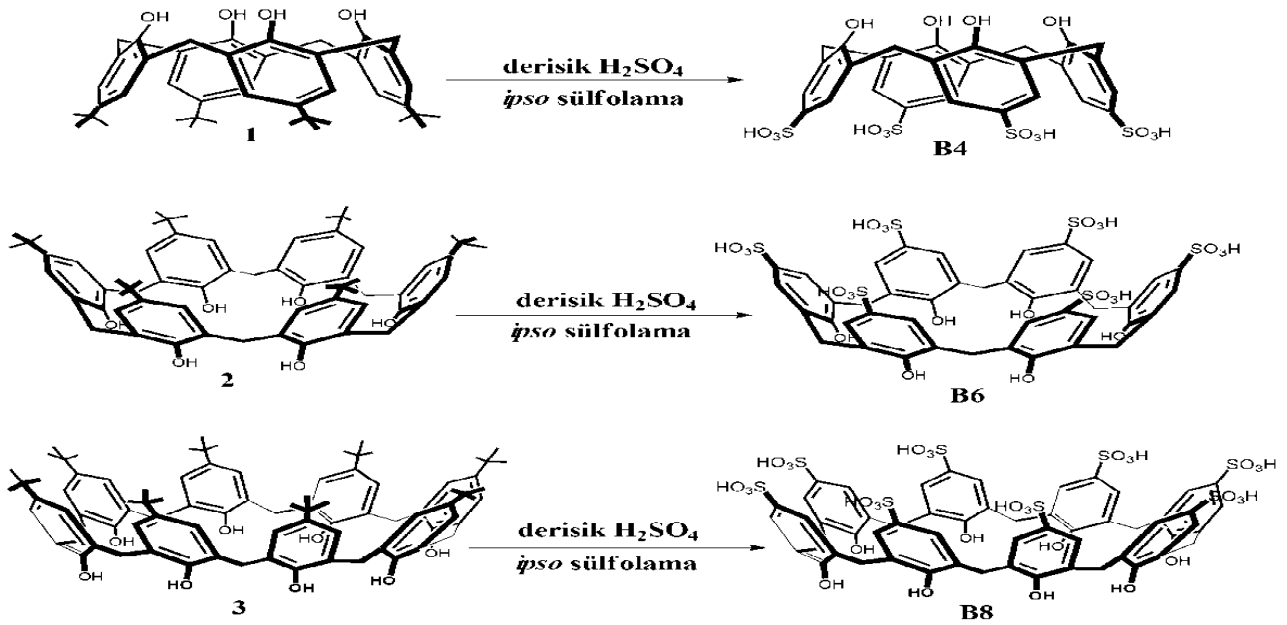
MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma temel olarak iki aşamada gerçekleştirilmiş olup bunlar bileşiklerin sentezi ve spektroskopik uygulamalarıdır. Bu bilgiye bağlı olarak yapılan çalışmada; başlangıç materyalleri *para-t*-butilkaliks[n]arenler (n: 4, 6 veya 8) (bileşik 1, 2 ve 3), Gutsche tarafından tarif edilen prosedür izlenerek hazırlanmıştır (Gutsche ve Lin, 1986). Sentezlenen bileşiklerin Giemsa ile etkileşim çalışmalarında; spektrofotometrik ölçümler için Shimadzu UV 1800, florometrik ölçümler için Hitachi F-7100 kullanılmıştır.

Sülfonato Kaliks[n]aren Sentezi (B4, B6 ve B8)

Başlangıç malzemeleri *para-t*-butilkaliks[n]arenler hazırlandıktan sonra, suda çözünür sülfonat kaliks[n]arenler (B4, B6 ve B8) hazırlanmış, literatür prosedürlerinin modifiye edilip ipso sülfonyasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 1). Kısaca, 3 mmol'e karşılık gelen *para-t*-butilkaliks[n]arenleri (n: 4, 6 veya 8), 10 mL konsantre sülfürik asit ile

karıştırılmış ve daha sonra çözelti, 24 saat 60 °C'ye kadar ısıtılmıştır. Reaksiyonun tamamlanmasından sonra, çözelti içerisindeki fazla miktardaki sülfürik asidi çıkarmak için dietil eter ile karıştırılmış ve elde edilen ürün çöktürülmüştür. B4, B6 ve B8 kaliksaren yapılarının arındırılması için elde edilen analitik verilerin, daha önce yayımlanmış sonuçlarla benzer olduğu görülmüştür (Shinkai ve ark., 1987).



Şekil 1. Suda çözünür sülfonat kaliks[n]arenler (n: 4, 6 veya 8) a) B4, b) B6 ve c) B8

Spektrofotometrik Çalışmalar

Giemsa boyasının (G) %3'lük çalışma çözeltisi metil alkol: aseton (1:1) içinde çözünerek hazırlanmıştır. B4, B6 ve B8 çözeltileri ise 0.5 M olacak şekilde suda çözdürülerek hazırlanmıştır. Stok çözeltisi hazırlanan kaliksaren molekülleri farklı konsantrasyonlarda (100-1000 µM) içinde %3'lük G bulunan quarz küvetlere eklenerek ölçümler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen karışım daha sonra, UV-Vis spektrofotometrede 200-600 nm aralığında kaliksaren türevlerinin varlığında

ve yokluğunda G'nin absorpsiyon spektrumları kaydedilmiştir. Aynı zamanda hem uyarım hem de emisyon için 565 nm'de floresan yoğunluğu, 480 nm dalga boyunda uyarım altında belirlenmiştir.

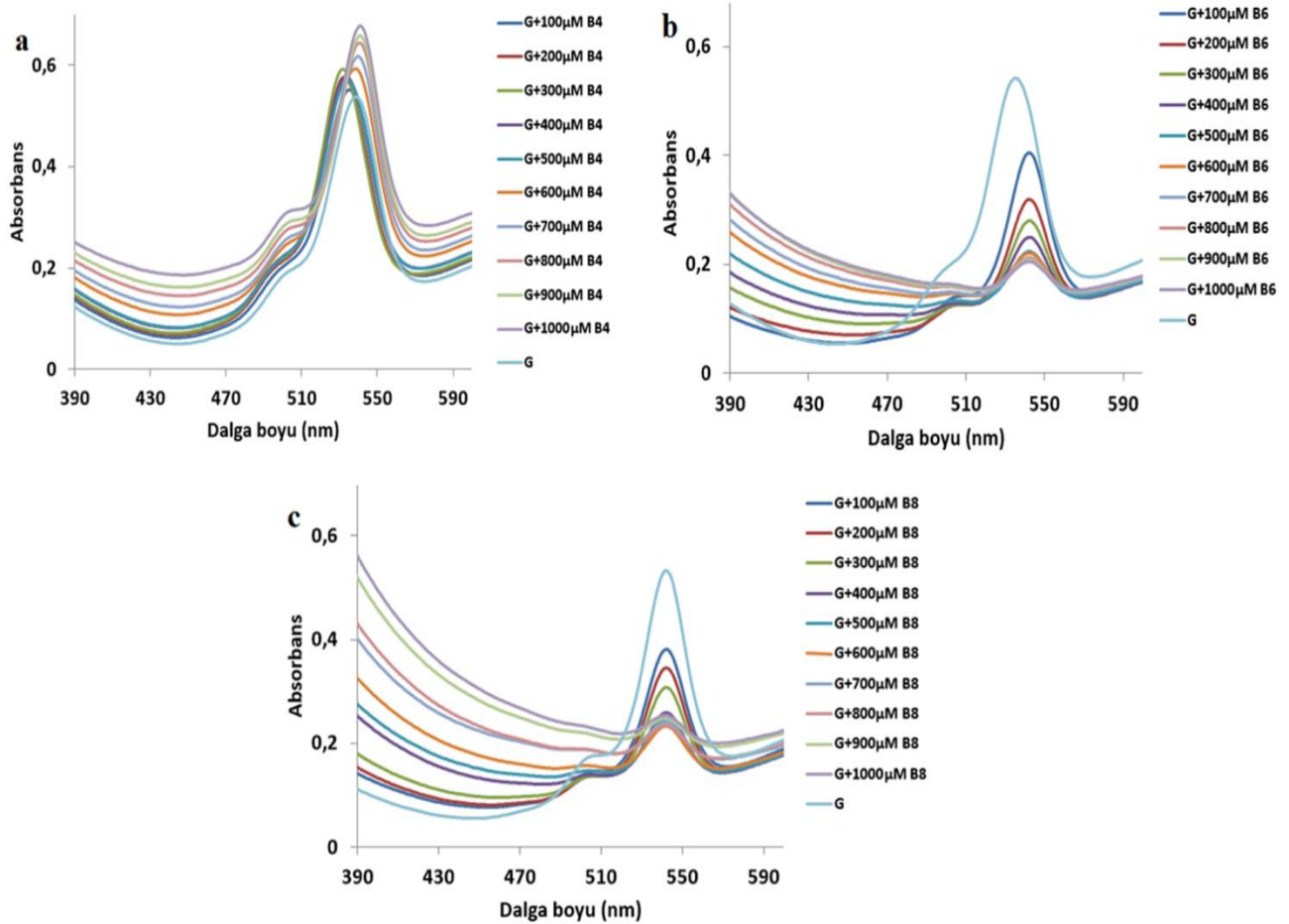
BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapmış olduğumuz çalışmada son ürün olarak üç adet suda çözünür bileşik elde edilmiştir (B4, B6 ve B8). Çalışmanın ikinci aşamasında ise sentezlenen bileşiklerin floresan özellik taşıyan G ile etkileşimleri araştırılmıştır.

Bununla beraber sentezlenen suda çözünür bileşik türlerinden hangisinin G ile daha fazla etkileşim içinde olduğu tespit edilmiş, spektroskopik değişimlere bağlı olarak G'nin biyolojik boya çalışmaları için kontrollü kullanımı araştırılmıştır.

Şekil 2'de gözlemlenen B4, B6 ve B8 için gerçekleştirilen absorpsiyon çalışmasında; etanol/su karışımında, G çözeltisi ile farklı konsantrasyonlarda B4, B6 ve B8 çözeltileri (100-1000 μM) hazırlanmış ve bu çözeltilere absorpsiyon, uygulamaları kaydedilmiştir. B4'ün

absorpsiyon spektrumu temel olarak iki farklı geçiş ortaya koymuş (515 ve 535 nm), bu noktalarda hipsokromik ve hiperkromik kaymalar gözlemlenmiştir (Şekil 2a). B6 ve B8 eklendiğinde ise yaklaşık 510 nm civarında tek geçiş meydana gelmiştir. B6 bileşiğinde hipokromik kayma meydana gelmişken (Şekil 2b), B8 bileşiği ile G etkileşiminde de hipokromik oluşumlar takip edilmiştir (Şekil 2c). Burada gözlemlenen geçişler farklı aromatik gruplar arasında $\pi-\pi^*$ gibi etkileşim geçişlerine işaret etmektedir (Bayrakçı ve Yılmaz, 2018).



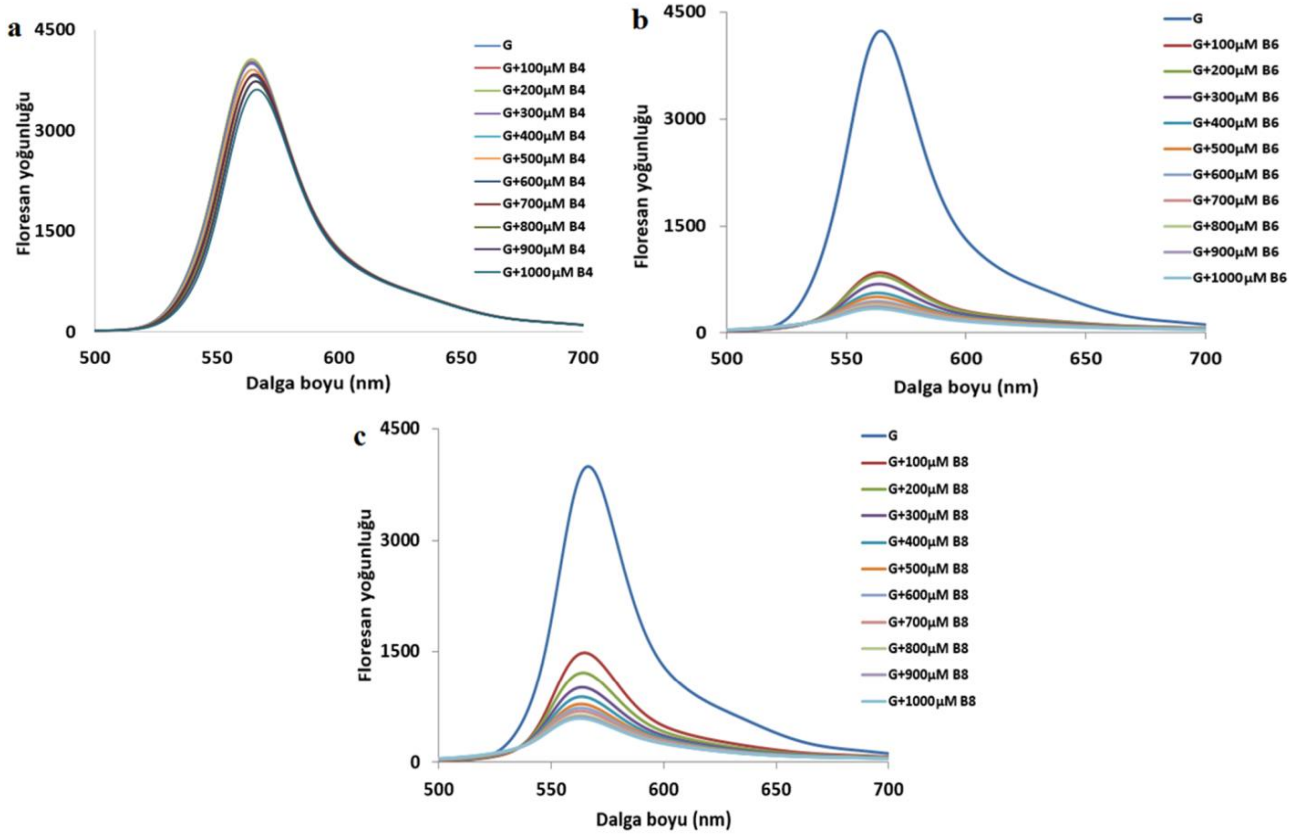
Şekil 2. Farklı konsantrasyonlardaki; a) B4, b) B6 ve c) B8 bileşikleri (100-1000 μM) varlığında G'nin absorpsiyon spektrumları

Absorpsiyon spektrumlarındaki değişimleri destekleyebilmek amacıyla aynı karışımların emisyon spektrumları da alınmıştır.

(Şekil 3) Absorpsiyon ölçümlerinin paralelinde B4 ile G arasındaki etkileşimde G'nin floresan yoğunluğunda önemli bir değişim

gözlenmemiştir (Şekil 3a). B6 ve B8 varlığında ise G boyasının 565 nm'de gösterdiği floresan yoğunluğunda belirgin bir azalma meydana

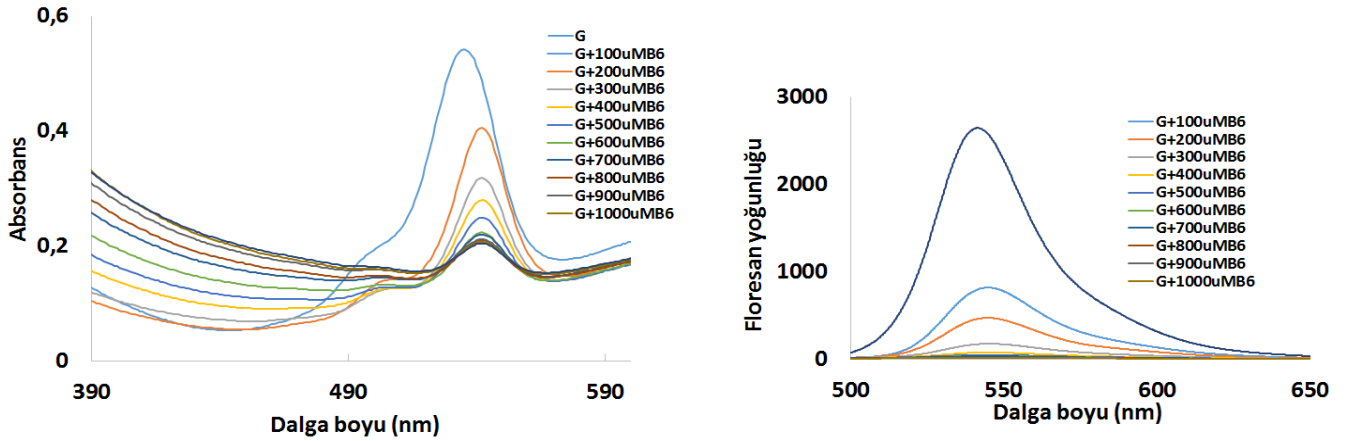
gelmiştir (Şekil 3b, 3c). Bu etkileşim sayesinde floresan özellik taşıyan G boyasının hangi bileşiğe karşı daha seçici olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3. Farklı konsantrasyonlardaki; a) B4, b) B6 ve c) B8 bileşikleri (100-1000 μM) varlığında G'nin emisyon spektrumları

Yine bu çalışmada G ile en iyi etkileşimi veren B6 molekülünün emisyon ve absorpsiyon çalışmaları, G molekülünün asidik ortamdaki davranışları dikkate alınarak fosfat tamponunda (pH 7.02) gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneylerde Şekil 4'de görüleceği üzere Şekil 2 ve 3'deki gibi B6 molekülü için benzer sönümlenme sonuçları gözlemlenmiştir. Bu sonuçlardan G molekülü ile kaliksaren molekülü B6'nın etkileşimi net olarak ortaya koymuştur. Çünkü tamponsuz çalışmalarda ortamın pH değeri çalışılan kaliksaren moleküllerinin sahip

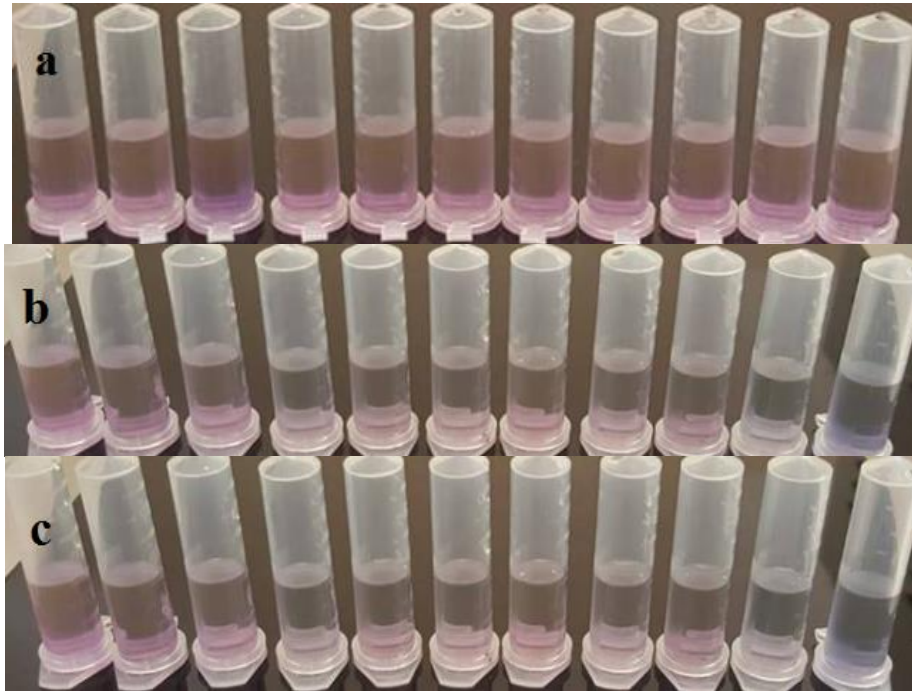
olduğu sülfonik asit gruplarından dolayı düşebilmektedir. G molekülü literatürde daha çok pH 6.8 ile 7.2 değerleri arasında boyama çalışmalarında tercih edilmekte olup düşük pH aralıklarında ise G molekülünün bu yeteneği ortadan kaybolmaktadır. Ancak tampon ortamında ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$) yapılan emisyon deneylerinden artan kaliksaren B6 varlığında kademeli olarak G'nin emisyon yoğunluğunun azaldığı net olarak görülmektedir. Buda B6 ile G molekülü arasındaki etkileşimi net olarak göstermektedir.



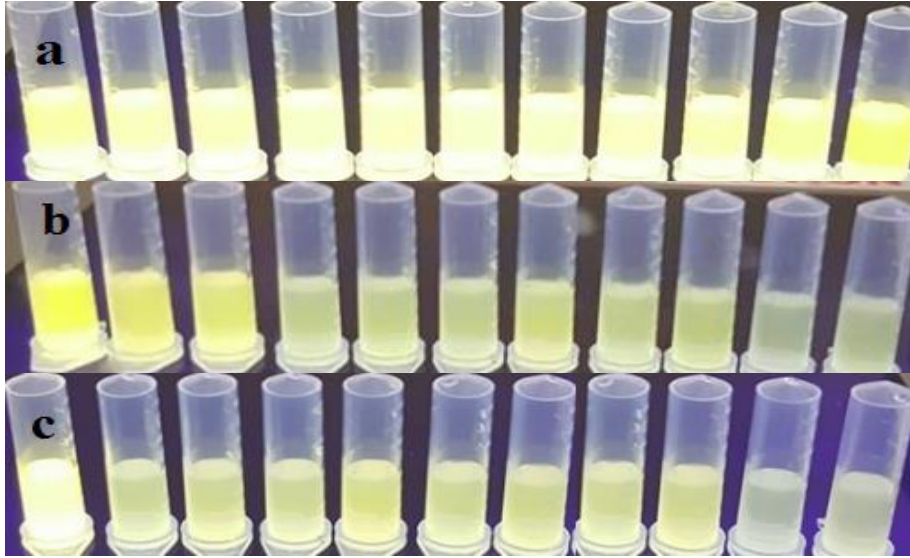
Şekil 4. Fosfat tamponunda (pH 7.02) farklı konsantrasyonlardaki B6 (100-1000 μM) varlığında G'nin absorpsiyon ve emisyon spektrumları.

Çalışmada incelenen etkileşim için yapılması gereken bir diğer işlem ise farklı konsantrasyonlardaki (100 μM , 200 μM , 300 μM , 400 μM , 500 μM , 600 μM , 700 μM , 800 μM , 900 μM ve 1000 μM) B4, B6 ve B8 bileşikleriyle G karışımının gün ışığı ve UV-

lambda altında alınan görüntülerini incelemektir. Bu görüntüler, kaliksaren türevlerinin boya bağlama ve sensör çalışmalarında kullanılabileceğini net olarak ortaya koymuştur. (Şekil 5 ve Şekil 6)



Şekil 5. G'nin a) B4, b) B6 ve c) B8 ile gün ışığında görünümü



Şekil 6. G'nin a) B4, b) B6 ve c) B8 ile UV lamba altında görünümü

SONUÇ

Bu çalışmada kompleks oluşturabilme, etkileşim yapabilme gibi birçok özelliğe sahip kaliksaren türevleri farklı sentez metotları kullanılarak hazırlanmış ve bu moleküllerin Giemsa gibi biyolojik floresan boya ile etkileşim özellikleri spektroskopik metotlarla araştırılmıştır. Bu kapsamda ilk olarak kaliksaren molekülleri sentezlenmiş ve suda çözünür türevleri elde edilmiştir. Bu bağlamda son ürün olarak 3 adet bileşik sentezlenmiş ve bunlar B4, B6 ve B8 olarak isimlendirilmiştir. Bu bileşiklerin floresan Giemsa boyası ile etkileşerek Giemsa'nın sönümlenmesine neden olması sensör çalışmalarına ışık tutabilir, aynı zamanda bu bileşikler boya bağlama çalışmalarında da kullanılabilirler. Öyle ki absorpsiyon ve emisyon bandlarındaki kayma ve genişlemeler, UV ışık altındaki sönümlenmeler bu etkileşimleri kanıtlamaktadır. Elde edilen tüm veriler dahilinde B6 ve B8 bileşikleri Giemsa gibi floresan boyalar için sensör olarak kullanılabilirliğinin yanında biyolojik boya çalışmalarında boya bağlayıcı olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Gutsche 1985 yılında bakteriler üzerinde yaptığı ames testi ile kaliksarenlerin toksik aktivite

göstermediğini belirlemiştir (Ozyılmaz, 2016). Yapılan bu çalışma ile, kaliksaren türevleri ve biyolojik boyalar arasındaki etkileşimin in vivo ortamlarda da kontrollü biyolojik boya çalışmalarına ışık tutacağı ön görülmektedir. Bu çalışma ile; boyalar ve makromoleküller arasındaki olası etkileşimlerin daha iyi anlaşılmasının, mümkün olan yöntemlerden daha kesin ve özel olarak belirli doku bileşenleriyle reaksiyona girebilen biyolojik boyalar ve boyama yöntemlerinin geliştirilmesini sağlayacağı tahmin edilmektedir.

KAYNAKÇA

- Agudelo D, Beauregard M, Bérubé G, Tajmir-Riahi HA, 2012. Antibiotic doxorubicin and its derivative bind milk β -lactoglobulin. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 117: 185-192.
- Akceylan E, Yılmaz, M, 2011. Synthesis of water-soluble calixarenes catalyzed one-pot Mannich-Type reaction in aqueous media. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 36: 801-816.

- Bayrakçı M, Ertul S, Yılmaz M, 2012. Synthesis of new water-soluble phosphonate calixazacrowns and their use as drug solubilizing agents. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 74: 293–303.
- Bayrakçı M, Ertul S, Yılmaz M, 2011. Transportation of poorly soluble drugmolecules from the organic phase to the aqueous phase by using phosphorylatedcalixarenes. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 56: 4473–4479.
- Bayrakçı M, Yılmaz B, 2018. Intermolecular interactions and binding mechanism of inclusion complexation between sulfonate calix[n]arenes and ethidium bromide. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 90: 341-349.
- Ozyilmaz E, Bayrakci M, Yılmaz M, 2016. Improvement of catalytic activity of *Candida rugosa* lipase in the presence of calix[4]arene bearing iminodicarboxylic/phosphonic acid complexes modified iron oxide nanoparticles. *Bioorganic Chemistry*, 65: 1-8.
- Fei X, Zhang Y, Zhu S, Liu L, Yu L, 2013. Spectral study and protein labeling of inclusion complex between dye and calixarene sulfonate. *Applied Spectroscopy*, 67: 520–525.
- Gutsche CD, Lin LG, 1986. Calixarene 12: the synthesis of functionalized calixarene. *Tetrahedron*, 42: 1633-1640.
- Hayashi M, Morita T, Kodama Y, Sofuni T, Ishidate JM, 1990. The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutation Research Letters*, 245: 245-249.
- Lakowicz JR, 2006. Plasmonics in biology and plasmon-controlled fluorescence. *Plasmonics*, 1: 5-33.
- Perry P, Wolff S, 1974. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature*, 251: 156-158.
- Rowley JD, 1973. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*, 243: 290-293.
- Shinkai S, Araki K, Tsubaki T, Arimura T, Manabe O, 1987. New syntheses of calixarene-p-sulphonates and p-nitrocalixarenes. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*: 2297-2299.

Synthesis and Characterization of Enaminone Derivatives of Barbituric Acid

Erkan FIRINCI^{1*}

ABSTRACT: In this study, four enaminones derived from barbituric acid were synthesized with the reaction of 5-formylbarbituric acid and selected primer amines with high yield. The structures of all compounds were proved by using ATR-FTIR, ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. Also, ¹⁹F NMR spectroscopy was used for characterization of **2d**. The obtained spectroscopic results have complied with reported similar derivatives in literature.

Keywords: Barbituric acid, Enaminone, Condensation reaction, Spectroscopy

Barbitürik Asitin Enaminon Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

ÖZET: Bu çalışmada barbitürik asitten türeyen dört enaminon türevi 5-formilbarbitürik asit ve seçilen birincil aminlerin reaksiyonu ile yüksek verimle sentezlenmiştir. Sentezlenen bütün bileşiklerin yapıları ATR-FTIR, ¹H ve ¹³C NMR spektroskopileri kullanılarak kanıtlanmıştır. Bileşik **2d**'nin yapısal karakterizasyonun da ayrıca ¹⁹F NMR spektroskopisi kullanılmıştır. Elde edilen spektroskopik sonuçlar literatürdeki rapor edilmiş benzer türevler ile uyumludur.

Anahtar Kelimeler: Barbitürik asit, Enaminon, Kondenzasyon reaksiyonu, Spektroskopi

¹ Erkan FIRINCI (Orcid ID: 0000-0003-0741-9608), Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Art and Science, Department of Chemistry, Efeler, Aydın, Turkey

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Erkan FIRINCI, e-mail: efirinci@adu.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 11.07.2018
Kabul tarihi / Accepted: 07.12.2018

INTRODUCTION

Enaminones are a significant subclass of organic compounds which contain conjugated N-C=C-C=O fragment owing to fact that they include both nucleophilic and electrophilic moieties at same skeleton (Castro-Alvarez et al., 2017). These active sites help to synthesis of linear or cyclic hetero atom containing organic compounds (Negri et al., 2004; Kumar et al., 2018). Both enaminones and the organic compounds derived from them have biological activity against the most harmful microorganisms (Negri et al., 2004; Baldwin et al., 2018). Therefore, there is still a demand for synthesis of new enaminone derivatives. The most common way for preparation of enaminone derivatives is the condensation of a β -diketone and a primary amine at mild condition in an organic solvent (Elassar and El-Khair, 2003). Barbituric acid is more convenient candidate for reach enaminones so it contains β -diketone fragment in the six-membered ring (Mahmudov et al. 2014). Barbituric acid derivatives have been widely used in syntheses of different type complexes because they have three oxygen and two nitrogen atoms which can bind to transition metal center (Firinçı et. al, 2017). Also, an active methylene group is presented in the skeleton of barbiturates for preparation of organic compounds. On the other hand, the compounds derived from barbituric acid have attracted much interest as many barbiturate derivatives are pharmacologically active (Neumann et al, 2014). In this context, the barbiturate bearing enaminones were synthesized by reaction of 5-formylbarbituric acid and selected primer amines in presented study. The structures of the prepared compounds were elucidated by ATR-FTIR, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy.

MATERIAL AND METHODS

Materials and Physical Measurements

All chemical reagents were obtained commercially and used without further purification. 5-formyl barbituric acid was synthesized according to literature (Neumann et al, 2014). Melting points were measured with a Stuart SMP30 melting point apparatus. Infrared spectra were measured on an ATR Spectrum-II, Perkin Elmer spectrometer. Elemental analyses were performed by ODTU Microlab (Ankara, Turkey). ^1H , ^{13}C and ^{19}F NMR spectra were measured on a Varian 400 spectrometer and referenced internally to residual protio-solvent (^1H) or solvent (^{13}C) resonances in $(\text{CD}_3)_2\text{S}$. ^{19}F NMR spectra were referenced to CFCl_3 .

Experimental

General procedure for synthesis of enaminones (2)

5-formyl barbituric acid (**1**, 5.0 mmol) and aniline derivative (5.0 mmol) were mixed in 20 mL of methanol than the mixture was refluxed for 4h in presence of catalytic amount of acetic acid. The suspension was cooled down at room temperature and the precipitate was filtered. The solid product was washed with diethyl ether and dried (Figure 1).

Synthesis of 2a

Pale orange powder, 0.52 g, Yield: 53.2%, m.p.: 262-264 °C (decom.), IR (ν cm^{-1}): 3245, 3174, 3082, 3005, 2825, 1721, 1640, 1633, 1609. Anal. Calc. for $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$: C, 49.23; H, 4.65; N, 21.53; found: C, 49.27; H, 4.58; N, 21.62. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 4.10 (t, 2 H, HNCH_2CH), 5.18 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.93 (m, 1 H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 8.08 (d, 1 H, $\text{NHCH}=\text{C}$, j : 14.5 Hz), 10.16 (m, 1 H, $\text{NHCH}=\text{C}$), 10.56 (br. s, 1 H, $\text{O}=\text{CNH}$), 10.65 (br. s, 1 H, $\text{O}=\text{CNH}$). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 51.2 (HNCH_2CH), 89.8 ($\text{NHCH}=\text{C}$), 117.5 (HNCH_2CH), 134.4 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 150.9 ($\text{C}=\text{O}$), 158.7 ($\text{NHCH}=\text{C}$), 163.9 ($\text{C}=\text{O}$), 165.9 ($\text{C}=\text{O}$).

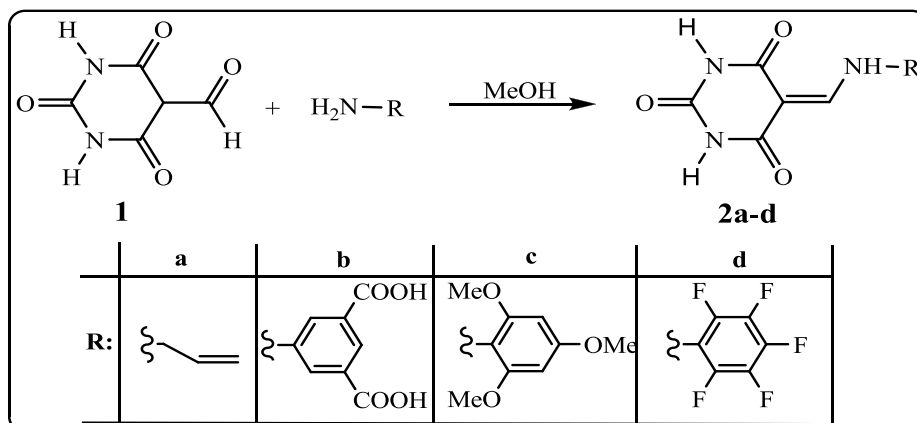


Figure 1. Synthesis of Enaminone Derivatives

Synthesis of 2b

White powder, 1.59 g, Yield: 99.5%, m.p.: 376-378 °C (decom.), IR (ν cm^{-1}): 3528, 3166, 3111, 3003, 2832, 1734, 1724, 1697, 1615. Anal. Calc. for $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_7$: C, 48.91; H, 2.84; N, 13.16; found: C, 48.87; H, 2.92; N, 13.13. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 8.19 (s, 2 H, *o*- $\text{H-C}_6\text{H}_3$), 8.27 (s, 1 H, *p*- $\text{H-C}_6\text{H}_3$), 8.54 (d, 1 H, NHCH=C , j : 9.4 Hz), 10.90 (s, 1 H, O=CNH), 11.03 (s, 1 H, O=CNH), 11.87 (d, 1 H, NHCH=C , j : 9.4 Hz), 13.47 (br. s, 2H, COOH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 93.4 (NHCH=C), 123.3 (C_6H_3), 126.7 (C_6H_3), 132.7 (C_6H_3), 139.7 (C_6H_3), 150.7 (C=O), 151.8 (NHCH=C), 163.6 (C=O), 165.7 (C=O), 166.0 (C=O).

Synthesis of 2c

Bright yellow powder, 1.41 g, Yield: 87.9%, m.p.: 300-302 °C (decom.), IR (ν cm^{-1}): 3123, 3075, 3040, 2854, 1750, 1716, 1688, 1662. Anal. Calc. for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6$: C, 52.34; H, 4.71; N, 13.08; found: C, 52.37; H, 4.62; N, 13.12. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 3.63 (s, 3H, *p*- $\text{OCH}_3\text{-C}_6\text{H}_2$), 3.82 (s, 6H, *o*- $\text{OCH}_3\text{-C}_6\text{H}_2$), 6.86 (s, 2H, *m*- $\text{H-C}_6\text{H}_2$), 8.58 (d, 1 H, NHCH=C , j : 14.1 Hz), 10.84 (s, 1 H, O=CNH), 10.98 (s, 1 H, O=CNH), 11.88 (d, 1 H, NHCH=C , j : 14.1 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 56.2 (OCH_3), 60.1 (OCH_3), 92.2 (NHCH=C), 96.3 (C_6H_2), 134.5 (C_6H_2), 135.4 (C_6H_2), 150.7 (C_6H_2), 151.6 (C=O), 153.6 (NHCH=C), 163.6 (C=O), 166.3 (C=O).

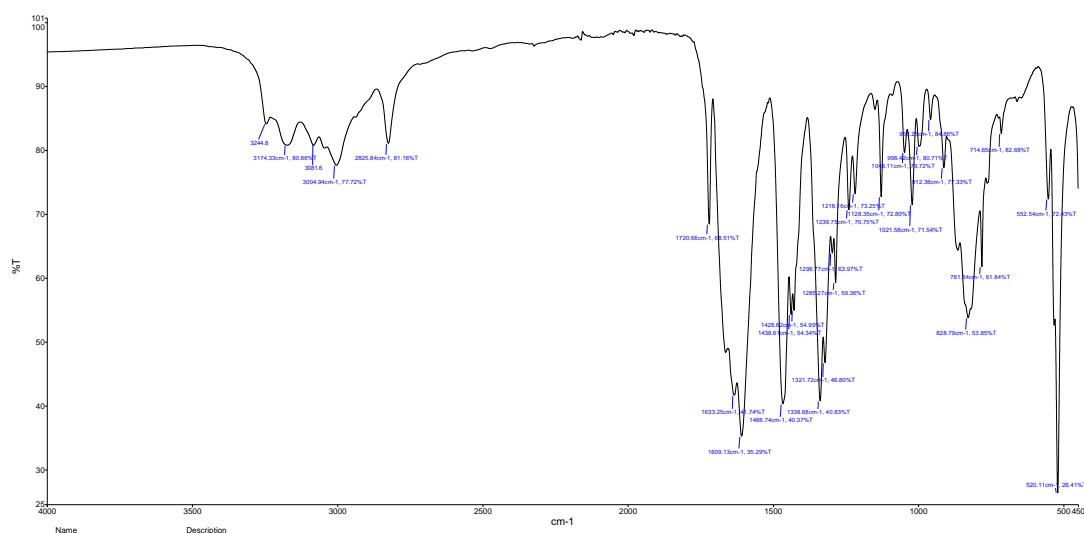
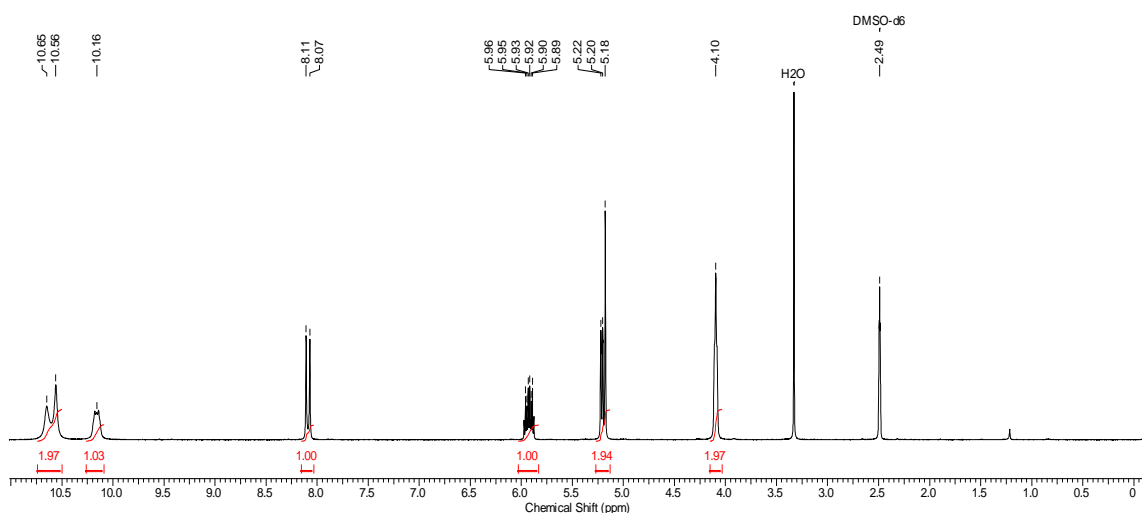
Synthesis of 2d

White powder, 0.64 g, Yield: 40.0%, m.p.: 290-292 °C (decom.), IR (ν cm^{-1}): 3258, 3183, 3070, 2810, 1721, 1685, 1640, 1615. Anal. Calc. for $\text{C}_{11}\text{H}_4\text{N}_3\text{O}_3\text{F}_5$: C, 41.14; H, 1.26; N, 13.08; found: C, 41.17; H, 1.22; N, 13.02. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 8.34 (d, 1 H, NHCH=C , j : 13.3 Hz), 10.98 (s, 1 H, O=CNH), 11.05 (s, 1 H, O=CNH), 11.46 (d, 1 H, NHCH=C , j : 13.3 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): 94.8 (NHCH=C), 150.5 (C=O), 155.8 (NHCH=C), 163.1 (C=O), 166.1 (C=O). ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d_6 , δ ppm): -167.15 (t, 2F, *m*- $\text{F-C}_6\text{F}_5$, J : 52.6), -163.06 (t, 1F, *p*- $\text{F-C}_6\text{F}_5$, J : 45.1), -155.24 (d, 2F, *o*- $\text{F-C}_6\text{F}_5$, J : 45.1).

RESULTS AND DISCUSSION

The barbiturate enaminone derivatives were synthesized by the condensation of 5-formyl barbituric acid and selected primary amine in methanol. The structural characterizations of the compounds were done by ATR-FTIR and NMR spectroscopy.

The IR spectra of **2a**, the broad absorption bands for $\nu(\text{N-H})$ of barbiturate amides and enamine appeared at 3250-2825 cm^{-1} . Also, $\nu(\text{C-H})$ absorption bands of allyl moiety overlapped in the same region. The strong sharp bands from 1750 to 1600 cm^{-1} were attributed to C=O stretching vibrations.

Figure 2. IR spectra of **2a**Figure 3. ^1H NMR spectra of **2a**

The NH proton of enaminone moiety appeared at 10.16 ppm as multiplet in ^1H NMR spectra of **2a**. The doublet peak at 8.08 ppm was assigned to CH proton of enaminone moiety. The barbiturate amide protons gave two broad singlet peaks at 10.56 and 10.65 ppm, respectively. The multiplet signals at 4.10, 5.18 and 5.93 ppm belonged to the ally fragment. Also, the found integration areas of protons are compatible with number of protons in **2a**.

There are eight carbon atoms in **2a** which have different chemical environment each other and they have been detected by ^{13}C NMR spectroscopy (Figure 4). The ^{13}C NMR spectrum showed that the vinylic carbon atoms of $\text{C}=\text{CH}-\text{NH}-\text{CH}_2$ gave two peaks at 89.8 and 158.7 ppm. The chemical shift of the carbonyl carbons of **2a** were observed at 150.9, 163.9 and 165.9 ppm in the ^{13}C NMR spectra.

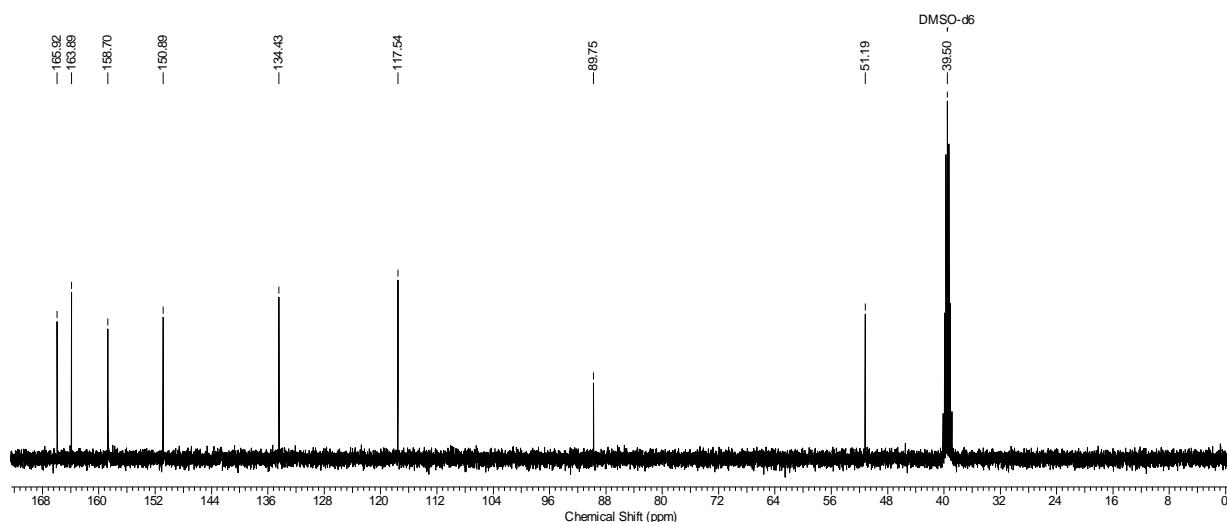


Figure 4. ^{13}C NMR spectra of **2a**

For **2b**, the broad medium band at 3528 cm^{-1} was assigned to the stretching vibrations of $\nu(\text{O-H})$ from carboxylic acids. The strong peaks around at $3200\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ belonged to $\nu(\text{N-H})$

and $\nu(\text{C-H})$ vibrations. The characteristic sharp bands of C=O stretching vibrations were observed from $1740\text{ to }1600\text{ cm}^{-1}$ (Figure 5).

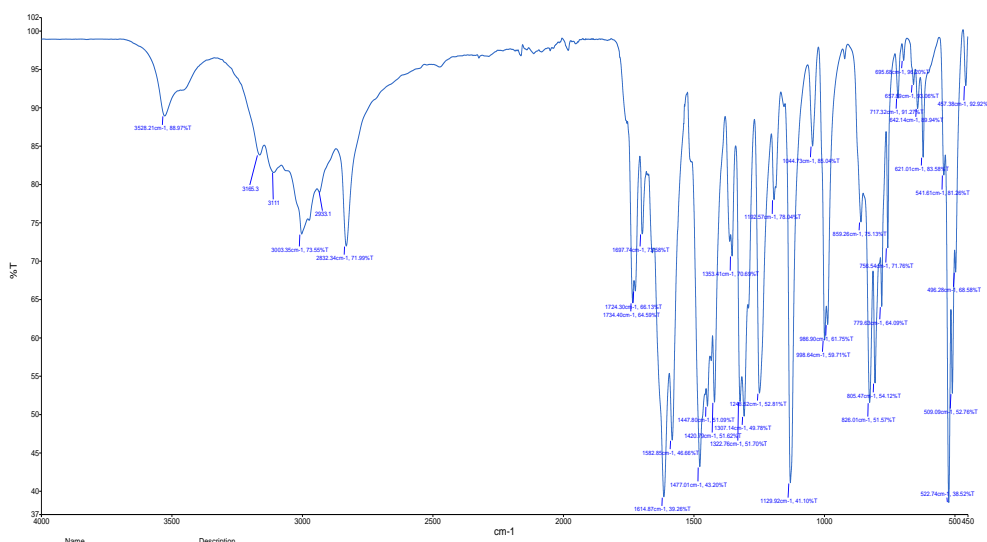


Figure 5. IR spectra of **2b**

The broad singlet peak at 13.47 ppm was assigned to COOH protons of **2b** in the ^1H NMR spectra. The CH and NH protons of enaminone moiety gave doublet at 8.54 and 11.87 ppm , respectively. The NH protons of barbiturate ring

appeared at 10.90 and 11.03 ppm as singlet. Two singlets at 8.19 and 8.27 ppm belonged *ortho* and *para* protons of aromatic ring respectively according to the integration areas of peaks.

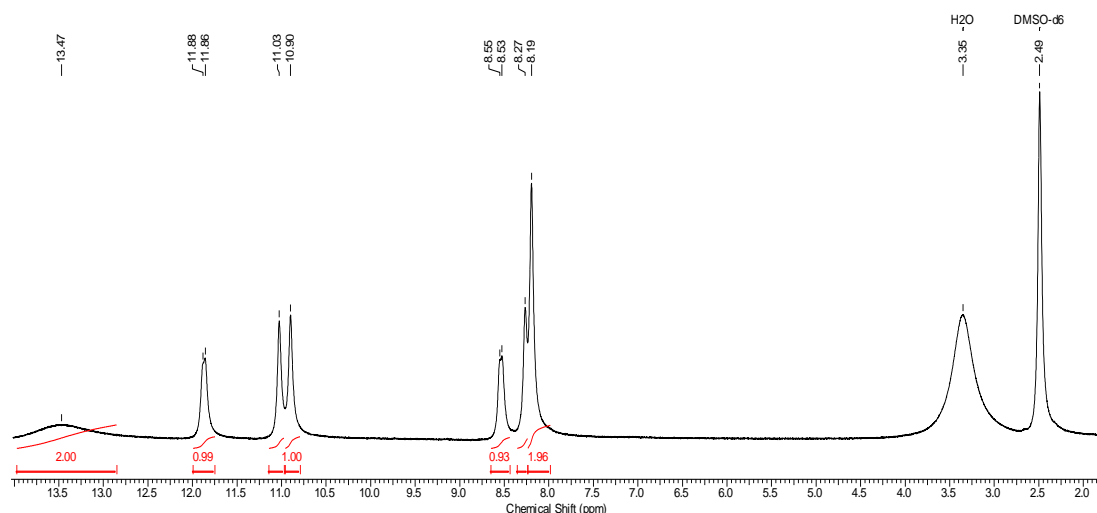


Figure 6. ^1H NMR spectra of **2b**

The signals at 93.4 and 151.8 ppm belonged to the vinylic carbon atoms of **2b** in the ^{13}C NMR spectra (Figure 7). The four peaks at 150.7, 163.6, 165.7 and 166.0 ppm were

assigned to the carbonyl carbons of barbiturate moiety and carboxylic acid. Also, the number of observed carbon atom signals in the ^{13}C NMR spectra complies with the expected.

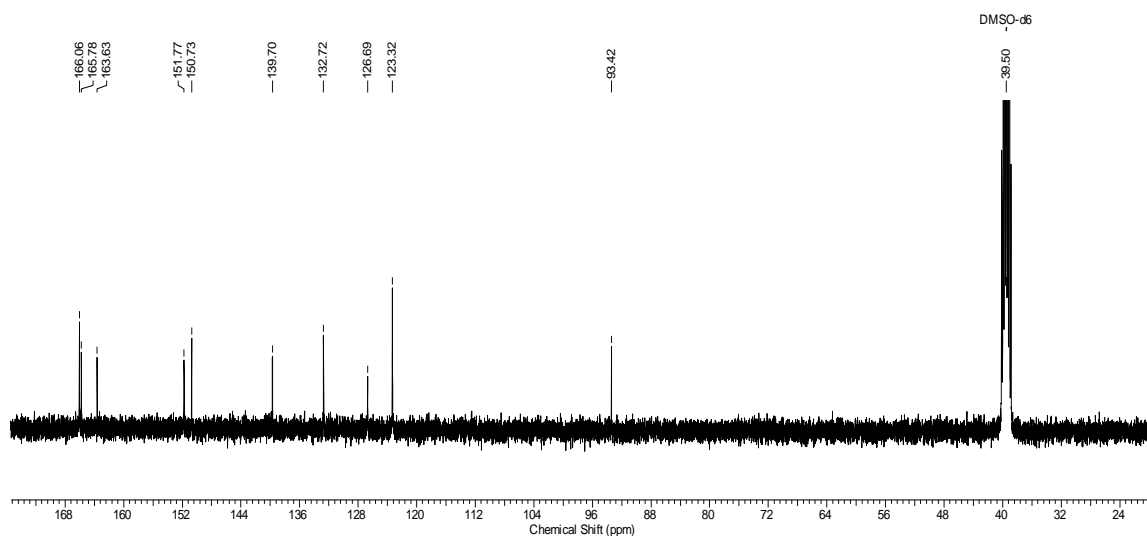
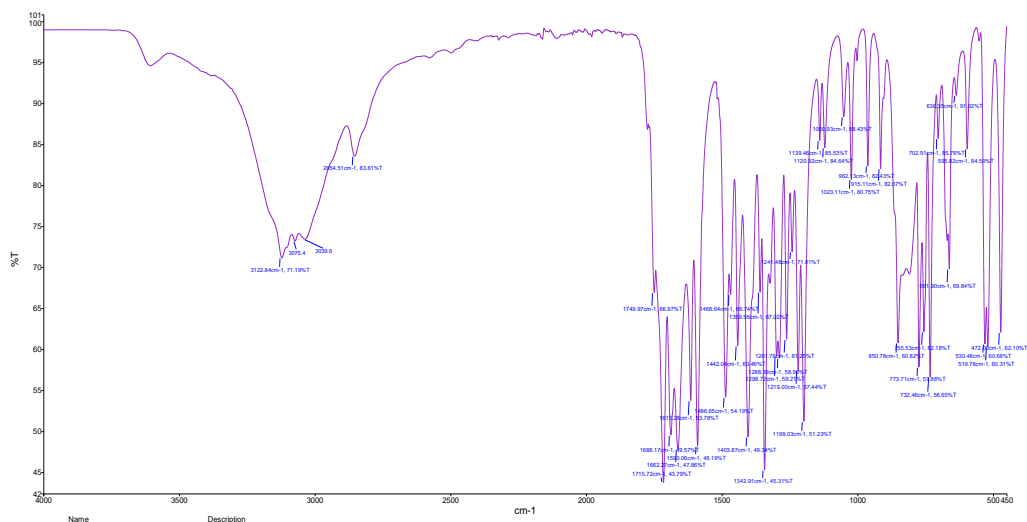


Figure 7. ^{13}C NMR spectra of **2b**

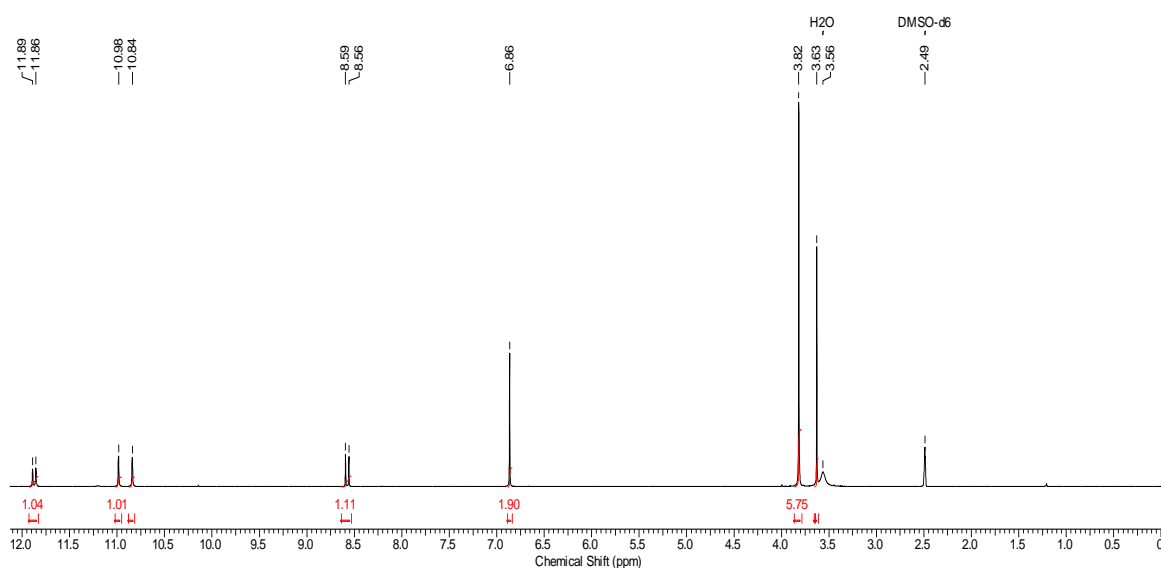
In the IR spectra of **2c**, the broad absorption bands at $3200\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ were assigned to $\nu(\text{N-H})$ of barbiturate amides and enamine. Also, $\nu(\text{C-H})$ absorption bands

overlapped in the same region. The strong sharp bands from $1750\text{ to }16500\text{ cm}^{-1}$ were attributed to C=O stretching vibrations.

Figure 8. IR spectra of **2c**

The ^1H NMR spectra of **2c**, two singlets at 3.63 and 3.82 ppm belonged *para* and *ortho* methoxy protons according to the integration areas of peaks. The singlet peak at 6.86 ppm was assigned to phenyl protons. The CH and NH

protons of enaminone moiety gave doublet at 8.58 and 11.88 ppm, respectively. The NH protons of barbiturate ring appeared at 10.84 and 10.98 ppm as singlet.

Figure 9. ^1H NMR spectra of **2c**

The peaks of methoxy carbons appeared at 56.2 and 60.1 ppm. The vinylic fragment displayed two signals at 92.2 and 153.6 ppm **2c** in the ^{13}C NMR spectra (Figure 10). The three distinct resonances at 151.6, 163.6 and 166.3

ppm were assigned to the carbonyl carbons of barbiturate moiety. Also, the number of observed carbon atom signals in the ^{13}C NMR spectra is consistent with the expected.

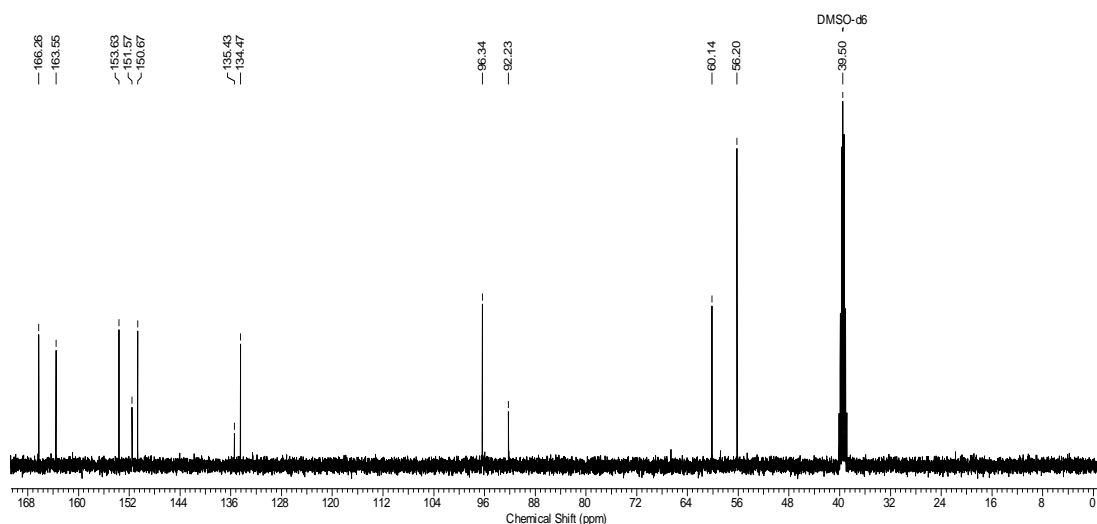


Figure 10. ^{13}C NMR spectra of **2c**

The $\nu(\text{N-H})$ and $\nu(\text{C-H})$ bands of **2d** appeared at between 2800 and 3260 cm^{-1} . The strong sharp bands from 1720 to 1600 cm^{-1} were

assigned as $\text{C}=\text{O}$ stretching vibrations (Figure 11).

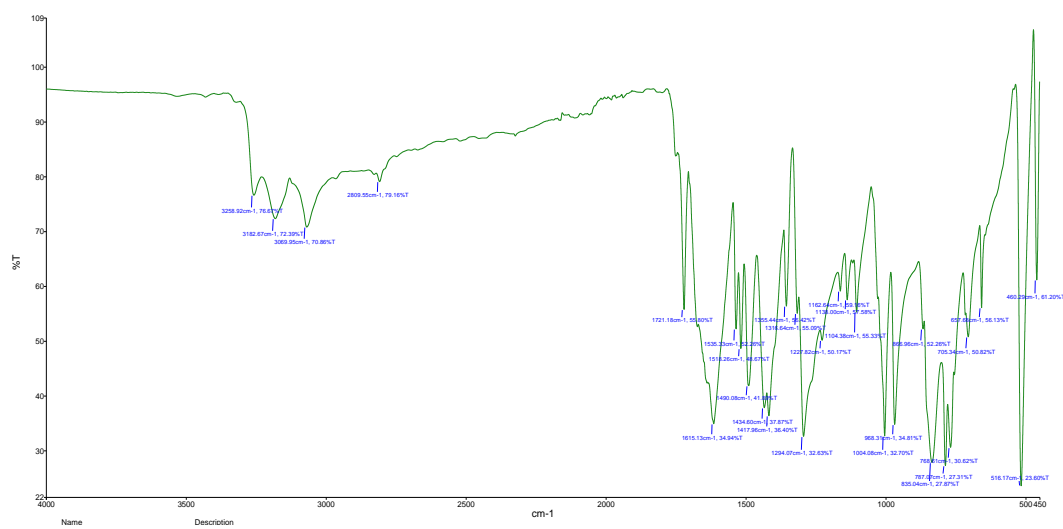


Figure 11. IR spectra of **2d**

The ^1H NMR spectra of **2d** showed that The NH and CH protons of enaminone moiety gave rise to doublet peaks at 8.34 and 11.46

ppm, respectively. The barbiturate amide protons gave two singlet peaks at 10.98 and 11.05 ppm.

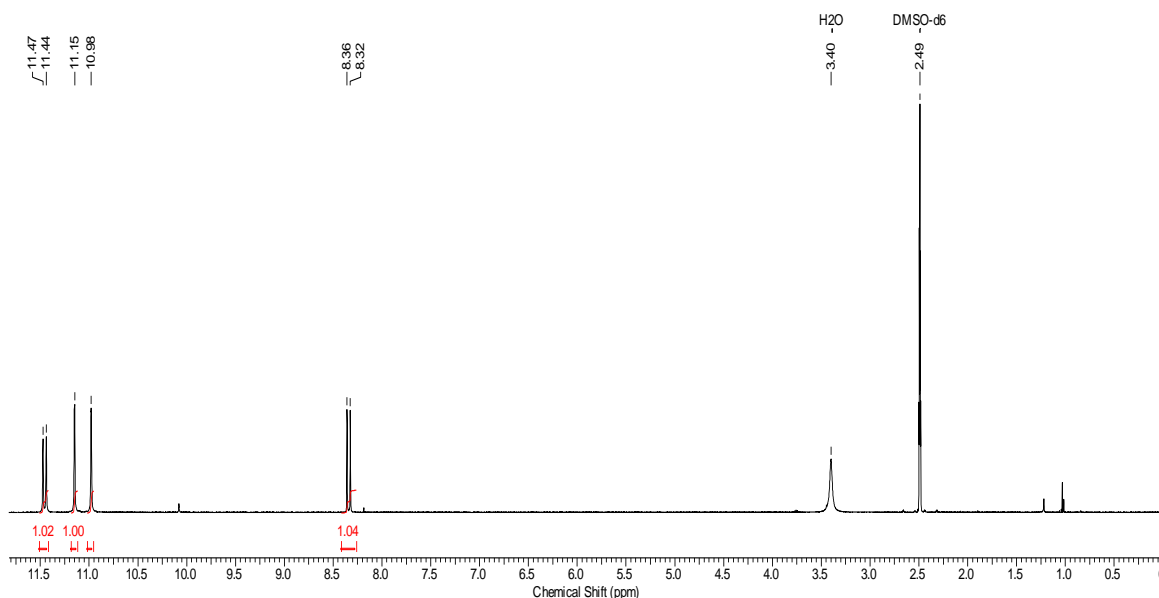


Figure 12. ^1H NMR spectra of **2d**

The carbons of $\text{C}=\text{C}$ appeared at 94.8 and 155.8 ppm in the ^{13}C NMR spectra of **2d** (Figure 13). The three signals at 150.5, 163.1 and 166.1 ppm were assigned to the carbonyl carbons of

barbiturate moiety. Unfortunately, fluoride bounded carbon atoms of phenyl could not be detected in the ^{13}C NMR spectra.

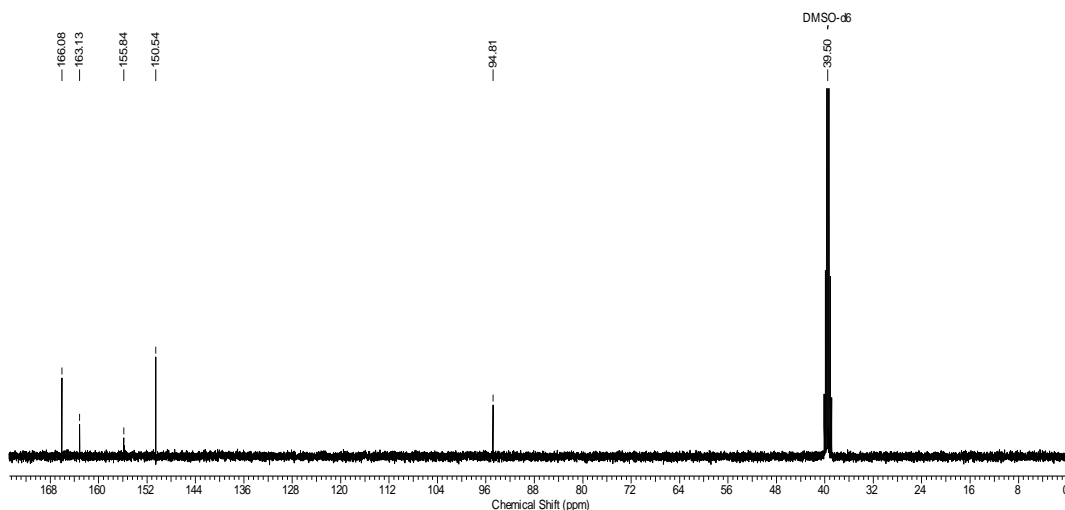


Figure 13. ^{13}C NMR spectra of **2d**

On the other hand, the existence of penta-fluoride bounded phenyl in **2d** was proved by ^{19}F NMR spectroscopy. The observed three signals (Figure 14), which were appeared at -167.15, -163.06 and -155, 24 ppm, were justified that

symmetric penta-fluoride bounded phenyl group. The values are consistent with the penta-fluoride phenyl containing compounds in literature (Vidovic et al, 2007).

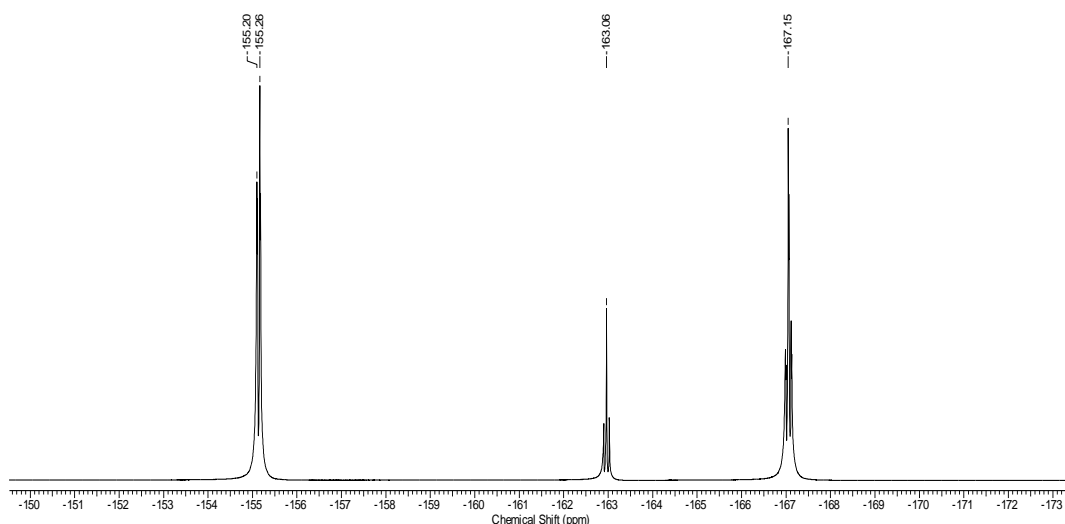


Figure 14. ^{19}F NMR spectra of **2d**

CONCLUSION

Four enaminones derived from barbituric acid were prepared from the condensation reaction of 5-formyl barbituric acid and selected primer amines with high yield in present study. The structures of the prepared compounds were explained by ATR-FTIR, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. Also, ^{19}F NMR spectroscopy was used for characterization of **2d**. The integration areas of protons in ^1H NMR spectra of **2a-d** and the number of the carbon atoms in ^{13}C NMR spectra of **2a-d** cohere with the expected. Also, the obtained data from spectroscopic instruments comply with the previously reported similar enaminones (Neumann et al., 2014; Rauf et al., 2015; Firinci et al, 2017). The prepared enaminone derivates can be estimated both versatile ligand for preparation transition metal complexes and synthesis of hetero atom containing organic compounds. The prepared enaminones have potential the being biological active owing to fact that they include barbiturate fragment.

ACKNOWLEDGMENTS

This work has been supported financially by “Scientific Research Project Unit (BAP) of Aydın Adnan Menderes University” (Project No: FEF-17020).

REFERENCES

- Baldwin GA, Bevan J, Brough D, Ruth Ledger R, Freeman S, 2018. Synthesis and antibacterial activities of enamine derivatives of dehydroacetic acid. *Medicinal Chemistry Research*, 27: 884-889.
- Castro-Alvarez A, Carneros H, Costa MA, Vilarrasa J, 2017. Computer-Aided Insight into the Relative Stability of Enamines. *Synthesis*, 49: 5285-5306.
- Kumar P, Zainul O, Laughlin TS, 2018. Inexpensive multigram-scale synthesis of cyclic enamines and 3-N spirocyclopropyl systems. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 16: 652-656.
- Negri G, Kascheres C, Kascheres JA, 2004. Recent Development in Preparation Reactivity and Biological Activity of Enaminoketones and Enaminothiones and Their Utilization to Prepare Heterocyclic Compounds. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 41: 461- 491.
- Elassar AA, El-Khair AA, 2003. Recent developments in the chemistry of enaminones. *Tetrahedron*, 59: 8463-8480.

- Mahmudov K T, Kopylovich M N, Maharramov A M, Kurbanova M M, Gurbanov A V, Pombeiro A J L, 2014. Barbituric acid as a useful tool for the construction of coordination and supramolecular compounds. *Coordination Chemistry Review*, 265: 1-37.
- Fıncı E, Giziroglu E, Celepci D B, Söyleyici H C, Aygün M, 2017. Spiro copper(II)-metallacycles derived from 5-arylaminoethylene-barbituric acids: Synthesis and structural characterization. *Journal of Molecular Structure*, 1137: 113-118.
- Neumann DM, Cammarata A, Backes G, Palmer GE, Jursic B S, 2014. Synthesis and antifungal activity of substituted 2,4,6-pyrimidinetrione carbaldehyde hydrazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22: 813-826.
- Vidovic D, Findlater M, Cowley HA, 2007. A β -Diketimate-Supported Boron Dication. *Journal of American Chemical Society*, 129: 8436-8437.
- Rauf A, Shahzad S, Bahda M, Yar M, Ahmed F, Hussain N, Akhtar MN, Khan A, Jonczyk J, 2015. Design and synthesis of new barbituric- and thiobarbituric acid derivatives as potent urease inhibitors: Structure activity relationship and molecular modeling studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23: 6049-6058.

Kitosan Fiberlerinden İlaç Salımının QCM ile İncelenmesi

Neslihan NOHUT MAŞLAKCI*

ÖZET: Bu çalışmada, kitosan (Ch)/poli(metil metakrilat) (PMMA) (K1), kütlece % 0.3 ibuprofen (Ibu) içeren Ch/PMMA (K2) ve kütlece % 0.6 Ibu içeren Ch/PMMA (K3) elektrospun fiberleri elektro-eğirme tekniği ile ilk kez elde edilmiştir. K2 ve K3 fiber yüzeylerinden ibuprofenin denetimli salımı kuvars kristal mikrobalsans (QCM) sistemi ile incelenmiştir. QCM sonuçları, ultraviyole-görünür bölge (UV-Vis) absorpsiyon spektroskopisinin sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Biyo-uyumlu fiberlerin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu-enerji dağılım spektroskopisi (SEM-EDS) ile karakterize edilmiştir. İlaç salımına ait kinetik sonuçlardan en iyi ilaç salım mekanizmasının kütlece % 0.3 Ibu içeren Ch/PMMA çözeltisinden elde edilmiş olan K2 fiber yapısına ait olduğu ve bunun en ideal ilaç konsantrasyonu olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Elektro-eğirme, kitosan, fiber, ilaç salımı

Investigation of Drug Release from Chitosan Fibers by QCM

ABSTRACT: In this study, the electrospun fibers of chitosan (Ch)/poly (methyl methacrylate) (PMMA) (K1), Ch/PMMA (K2) containing 0.3 wt.% ibuprofen (Ibu) and Ch/PMMA (K3) containing 0.6 wt.% Ibu were obtained for the first time by electrospinning technique. The controlled release of ibuprofen from the K2 and K3 fiber surfaces was investigated by quartz crystal microbalance (QCM) system. The results of QCM were compared with the results of ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption spectroscopy. The morphological characteristics of the biocompatible fibers were characterized by scanning electron microscopy with energy dispersive spectroscopy (SEM-EDS). It was observed that the best drug release mechanism from the drug release kinetics graphs was attributed to the K2 fiber structure obtained from the Ch/PMMA solution containing 0.3 wt.% Ibu and this was found to be the optimal drug concentration.

Keywords: Electrospinning, chitosan, fiber, drug release

Neslihan NOHUT MAŞLAKCI (Orcid ID: 0000-0003-1282-2477), Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksekokulu, Gıda İşletme Bölümü, 32900, Isparta/Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Neslihan NOHUT MAŞLAKCI, e-mail: neslihanohut@sdu.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 07.08.2018
Kabul tarihi / Accepted: 07.12.2018

GİRİŞ

Son yıllarda nanoteknolojinin hızlı gelişimi, fiber tabanlı ilaç salım sistemlerinin biyomedikal alanda giderek önem kazanmasını sağlamıştır. Buna bağlı olarak, fiber tabanlı ilaç salımı uygulamalarında istenilen özelliklere sahip bazı polimerlerin geliştirilmesine odaklanılmıştır (Karthikeyan ve ark., 2015).

Polimerlerin taşıyıcı olarak kullanıldığı sistemlerde, ilaçlar çok uzun süreler boyunca sürekli ve kontrollü bir şekilde salınabilmektedir (Karthikeyan ve ark., 2015). İlaç salımı sistemlerinde seçilen materyalin biyolojik olarak parçalanabilir, biyo-uyumlu ve toksik olmaması gibi bazı önemli özelliklere sahip olması gerekmektedir. Özellikle kitosan biyolojik olarak parçalanabilen, biyo-uyumlu ve toksik olmayan doğal bir materyaldir (Abdul Amer ve ark., 2014). Bununla birlikte, poli(metil metakrilat) (PMMA), biyo-uyumluluğu ve mükemmel mekanik özellikleri nedeniyle en çok kullanılan biyomedikal malzemelerden biridir (Bettencourt ve Almeida, 2012). Fibroin nanofiberler, dokunmamış fiberler, mikroküreler ve filmler gibi çeşitli yapılarda kullanılan PMMA, kontrollü yayılımlar için iyi bir potansiyel matristir (Bettencourt ve Almeida, 2012; Bae ve ark., 2013; Shaked ve ark., 2015; Fattahi ve ark., 2017). Bununla birlikte, PMMA'nın çok yönlülüğü, nispeten manipülasyon kolaylığı ve düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle kontrollü ilaç salımında taşıyıcı olarak kullanılmaktadır. Günümüzde de bu polimerik malzeme ile ilgili yapılan çalışmalar artarak devam etmektedir (Bettencourt ve Almeida, 2012; Bettencourt ve Almeida, 2015).

Bu çalışmada, kütlece farklı % değerlerine sahip hidrofobik ibuprofen (Ibu) içeren biyo-uyumlu kitosan fiberleri elde etmek için, PMMA destek polimer olarak seçilmiştir. İlaç yüklü K2 ve K3 fiberleri elektro-eğirme tekniği ile kuvars kristal elektrot yüzeyinde biriktirilmiştir. Kütle hassasiyetine karşı oldukça duyarlı bir cihaz olan

kuvars kristal mikrobalsans (QCM), kristal yüzeyinde biriken nanogramdan çok daha küçük kütle değişikliklerini izlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Arida ve Tabakha, 2007; Celik ve Uygun Oksuz, 2015; Nohut Maslakci ve ark., 2017). Hassas kaplamalar ile elektrotların modifikasyonu sayesinde QCM cihazları, arayüz ölçüm kabiliyetlerine bağlı olarak çevresel izleme, kimyasal ve biyokimyasal analizler için güvenilir sensörler olarak bilinmektedir. QCM; nanotüp, nanofiberler ve nano montajlı ince filmler gibi nano yapıları birçok malzemenin sensör duyarlılığını artırmaktadır (Arida ve Tabakha, 2007; Celik ve Uygun Oksuz, 2015; Nohut Maslakci ve ark., 2017). Ek olarak, QCM, gözenekli yapıya sahip olan materyallerin sensör özelliklerini geliştirmek için umut vaat eden bir yöntemdir.

Bu çalışmada QCM sistemi kullanılarak, ilaç yüklü fiber kaplı elektrot yüzeylerinden ilaç salımı, zamana bağlı olarak kütle-frekans değişimleri ile incelenmiştir. Fiber kaplı elektrot yüzeylerinin ilaç içeriği, reolojik davranışı açısından değerlendirilmiştir. İlaç salımı sonrası elde edilen QCM sonuçları ile UV-Vis spektroskopisi analiz sonuçları karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Poli(metil metakrilat) (PMMA, Mw: 120.000 g mol⁻¹), kitosan (Mw: 1.10 x10⁶ g mol⁻¹ orta moleküler ağırlıkta, deasetilasyon derecesi: %75-85, Ch), ibuprofen sodyum tuzu (C₁₃H₁₇O₂Na, Ibu) ve diklorometan (CH₂Cl₂, DCM) Sigma-Aldrich' den satın alınmıştır. Sodyum klorür (NaCl) ve trifloroasetik asit (CF₃COOH, TFA) Merck firmasından temin edilmiştir. Deneylerde saf su kullanılmış olup, tüm kimyasallar analitik reaktif derecesine sahiptir.

Yöntem

Elektrospun Fiber Çözeltilerinin Hazırlanışı

Bu çalışmada, kütlece % 0.3 ve % 0.6 Ibu içeren biyo-uyumlu Ch fiberlerini elde etmek için, PMMA destek polimer olarak seçilmiştir. Kütlece % 40 PMMA, TFA/DCM (70/30 V/V) içerisinde tamamen çözünene kadar oda sıcaklığında bir gece boyunca karıştırılmıştır. Yine aynı şekilde, kütlece % 5 Ch, TFA/DCM (70/30 V/V) içerisinde homojen karışım elde edebilmek için bir gece boyunca karıştırılmıştır. PMMA ve Ch çözeltilerinden 1/1 hacim oranında alınarak homojen bir çözelti karışımı elde etmek için 72 saat oda koşullarında karıştırılmıştır.

Ayrıca, ilaç içeren çözeltiler sırası ile kütlece % 40 PMMA ve % 5 Ch'dan hazırlanan 1/1 hacim oranına sahip karışım içerisinde kütlece % 0.3 ve % 0.6 Ibu eklenerek 72 saat boyunca oda koşullarında karıştırılarak hazırlanmıştır. Fiber kaplı QCM elektrot yüzeylerinden ilaç salımı kütlece % 0.9'luk NaCl çözeltisinin sürekli geçmesi ile gerçekleştirilmiştir.

Elektro-Eğirme Sisteminin Kurulumu

Hazırlanan çözeltilerden fiber elde etmek için yatay kurulumlu bir elektro-eğirme sistemi kullanılmıştır. Elektro-eğirme deneyleri oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. PMMA çözeltisi, 0.3 mm'lik bir iç çapa sahip bir iğne ile donatılmış 2 mL'lik bir şırıngaya yerleştirilmiştir. Voltaj 15 kV ve akış hızı 10 μ L saat⁻¹ olarak optimize edilmiştir. İğne, 0-30 kV aralığında doğru akım (DC) gerilimleri üreten DC yüksek voltaj dönüştürücüsünün elektroduna bağlanmıştır. İğne ucundan 12 cm'lik uzaklıkta bulunan bir alüminyum folyo üzerine QCM

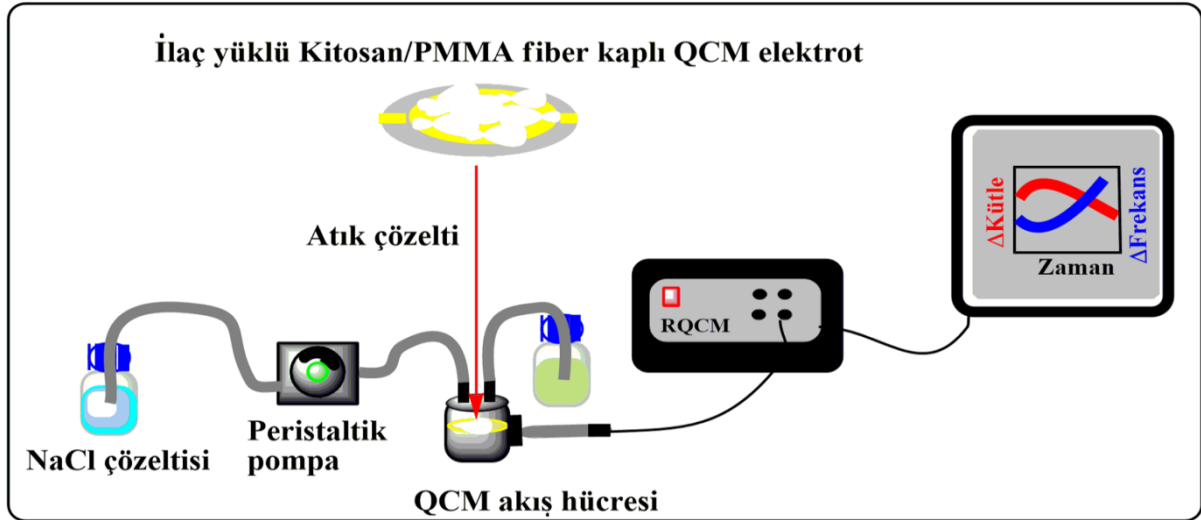
elektrotlar yerleştirilmiştir. Sürekli ve sabit miktarda bir çözelti sağlayabilmek için bir şırınga pompası (New Era Pump System Inc., ABD) kullanılmıştır. Yüksek voltaj uygulandığında iğneden üretilen polimer jetleri, topraklanmış toplayıcı üzerinde fiber membran olarak biriktirilmiştir. Son olarak, çözücünün uzaklaştırılması için fiber kaplı elektrotlar bir gece boyunca oda sıcaklığında kurutulmuştur. İlaç yüklü Ch/PMMA fiberleri elektro-eğirme tekniği ile QCM elektrot yüzeyinde biriktirilmiştir.

Nanofiberlerin Karakterizasyonu

K1, K2 ve K3 fiberlerin morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI Quanta FEG 250) kullanılarak incelenmiştir. Nanofiberlerin elementel analizi EDS (Bruker EDAX/EDS) ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerin ilaç salımını incelemek için UV-Vis spektrum ölçümleri Perkin Elmer Lambda 20 UV-Vis spektroskopisi ile 1 cm yol uzunluğunda kuvars hücresi kullanılarak 300-900 nm arasında kütlece % 0.9'luk NaCl çözeltisi içerisinde alınmıştır.

Kuvars Kristal Mikrobalans (QCM)

QCM sensörler, her iki tarafı ince bir tabaka altın ile kaplanmış ve 5 MHz frekansta çalışan disk şeklinde, AT kesim piezoelektrik kuvars kristalinden oluşmaktadır. İlaç yüklü fiber kaplı QCM sensör elektrotların rezonans frekansları bir QCM dijital kontrol cihazı (MAXTEK RQCM, Research Quartz Crystal Microbalance Monitor) kullanılarak ölçülmüştür. Bu çalışmada kullanılan QCM sistemi Şekil 1'de şematize edilmiştir.



Şekil 1. İlaç salımı için kullanılan QCM sisteminin şematik diyagramı

BULGULAR VE TARTIŞMA

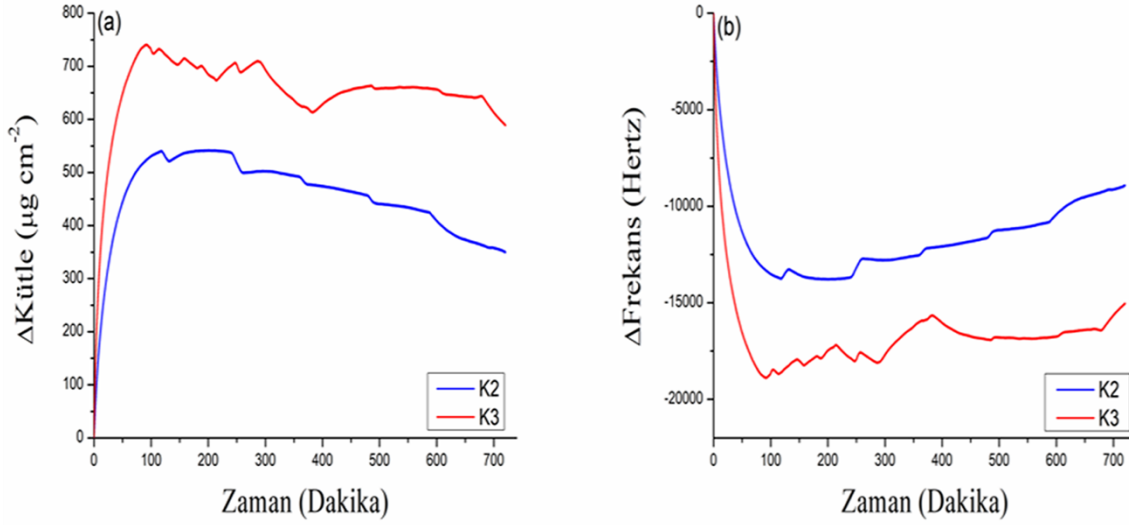
Kuvars Kristal Mikrobalsans (QCM) Sonuçları

K2 ve K3 elektrospun fiberlerinin içerdiği Ibu'nun kontrollü salım profilleri Şekil 2a-b'de gösterildiği gibi QCM sistemi kullanılarak incelenmiştir. Kütle-zaman grafiği eğrilerinde, kütledeki ilk hızlı artış, ilaç yüklü polimer fiberlerin şişmesinden kaynaklanmıştır (Celik ve Uygun Oksuz, 2015). İlaç salımı başladığında, zamana bağlı kütle azalmıştır. Tüm numunelerin kinetik çalışmaları QCM ölçümleri ile incelenmiştir. Bu amaçla, QCM sisteminden salımı gerçekleşen her bir fraksiyonel birikimli ilaç miktarı (M_t/M_∞), $t^{0.5}$ 'in bir fonksiyonu olarak çizilmiştir (Şekil 3). K2 ve K3 numunelerinden elde edilen ibuprofen salım mekanizmasının R^2 değerleri, $M_t/M_\infty < 0.6$ için hesaplanmış ve özellikle K2 için doğrusal bir sonuç elde edilmiştir. K2 ve K3 fiberlerinin R^2 değerleri sırasıyla 0.95587 ve 0.68406 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar ayrıca UV-Vis kinetik analizinden elde edilen sonuçlar ile desteklenmiştir. Şekil 3'de verilen sonuçlara göre Ibu'nun salımı Eşitlik 1'de ifade edildiği gibi $0 < M_t/M_\infty < 0.6$ için Fickian difüzyon yasasına uymaktadır.

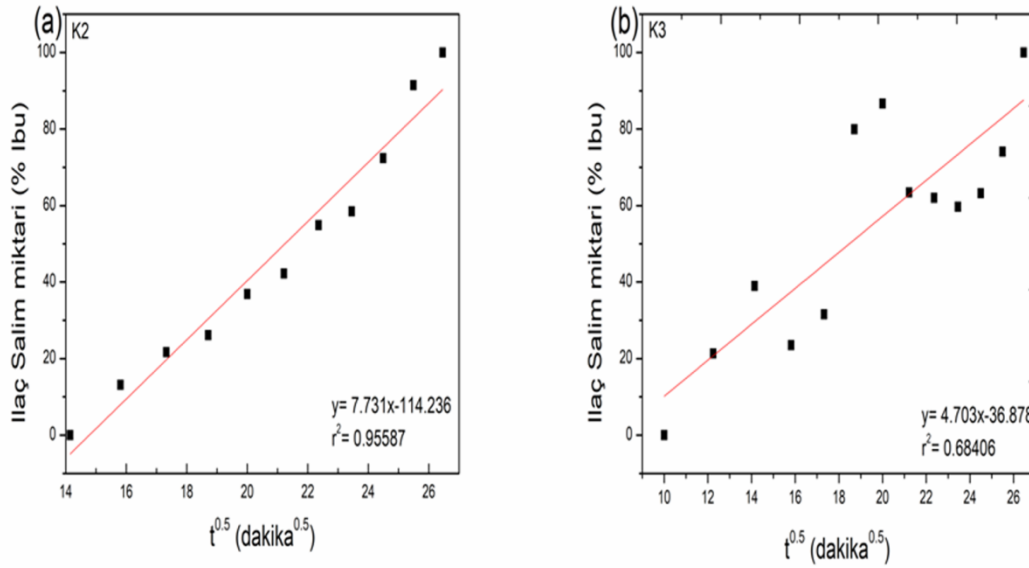
$$M_t/M_\infty = kt^n \quad (1)$$

Burada M_t ve M_∞ , t zamanında ve sonsuz zamanda salımı olan ilacın kümülatif miktarlarını, k; polimer/ilâç sisteminin fiziksel özelliklerini ve ölçüm yönteminden gelen bazı fiziksel katkıları içeren ilacın hız sabitini ve n ise elde edilen ilâç salım mekanizmasını belirleyen salım üstelini göstermektedir (Verreck ve ark., 2003; Celik ve Uygun Oksuz, 2015; Sadri ve ark., 2016). $n = 0.5$ için salım mekanizması Fickian difüzyonu olarak tanımlanmıştır (Verreck ve ark., 2003; Celik ve Uygun Oksuz, 2015; Sadri ve ark., 2016). Bu çalışmada ilâç yüklü K2 fiberleri, K3 fiberlerinden daha etkili ve homojen ilâç salımı göstermiştir.

Polimer matrisler ilacın salım profilini etkilemektedir. Polimer matrisin deney ortamında şişmesi ve çözünürlüğü, ilacın da polimer matrisi içerisindeki çözünürlüğü ilâç salımını etkileyen önemli faktörlerdir (Tungprapa ve ark., 2007; Celik ve Uygun Oksuz, 2015). QCM sonuçları, K2 ve K3 fiberlerinde başlangıçtaki kütle artışının polimerin şişmesinden kaynaklandığı ve her iki ilâç konsantrasyonunda ilâç salımlarının benzer olduğunu göstermiştir (Şekil 2). Daha önce yapılan çalışmalar, ilâç salımında kullanılan kitosan içeren film ve fiber yapılarının ilâç taşıyıcı sistemlerde oldukça yararlı olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 2005).



Şekil 2. İlaç yüklü kitosan fiberlerinin zamana bağlı kütle (a) ve frekans (b) değişim grafiği

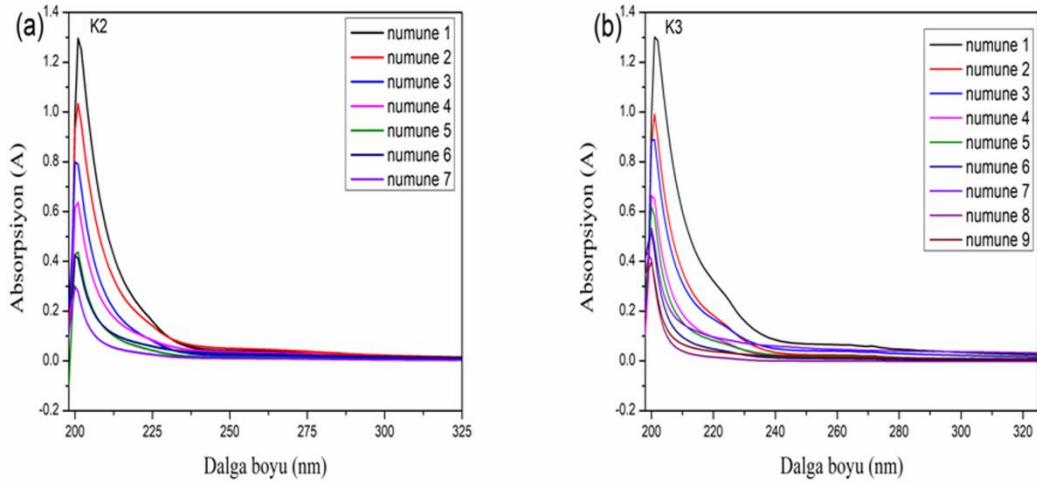


Şekil 3. (a) K2 ve (b) K3 fiberlerinin $t^{0.5}$ 'e karşı ibuprofen salım grafiği

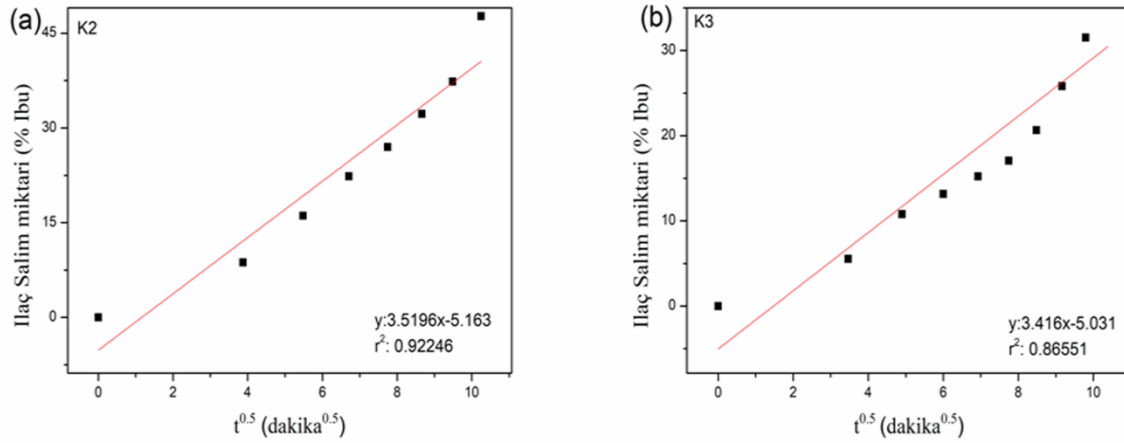
UV-Vis Spektrumlarının Değerlendirilmesi

UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi kullanılarak farklı konsantrasyonlardaki Ibu'nun Ch/PMMA fiberleri içerisinde salımı incelenmiştir. UV-Vis ölçümleri için numuneler, belirli zaman aralıklarında QCM tarafından salınan ilaç çözeltilerinden alınmıştır. Ibu'nun karakteristik absorpsiyon bandı yaklaşık 225 nm'de gözlenmiştir. K2 ve K3 fiberlerinden

salımı gerçekleşen Ibu'nun UV-Vis absorpsiyon spektrumları Şekil 4'te, salınan ilacın miktarının $t^{0.5}$ 'e karşı grafiği ise Şekil 5'te verilmiştir. QCM ölçümlerinden elde edilen veriler UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi sonuçları ile doğrulanmıştır. Yapılan çalışmada, her iki örneğin QCM ölçümleri sırasında alınan atık çözeltiler içerisindeki ilaç miktarı artan zamana bağlı olarak azaldığı için absorpsiyon değerinin de düştüğü gözlenmiştir.



Şekil 4. (a) K2 ve (b) K3 ilaç yüklü fiberlerden salınan ilacın UV-Vis spektrumları

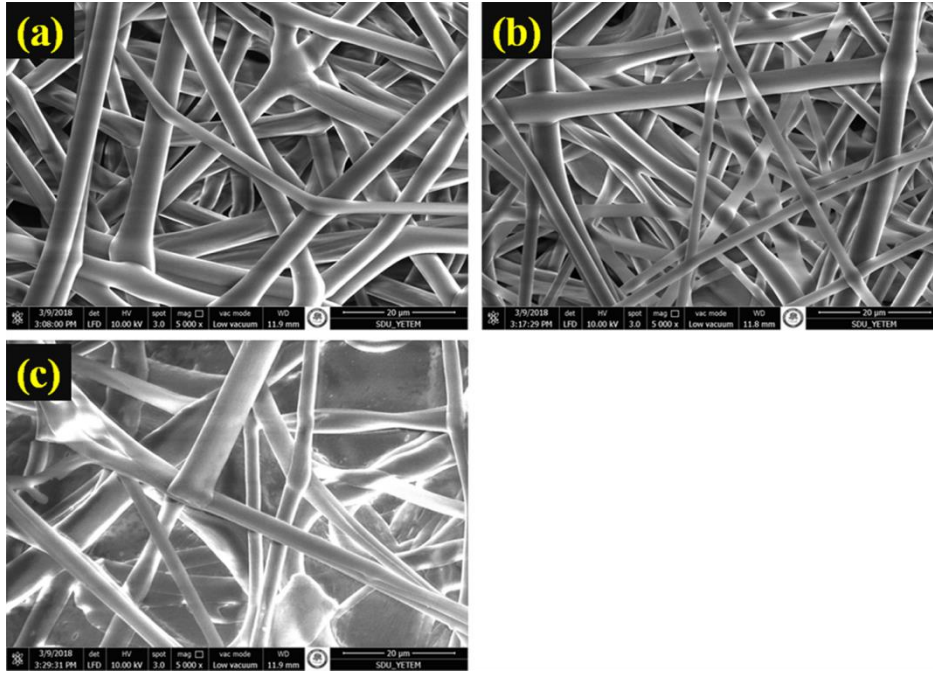


Şekil 5. K2 ve K3 ilaç yüklü fiberlerin $t^{0.5}$ e karşı UV-Vis spektrumundan elde edilen ilaç salım grafiği

Elektrospun nanofiberlerin SEM-EDS sonuçları

Elektrospun K1, K2 ve K3 fiberlerinin SEM görüntüleri Şekil 6'da verilmiştir. Tüm fiber numunelerin K1, K2 ve K3'ün SEM görüntülerine ait fiberlerin uzunlukları boyunca neredeyse düzgün çaplara ve boncuksuz yüzeylere sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 6a-c). Fiberlerin ortalama çapları Ch'nın ve PMMA'nın ortalama molekül ağırlığına, Ibu içeriğine bağlı olarak sırasıyla K1 fiber örneği için $4.00 \pm 0.95 \mu\text{m}$; K2 için $2.62 \pm 1.16 \mu\text{m}$ ve

K3 için $3.45 \pm 1.35 \mu\text{m}$ olarak belirlenmiştir (Şekil 6). Bu değişiklik, liflerin hazırlandığı PMMA çözeltilerinin yük yoğunluğundaki azalmadan kaynaklanmaktadır (Dong ve ark., 2004; Feng ve ark., 2010; Qian ve ark., 2010; Sunar ve Haşçıçek, 2017). Çözeltinin viskozitesi, polimer jetleri tarafından taşınan yük yoğunluğu ve çözeltinin yüzey gerilimi gibi parametreler liflerin morfolojisini ve çap boyutunu etkileyen önemli faktörlerdir (Elsabee ve ark., 2012; Sunar ve Haşçıçek, 2017).



Şekil 6. K1 (a), K2 (b) ve K3 (c) polimer çözeltilerinden elde edilen fiberlerin SEM görüntüleri

Çizelge 1’de verilen EDS sonuçları, K1 fiberleri içerisinde Ibu’nun iyi bir şekilde katıldığını göstermektedir. Bütün fiber örneklerinin doğru bir şekilde temsil edilmesi için aynı örnekte en az üç farklı alanda EDS

analizi gerçekleştirilmiştir. Ibu içeren K2 ve K3 fiberlerin elementel analizinde kütlece % Na içeriği sırasıyla, % 0.28 ve % 0.55 olarak bulunmuştur.

Çizelge 1. Fiber örneklerinin kütlece % element içerikleri

Fiber Örnekler	Kütlece % element içeriği			
	C	N	O	Na
K1	69.87	4.27	25.86	-
K2	66.34	5.68	27.70	0.28
K3	64.56	4.52	30.37	0.55

SONUÇ

Bu çalışmada, ilaç yüklü Ch/PMMA fiberleri elektro-eğirme tekniği ile başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. Ibu salımı, QCM sistemi ile kontrol edilmiştir. Kütlece % 0.3 Ibu yüklü Ch/PMMA (K2) fiberleri, kütlece % 0.6 Ibu yüklü Ch/PMMA (K3) fiberlerine kıyasla daha verimli salım profili göstermiştir. İlaç salımının kinetik çalışmaları aynı zamanda UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi sonuçları ile

doğrulanmıştır. İlaç salım deneylerinin kinetik değerlendirmesine bağlı olarak en iyi ilaç salım mekanizmasını K2 fiber yapısının verdiği gözlenmiş olup, K2’nin Ibu miktarı ideal ilaç konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak kütlece % 0.3 Ibu içeren biyo-bozunur Ch/PMMA fiber malzemesi çalışmalarda belirli zaman aralıklarında sabit kalabilmesi ilaç uygulama sürecini kısaltırken, ilaç etkinliğini ise arttırabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdul Amer ZJ, Kareem Ahmed J, Fahim Abbas S, 2014. Chitosan/PMMA Bioblend for Drug Release Applications. *International Journal of Engineering Technology*, 4: 318-324.
- Arida AI, Tabakha MMA, 2007. Encapsulation of Ketoprofen for Controlled Drug Release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 66: 48-54.
- Bae HS, Haider A, Kamruzzaman Selim KM, Kang DY, Kim EJ, Kang IK, 2013. Fabrication of Highly porous PMMA Electrospun Fibers and Their Application in the Removal of Phenol and Iodine. *Journal of Polymer Research*, 20(158): 1-7.
- Bettencourt A, Almeida AJ, 2012. Poly(methyl methacrylate) Particulate Carriers in Drug Delivery. *Journal of Microencapsulation*, 29(4): 353-367.
- Bettencourt A, Almeida AJ, 2015. Poly(methyl methacrylate): Drug Delivery Applications. Taylor and Francis Vol: 11, pp. 1-15, London-UK.
- Celik G, Uygun Oksuz A, 2015. Controlled Release of Ibuprofen From Electrospun Biocompatible Nanofibers with *In Situ* QCM Measurements. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 52: 76-83.
- Dong H, Nyame V, Macdiarmid AG, Jones WE, 2004. Polyaniline/Poly(methyl methacrylate) Coaxial Fibers: The Fabrication and Effects of the Solution Properties on the Morphology of Electrospun Core Fibers. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, 42: 3934-3942.
- Elsabee MZ, Naguib HF, Morsi RE, 2012. Chitosan Based Nanofibers, Review. *Materials Science and Engineering C*, 32: 1711-1726.
- Fattahi P, Dover, JT, Brown JL, 2017. 3D Near-Field Electrospinning of Biomaterial Microfibers with Potential for Blended Microfiber-Cell-Loaded Gel Composite Structures. *Advanced Healthcare Materials*, 6(1700456): 1-9.
- Feng C, Khulbe KC, Matsuura T, 2010. Recent Progress in the Preparation, Characterization, and Applications of Nanofibers and Nanofiber Membranes via Electrospinning/Interfacial Polymerization. *Journal of Applied Polymer Science*, 115: 756-776.
- Karthikeyan K, Sowjanya RS, Yugandhar ADV, Gopinath S, Korrapati PS, 2015. Design and Development of a Topical Dosage form for the Convenient Delivery of Electrospun Drug Loaded Nanofibers. *RSC Advances*, 5: 52420-52426.
- Nohut Maslakci N, Ulusoy S, Uygun Oksuz A. 2017. Investigation of The Effects of Plasma-Treated Chitosan Electrospun Fibers onto Biofilm Formation. *Sensors and Actuators B* 246: 887-895.
- Qian YF, Su Y, Li XQ, Wang HS, He, CH, 2010. Electrospinning of Polymethyl Methacrylate Nanofibres in Different Solvents. *Iranian Polymer Journal*, 19(2): 123-129.
- Sadri M, Mohammadi A, Hosseini H, 2016. Drug Release Rate and Kinetic Investigation of Composite Polymeric Nanofibers. *Nanomedicine Research Journal*, 1(2): 112-121.

- Shaked E, Shani Y, Zilberman, M, Scheinowitz M, 2015. Poly(methyl methacrylate) Particles for Local Drug Delivery Using Shock Wave Lithotripsy: In Vitro Proof of Concept Experiment. Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials, 103B: 1228-1237.
- Sunar BS, Hasçıçek C, 2017. Elektroğrilmiş Nanoliflerin İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak ve Doku Mühendisliğinde Kullanımı. Marmara Pharmaceutical Journal, 21(3): 425-435.
- Tungprapa S, Jangchud I, Suaphol P, 2007. Release Characteristics of Four Model Drugs from Drug-Loaded Electrospun Cellulose Acetate Fiber Mats. Polymer, 48: 5030-5041.
- Verreck G, Chun I, Rosenblatt J, Peeters J, van Dijck A, Mensch J, Noppe M, Brewster ME, 2003. Incorporation of Drugs in an Amorphous State into Electrospun Nanofibers Composed of A Water-Insoluble, Nonbiodegradable Polymer. Journal of Controlled Release, 92: 349-360.
- Wang Q, Du Y, Fan L, 2005. Properties of Chitosan/Poly(vinyl alcohol) Films for Drug-Controlled Release. Journal of Applied Polymer Science, 96: 808-813.

Inhibition Effects of Phenolic Compounds on Human Serum Paraoxonase-1 Enzyme

Cüneyt TÜRKEŞ^{1*}

ABSTRACT: Metabolic processes in living organisms are closely related to the catalytic activity of enzymes. Inhibition or induction of enzymes leads to toxicities and metabolic interactions. This study aims to contribute to the growing drug design field by studying PON1-phenolic compound interactions. For this purpose, the paraoxonase-1 enzyme was purified from fresh human serum by using rapid and different chromatographic techniques. Additionally, it was investigated the inhibitory effects of some phenolic substances on the PON1 and was found that the purified enzyme had the molecular weight of 43 kDa and the specific activity of 3945.15 EU mg⁻¹. These compounds showed potent inhibition against PON1, especially homovanillic acid exhibited a significant inhibition profile against PON1 with an IC₅₀ value of 13.84±0.08 mM. *K_i* constants were 6.10±0.26 mM for homovanillic acid and 16.96±0.76 mM for phloridzin dihydrate. Homovanillic acid had competitive inhibition while the phloridzin dihydrate inhibited the PON1 as non-competitive. Also, molecular docking computations were performed by using the Glide XP mode. Glide energy of the homovanillic acid determined to be -23.95 kcal mol⁻¹.

Keywords: Paraoxonase, HDL, chromatography, inhibition, phenolic compound, molecular docking.

Fenolik Bileşiklerin İnsan Serum Paraoksonaz-1 Enzimi Üzerindeki İnhibisyon Etkileri

ÖZET: Canlı organizmalardaki metabolik süreçler, enzimlerin katalitik aktivitesi ile yakından ilişkilidir. Enzimlerin inhibisyonu veya indüksiyonu toksisiteye ve metabolik etkileşimlere yol açar. Bu çalışma, PON1-fenolik madde etkileşimlerini inceleyerek büyüyen ilaç tasarım alanına katkıda bulunmayı amaçlamaktadır. Bu amaçla, paraoksonaz-1 enzimi, hızlı ve farklı kromatografik teknikler kullanılarak taze insan serumundan saflaştırılmıştır. Ek olarak, bazı fenolik bileşiklerin PON1 üzerindeki inhibisyon etkileri araştırılmış ve saflaştırılan enzimin 3945.15 EU mg⁻¹ protein spesifik aktiviteye ve 43 kDa molekül ağırlığına sahip olduğu bulunmuştur. Bu bileşikler PON1'e karşı güçlü inhibisyon gösterdiler, özellikle homovanilic asit 13.84±0.08 mM'lık bir IC₅₀ değeri ile PON1'e karşı önemli bir inhibisyon profili sergiledi. *K_i* sabitleri homovanilic asit için 6.10±0.26 mM ve phloridzin dihidrat için 16.96±0.76 mM idi. Homovanilic asit yarışmalı inhibisyona sahipken, phloridzin dihidrat PON1'i yarışmasız olarak inhibe etmiştir. Ayrıca, moleküler yerleştirme hesaplamaları Glide XP modu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Homovanilic asitin glide enerjisi -23.95 kcal mol⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Paraoksonaz, HDL, kromatografi, inhibisyon, fenolik madde, moleküler yerleştirme

¹Cüneyt TÜRKEŞ (Orcid ID: 0000-0002-2932-2789), Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Erzincan Binali Yıldırım University, 24100, Erzincan, Turkey

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Cüneyt TÜRKEŞ, e-mail: cuneyt.turkes@outlook.com

INTRODUCTION

HDL-associated paraoxonase (organophosphate hydrolase; PON1) is responsible for reducing the oxidation of LDL by metabolizing oxidized phospholipids. PON1 is also accountable for most of the anti-inflammatory, and antioxidative effects of HDL (Mackness et al., 1993; Teiber et al., 2018). Cardiovascular diseases are highly related to low HDL. It has been shown that treatments for increasing plasma HDL cholesterol in humans especially support regression of cardiovascular diseases and reduced the progression of atherosclerosis. HDL also has acts such as the inhibition of proteinases in the plaque protecting regular endothelial function (Kontush and Chapman, 2006). All functions of HDL which subscribe to its protective effects act directly attenuating risk of coronary heart diseases. The reverse transfer of cholesterol from cells and the easy transport of macrophages in the artery wall are the antiatherogenic properties of HDL.

PON, which is a calcium-dependent esterase, has the ability to hydrolyze paraoxon, a metabolite of the insecticide parathion. PON1 detoxifies various nerve agents and also hydrolyzes metabolites of a number of other insecticides (Costa et al., 1999; Manco et al., 2018). Additionally, PON1 is an esterase which has a molecular mass of approximately 43-45 kDa and consists of 354 amino acids (Furlong et al., 1989; Hassett et al., 1991). Decreasing PON1 activity has been reported to be a potent risk factor for coronary events rather than genetic polymorphisms. PON1 is the most dominant antioxidant enzyme, among some other HDL-associated proteins such as apolipoprotein A1, platelet-activating factor acetyltransferase, and lecithin-cholesterol acyltransferase (Mackness and Durrington, 1995).

Phenolic compounds are a critical group produced by plants as secondary metabolites. Plants synthesize phenolic substances to defend

against pathogens, protection against ultraviolet light and to regulate metabolic activities (Velderrain-Rodríguez et al., 2014). Phenolic substances are classified according to with respect to attached substituents and the number of phenolic rings (Manach et al., 2005). Also, the position and number of these components affect biological function, significantly (Fraga et al., 2010). It is determined that dietary components, including phenolic compounds, influence drug metabolizing enzymes and can cause important toxicological results (Middleton et al., 2000; Surh, 1998). The significance of these compounds is rising, because of the increasing frequency of various diseases such as coronary artery disease, cancer, Alzheimer's disease, and diabetes, which are develop linked to their eating habits in recent times (Gutiérrez-Grijalva et al., 2016; Kuzu et al., 2018).

Homovanillic acid belongs to the class of phenolic acids known as hydroxyphenylacetic acids and is a strong radical scavenger (Tuck and Hayball, 2002). Phloridzin dihydrate (Phloretin 2'-glucoside), a natural anti-diabetic molecule, is the flavonoid glucoside as a member of dihydrochalcone family (Wang et al., 2007). This flavonoid has different biological activities (Masumoto et al., 2009).

Metabolic processes in living organisms are closely related to the catalytic activity of enzymes. Changes in enzyme activity can cause various diseases. Thus, compounds which inhibit enzyme activity must be beneficial therapeutic agents (Copeland, 2004; Copeland, 2013; Robertson, 2005). This study set out to the *in vitro* effects of some phenolic substances, such as homovanillic acid and phloridzin dihydrate (Figure 1) on PON1 enzyme activity. For this reason, PON1 was purified from human serum by using simple and rapid methods, easily. Moreover, to support the experimental results, molecular docking studies also were performed.

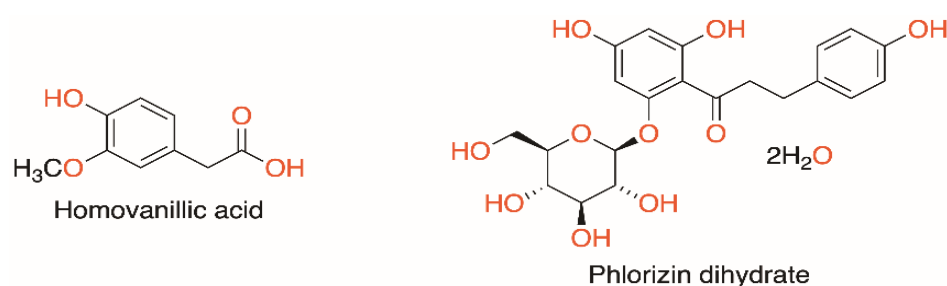


Figure 1. The molecular structures of the homovanillic acid and phloridzin dehydrate

MATERIALS AND METHODS

General Information

The chromatography media, including IEX and SEC resins, and all chemical agents were purchased from Sigma-Aldrich Chemie. The chemical substances used for preparing the test solutions were of analytical grade. Human serum samples were provided from Research Hospital of Erzincan Binali Yıldırım University (Erzincan, Turkey).

Paraoxonase Activity Determination

The process of paraoxonase enzyme activity was carried out as in our previous research, spectrophotometrically (Türkes et al., 2014). Enzymatic activity was computed by using the molar absorptivity coefficient ($\epsilon=18,290 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) of p-nitrophenol at 412 nm (Figure 2) (Renault et al., 2006). The EU is the amount of the enzyme that catalyzes the reaction of 1 micromole of substrate per minute under standard conditions at 25°C (Mackness and Durrington, 1995).

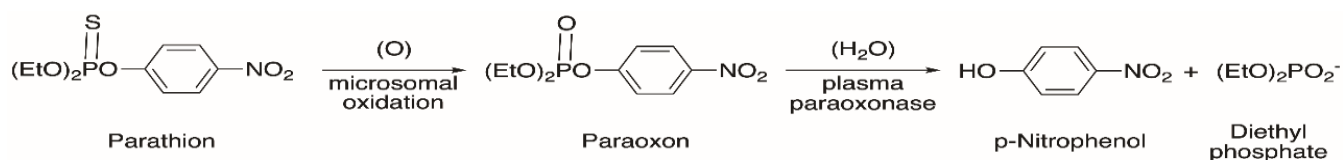


Figure 2. The reaction for which paraoxonase enzyme was named (Furlong, 2008)

Ammonium Sulfate Precipitation of Proteins

Ammonium sulfate method (60-80%) was used in for precipitation of enzymes by pulling water molecules away according to the procedure used as our previous papers (Akbaba et al., 2013). The precipitate obtained after the precipitation of approx. 30 mL of fresh human serum was centrifuged at 12,500xg for 30 minutes and dissolved in phosphate buffer solution at 100 mM, pH 7.0 (Sinan et al., 2006).

Ion Exchange Chromatography (IEX)

The enzyme precipitate, which had been dialyzed in the presence of 1 mM Na-phosphate

buffer (pH 7.0) at 4°C, was loaded onto IEX column (DEAE anion exchanger, separation range 30 to 100 kDa for A-50), which had been equilibrated with binding buffer (100 mM Na-phosphate buffer, pH 7.0). The column (30 mm \times 30 cm in dimensions) was washed with the same buffer and then elution was achieved using an increasing salt gradient of 0-1.5 M NaCl. The qualitative protein analysis result and paraoxonase activity were recorded for each tube (Türkes et al., 2013).

Size Exclusion Chromatography (SEC)

Size exclusion chromatography (i.e., gel filtration, GF) was performed after ion exchange

chromatography since the buffer composition doesn't affect the final separation. Eluates obtaining from the IEX column were loaded onto the SEC column (separation range 4 to 150 kDa for Sephadex G-100) which is 20 mm × 60 cm in dimensions which had been equilibrated with binding buffer (100 mM Na-phosphate buffer, pH 7.0). Desorption was performed with the same buffer, isocratically (Alim and Beydemir, 2016). The effluents were analyzed for both qualitative protein analysis and paraoxonase activity.

Quantitative Protein Determination

After mixing, the mixture (i.e., Bradford reagent with the protein sample) changed to blue color and a change of the absorption from 465 nm to 595 nm occurred. Bovine serum albumin was utilized as the standard in Bradford Protein Assay, a spectrophotometric method (Bradford, 1976; Aslan et al, 2018).

SDS-PAGE Study

The molecular weight, purity, and subunit composition of the enzyme were controlled with Laemmli SDS-PAGE (3-8%) technique, an analytical method (Laemmli, 1970; Türkeş et al., 2016). Prestained protein standard (size range from 10 to 180 kDa) was used as the molecular mass standard.

Inhibition Studies

For the specification of the inhibition impacts of homovanillic acid and phloridzin dihydrate on the PON enzyme, the Activity%-[Phenolic compound] graphs were drawn (Türkeş et al., 2015). The IC₅₀ values were calculated from these graphs for homovanillic acid and phloridzin dihydrate. Lineweaver-Burk ((EU ml⁻¹)⁻¹-[Paraoxon]⁻¹) curves were utilized to determine inhibition parameters, such as inhibition type, K_i, and Vmax (Lineweaver and Burk, 1934).

Molecular Docking Analysis

The docking study of homovanillic acid was carried out using Schrödinger-Glide. PON1 (PDB ID: 3SRE), which was taken from PDB (www.rcsb.org), was prepared utilizing the protein preparation wizard (Greenwood et al., 2010; Shelley et al., 2007). The ligand file was acquired from the NCBI PubChem database (CID 1738 for homovanillic acid). Then, LigPrep was used to prepare the ligand and the structure was optimized utilizing the OPLS3e force field (Sastry et al., 2013). Also, 2-hydroxyquinoline (2-HQ) was used as a reference inhibitor agent for 3SRE. The ligand docking was done flexibly using extra precision (XP) mode of Glide module (Friesner et al., 2004; Halgren et al., 2004) (Glide, Schrödinger 2018-4, LLC, New York, NY, 2018).

Table 1. Purification steps of the paraoxonase-1

Purification steps	Activity (EU ml ⁻¹)	Total volume (ml)	Protein (mg ml ⁻¹)	Total protein (mg)	Total activity (EU)	Specific activity (EU mg ⁻¹)	Yield (%)	Purification fold
Serum	105.3	30	6.40	192.00	3160.20	16.46	100.00	1.00
Ammonium sulfate precipitation	103.2	20	4.60	92.00	2063.06	22.42	65.28	1.36
Ion exchange chromatography	72.9	15	0.20	3.00	1093.49	364.50	34.60	22.15
Size exclusion chromatography	67.1	10	0.02	0.17	670.68	3945.15	21.22	239.69

RESULT AND DISCUSSION

All of the disease cases are caused by dysregulated enzyme activities (Copeland,

2004). In some tissues with diseases, the *in vivo* or *in vitro* measuring of enzyme activity, and then imaging with inhibition of drug practice is

utilized as a pharmacokinetic, and pharmacodynamic marker. There are many enzymes in xenobiotic metabolism, and the most significant ones are paraoxonases, cholinesterases, and carboxylesterases (Klaassen and Watkins, 1996). Recently, some research has been conducted on PON1, which has been known to play an important role in the

development of coronary heart diseases. However, there are only a few scientific data concerning the effects of chemical agents on PON1 activity in the scientific literature. Therefore, this study provides an important contribution to the researches on PON1-drug interactions.

Table 2. IC₅₀ values and K_i constants for the compounds

Inhibitor	IC ₅₀ (mM)	K _i (mM)	Inhibition type
Homovanillic acid	13.84 ± 0.08	6.10 ± 0.26	Competitive
Phloridzin dihydrate	14.62 ± 0.24	16.96 ± 0.76	Non-competitive

The assay results were presented as mean ± standard deviation.

In the previous study, for illustrate, scientists investigated the effects of some metals on PON1 activity. They found that Pb²⁺, Cr²⁺, Fe²⁺, and Zn²⁺ were effective inhibitors for PON1, and IC₅₀ values were 0.838, 1.991, 3.960, and 7.410 mM, respectively, and K_i constants were in the range of 0.639-4.604 mM. In the same study, they also identified that Pb²⁺ and Fe²⁺, and Zn²⁺ showed competitive inhibition;

Cr²⁺, non-competitive; and Zn²⁺, uncompetitive inhibition at the end of the research (Ekinçi and Beydemir, 2010). In a study on PON1 activity was reviewed the effects of various pesticides, such as dichlorvos, imidacloprid, lambda cyhalothrin, and fenoxaprop-p-ethyl. As a result of the study, IC₅₀ values were found to be 0.0103, 0.0690, 0.1570, and 0.2000 μM, respectively (Cebeci et al., 2014).

Table 3. XP Glide docking results for homovanillic acid

Inhibitor	PubChem CID	Glide GScore (kcal mol ⁻¹)	ΔG vdW (kcal mol ⁻¹)	ΔG Coulomb (kcal mol ⁻¹)	Glide energy (kcal mol ⁻¹)	Glide model (kcal mol ⁻¹)
Homovanillic acid	153921	-3.29	-15.48	-8.47	-23.95	-28.15

In our previous study, it was investigated *in vitro* inhibitory effects of some bromophenols, which are between the natural organohalogen agents, on PON1 activity. IC₅₀ values of these bromophenols were found ranging between 0.123 and 1.212 mM (Akbaba et al., 2013). Additionally, in our previous studies, we researched that the *in vitro* effects of various nucleoside analogues (e.g., 5-fluorouracil, and

acyclovir, and gemcitabine hydrochloride) (Türkeş et al., 2013), certain calcium-channel antagonists including, amlodipine besylate, isradipine, nifedipine, and nitrendipine (Türkeş et al., 2014), some antibacterial drugs, such as, ceftizoxime sodium, cefotaxime sodium, cefepime hydrochloride, levofloxacin hemihydrate, and moxifloxacin hydrochloride (Türkeş et al., 2015), and diverse antineoplastic

drugs, (bevacizumab, and palonosetron hydrochloride) (Türkeş et al., 2016) on enzyme activity of human serum PON1. According to the findings of these researches, some chemical compounds, such as metals and pesticides, have

shown inhibition effect on PON1 at very low concentrations and exhibited several types of inhibition. In addition, even though most of the drugs used were in therapeutic doses, they strongly inhibited PON1.

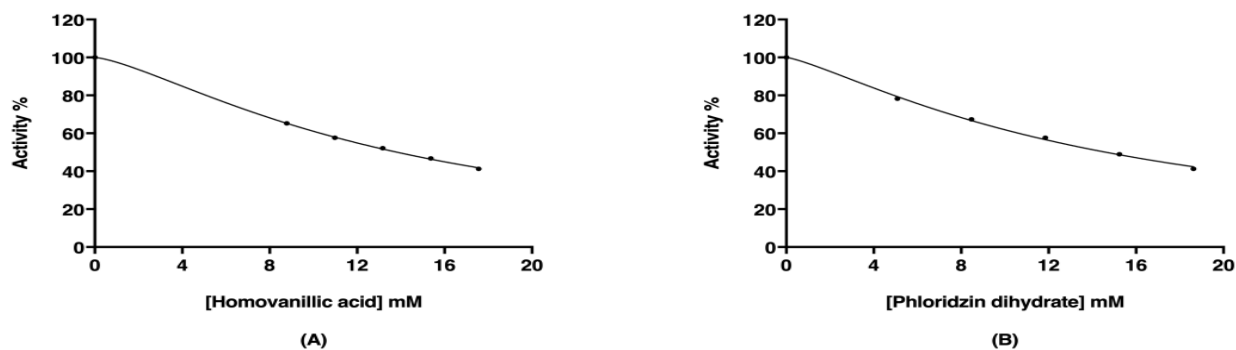


Figure 3. *In vitro* effect of phenolic compounds

In this study, it was utilized the similar procedure used by our group in previous studies and purified human serum PON1 in three simple and rapid steps. The purification resulted in as a 21.22% yield, 3945.15 EU mg⁻¹ proteins specific activity, and approx. 239-fold (Table 1). Single protein band was obtained for this enzyme and

the molecular weight (MW) of the enzyme was computed as 43 kDa by SDS-PAGE. These results match those found in earlier studies (Alim and Beydemir, 2016; Alim et al., 2017; Alim et al., 2018; Beydemir and Demir, 2017; Ekinçi and Beydemir, 2009; Ekinçi et al., 2010; Pla et al., 2007; Sinan et al., 2006).

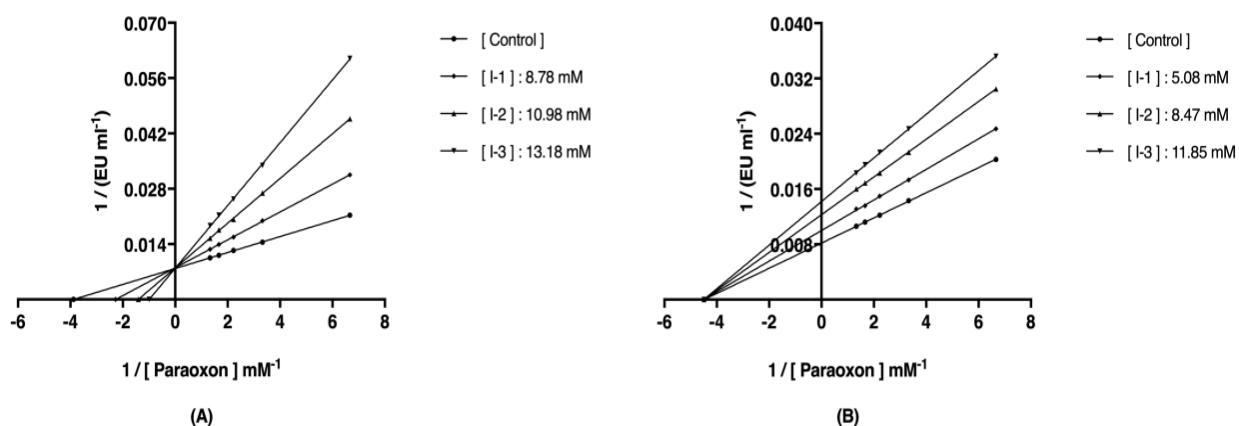


Figure 4. Lineweaver-Burk curves. (A) Homovanillic acid and (B) Phloridzin dehydrate

In the same study, we also focused on the *in vitro* inhibition role of some phenolic substances including homovanillic acid and

phloridzin dihydrate on PON1 enzyme activity. IC₅₀ values were 13.84±0.08 mM for homovanillic acid, and 14.62±0.24 mM for

phloridzin dihydrate (Table 2 and Figure 3). K_i constants for homovanillic acid, and phloridzin dihydrate were calculated to be 6.10 ± 0.26 mM and 16.96 ± 0.76 mM, respectively (Table 2, Figure 4). These results suggest that homovanillic acid interacts binding with the residues in the PON1's active site and shows competitive inhibition. To verify experimental results, molecular docking studies were implemented by using the Glide software. Molecular docking result of homovanillic acid conducted using Glide-XP protocol is depicted in Table 3. Homovanillic acid displayed Glide

XP score of -3.29 kcal mol⁻¹, Glide energy of -23.95 kcal mol⁻¹ and a Glide emodel score of -28.15 kcal mol⁻¹. Residues Tyr71, His184, PO₄1358, and Phe222 were found strongly interacting with the homovanillic acid (Figure 5). Binding energies in the 3SRE-homovanillic acid interaction has shown to fit best the ligand binds with PON1 and supported obtained results during biological activities analyses. Also, since the inhibition mechanism of phloridzin dihydrate has non-competitive, this compound could be linked to anywhere except the active site of the enzyme.

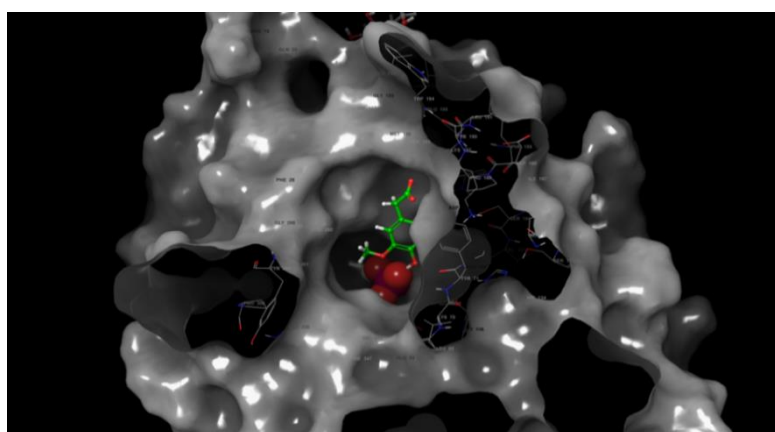
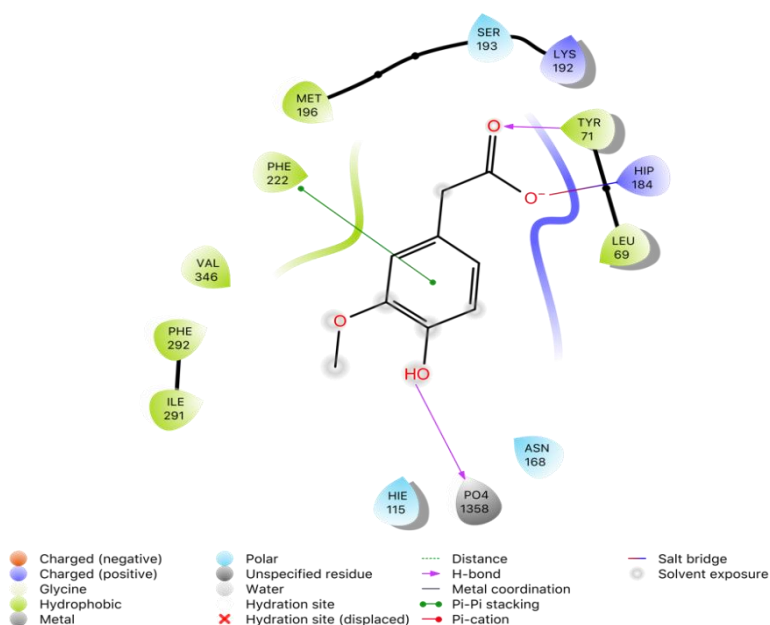
**a****b**

Figure 5. (a) Ligand interaction of homovanillic acid with 3SRE, (b) Glide docking image of homovanillic acid with 3SRE

CONCLUSION

In this study, PON1 was purified having a specific activity of 3945.15 EU mg⁻¹ proteins, with a yield of 21.22% and 239-fold and determined that homovanillic acid and phloridzin dihydrate are potent inhibitors for PON1 enzyme. The most striking result to emerge from the data evaluation was that phenolic compounds concentrations used in the calculation of the IC₅₀ values and K_i constants in the assays were at the low levels. The findings of this research have a number of major implications for future practice.

ACKNOWLEDGEMENT

The author thanks Samet Karataş and Muhammed Kerem Türkeş for his kind help suggestions during the preparation of the manuscript. This work was supported by the Research Fund of Erzincan Binali Yıldırım University (project number FBA-2017-501). The author is grateful to Erzincan Binali Yıldırım University for financial support.

REFERENCES

- Akbaba Y, Türkeş C, Polat L, Söyüt H, Şahin E, Menzek A, Göksu S, Beydemir Ş, 2013. Synthesis and Paroxonase Activities of Novel Bromophenols. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 28 (5): 1073-1079.
- Alim Z, Beydemir Ş, 2016. Some Anticancer Agents Act on Human Serum Paraoxonase-1 to Reduce Its Activity. *Chemical biology & drug design*, 88 (2): 188-196.
- Alim Z, Kilic D, Koksall Z, Beydemir S, Ozdemir H, 2017. Assessment of the Inhibitory Effects and Molecular Docking of Some Sulfonamides on Human Serum Paraoxonase 1. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 31 (10): e21950.
- Alım Z, Kılıç D, Demir Y, 2018. Some indazoles reduced the activity of human serum paraoxonase 1, an antioxidant enzyme: in vitro inhibition and molecular modeling studies. *Archives of physiology and biochemistry*, 1-9.
- Aslan HE, Demir Y, Özaslan MS, Türkan F, Beydemir Ş, Küfrevioğlu ÖI, 2018. The behavior of some chalcones on acetylcholinesterase and carbonic anhydrase activity. *Drug and chemical toxicology*, 1-7.
- Beydemir Ş, Demir Y, 2017. Antiepileptic Drugs: Impacts on Human Serum Paraoxonase-1. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 31 (6): e21889.
- Bradford MM, 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical biochemistry*, 72 (1-2): 248-254.
- Cebeci B, Alim Z, Beydemir Ş, 2014. In Vitro Effects of Pesticide Exposure on the Activity of the Paraoxonase-1 Enzyme from Sheep Liver Microsomes. *Turkish Journal of Chemistry*, 38 (3): 512-520.
- Copeland RA, 2004 *Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis*. John Wiley & Sons
- Copeland RA, 2013 *Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery: A Guide for Medicinal Chemists and Pharmacologists*. John Wiley & Sons
- Costa LG, Li WF, Richter RJ, Shih DM, Lusia A, Furlong CE, 1999. The Role of Paraoxonase (Pon1) in the Detoxication of Organophosphates and Its Human Polymorphism. *Chemico-biological interactions*, 119: 429-438.
- Ekinci D, Beydemir Ş, 2009. Evaluation of the Impacts of Antibiotic Drugs on Pon 1; a Major Bioscavenger against Cardiovascular Diseases. *European journal of pharmacology*, 617 (1-3): 84-89.
- Ekinci D, Beydemir Ş, 2010. Purification of Pon1 from Human Serum and Assessment of Enzyme Kinetics against Metal Toxicity. *Biological trace element research*, 135 (1-3): 112-120.
- Ekinci D, Şentürk M, Beydemir Ş, İrfan Küfrevioğlu Ö, Supuran CT, 2010. An Alternative Purification Method for Human Serum Paraoxonase 1 and Its Interactions with Sulfonamides. *Chemical biology & drug design*, 76 (6): 552-558.

- Fraga CG, Galleano M, Verstraeten SV, Oteiza PI, 2010. Basic Biochemical Mechanisms Behind the Health Benefits of Polyphenols. *Molecular aspects of medicine*, 31 (6): 435-445.
- Friesner RA, Banks JL, Murphy RB, Halgren TA, Klicic JJ, Mainz DT, Repasky MP, Knoll EH, Shelley M, Perry JK, 2004. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking Accuracy. *Journal of medicinal chemistry*, 47 (7): 1739-1749.
- Furlong CE (2008) Paraoxonases: An Historical Perspective The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism. Springer, p 3-31
- Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, Costa LG, Motulsky AG, 1989. Spectrophotometric Assays for the Enzymatic Hydrolysis of the Active Metabolites of Chlorpyrifos and Parathion by Plasma Paraoxonase/Arylesterase. *Analytical biochemistry*, 180 (2): 242-247.
- Greenwood JR, Calkins D, Sullivan AP, Shelley JC, 2010. Towards the Comprehensive, Rapid, and Accurate Prediction of the Favorable Tautomeric States of Drug-Like Molecules in Aqueous Solution. *Journal of computer-aided molecular design*, 24 (6-7): 591-604.
- Gutiérrez-Grijalva EP, Ambriz-Pérez DL, Leyva-López N, Castillo-López RI, Heredia JB, 2016. Dietary Phenolic Compounds, Health Benefits and Bioaccessibility. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 66 (2).
- Halgren TA, Murphy RB, Friesner RA, Beard HS, Frye LL, Pollard WT, Banks JL, 2004. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 2. Enrichment Factors in Database Screening. *Journal of medicinal chemistry*, 47 (7): 1750-1759.
- Hassett C, Richter RJ, Humbert R, Chapline C, Crabb JW, Omiecinski CJ, Furlong CE, 1991. Characterization of Cdna Clones Encoding Rabbit and Human Serum Paraoxonase: The Mature Protein Retains Its Signal Sequence. *Biochemistry*, 30 (42): 10141-10149.
- Klaassen CD, Watkins JB, 1996 Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, vol 5. McGraw-Hill New York
- Kontush A, Chapman MJ, 2006. Functionally Defective High-Density Lipoprotein: A New Therapeutic Target at the Crossroads of Dyslipidemia, Inflammation, and Atherosclerosis. *Pharmacological reviews*, 58 (3): 342-374.
- Kuzu M, Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S, Caglayan C, Turk E, 2018. Morin attenuates doxorubicin-induced heart and brain damage by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106: 443-453.
- Laemmli UK, 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *nature*, 227 (5259): 680.
- Lineweaver H, Burk D, 1934. The Determination of Enzyme Dissociation Constants. *Journal of the American chemical society*, 56 (3): 658-666.
- Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN, 1993. Protection of Low-Density Lipoprotein against Oxidative Modification by High-Density Lipoprotein Associated Paraoxonase. *Atherosclerosis*, 104 (1-2): 129-135.
- Mackness MI, Durrington PN, 1995. Hdl, Its Enzymes and Its Potential to Influence Lipid Peroxidation. *Atherosclerosis*, 115 (2): 243-253.
- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C, 2005. Bioavailability and Bioefficacy of Polyphenols in Humans. I. Review of 97 Bioavailability Studies-. *The American journal of clinical nutrition*, 81 (1): 230S-242S.
- Manco G, Porzio E, Suzumoto Y, 2018. Enzymatic detoxification: a sustainable means of degrading toxic organophosphate pesticides and chemical warfare nerve agents. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 93: 2064-2082.

- Masumoto S, Akimoto Y, Oike H, Kobori M, 2009. Dietary Phloridzin Reduces Blood Glucose Levels and Reverses Sglt1 Expression in the Small Intestine in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 57 (11): 4651-4656.
- Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC, 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological reviews*, 52 (4): 673-751.
- Pla A, Rodrigo L, Hernandez AF, Gil F, Lopez O, 2007. Effect of Metal Ions and Calcium on Purified Pon1 and Pon3 from Rat Liver. *Chemico-biological interactions*, 167 (1): 63-70.
- Renault F, Chabrière E, Andrieu J-P, Dublet B, Masson P, Rochu D, 2006. Tandem Purification of Two Hdl-Associated Partner Proteins in Human Plasma, Paraoxonase (Pon1) and Phosphate Binding Protein (Hpbp) Using Hydroxyapatite Chromatography. *Journal of Chromatography B*, 836 (1-2): 15-21.
- Robertson JG, 2005. Mechanistic Basis of Enzyme-Targeted Drugs. *Biochemistry*, 44 (15): 5561-5571.
- Sastry GM, Adzhigirey M, Day T, Annabhimoju R, Sherman W, 2013. Protein and Ligand Preparation: Parameters, Protocols, and Influence on Virtual Screening Enrichments. *Journal of computer-aided molecular design*, 27 (3): 221-234.
- Shelley JC, Cholleti A, Frye LL, Greenwood JR, Timlin MR, Uchimaya M, 2007. Epik: A Software Program for Pk a Prediction and Protonation State Generation for Drug-Like Molecules. *Journal of computer-aided molecular design*, 21 (12): 681-691.
- Sinan S, Kockar F, Arslan O, 2006. Novel Purification Strategy for Human Pon1 and Inhibition of the Activity by Cephalosporin and Aminoglikozide Derived Antibiotics. *Biochimie*, 88 (5): 565-574.
- Surh YJ, 1998. Cancer Chemoprevention by Dietary Phytochemicals: A Mechanistic Viewpoint. *The Cancer journal*, 11 (1): 6-10.
- Teiber JF, Xiao J, Kramer GL, Ogawa S, Ebner C, Wolleb H, Carreira EM, Shih DM, Haley RW, 2018. Identification of Biologically Active δ -lactone Eicosanoids as Paraoxonase Substrates. *Biochemical and biophysical research communications*, 505 (1): 87-92.
- Tuck KL, Hayball PJ, 2002. Major Phenolic Compounds in Olive Oil: Metabolism and Health Effects. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13 (11): 636-644.
- Türkeş C, Soyut H, Beydemir S, 2013. Inhibition Effects of Gemcitabine Hydrochloride, Acyclovir, and 5-Fluorouracil on Human Serum Paraoxonase-1 (Hpon1): In Vitro. *Open J Biochem*, 1: 10-15.
- Türkeş C, Söyüt H, Beydemir Ş, 2014. Effect of Calcium Channel Blockers on Paraoxonase-1 (Pon1) Activity and Oxidative Stress. *Pharmacological reports*, 66 (1): 74-80.
- Türkeş C, Söyüt H, Beydemir Ş, 2015. Human Serum Paraoxonase-1 (Hpon1): In Vitro Inhibition Effects of Moxifloxacin Hydrochloride, Levofloxacin Hemihidrate, Cefepime Hydrochloride, Cefotaxime Sodium and Ceftizoxime Sodium. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 30 (4): 622-628.
- Türkeş C, Söyüt H, Beydemir Ş, 2016. In Vitro Inhibitory Effects of Palonosetron Hydrochloride, Bevacizumab and Cyclophosphamide on Purified Paraoxonase-I (Hpon1) from Human Serum. *Environmental toxicology and pharmacology*, 42: 252-257.
- Velderrain-Rodríguez GR, Palafox-Carlos H, Wall-Medrano A, Ayala-Zavala JF, Chen CO, Robles-Sánchez M, Astiazaran-García H, Alvarez-Parrilla E, González-Aguilar GA, 2014. Phenolic Compounds: Their Journey after Intake. *Food & function*, 5 (2): 189-197.
- Wang Q, Qiu L, Chen X-r, Song K-K, Shi Y, Chen Q-X, 2007. Inhibitory Effects of Phloridzin Dihydrate on the Activity of Mushroom (*Agaricus Bisporus*) Tyrosinase. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15 (3): 1568-1571.

Synthesis and Theoretical Analyses of Novel 5-mercapto-2-(5-methyl-furan-2-yl-methylidenamino)-1,3,4-thiadiazole Molecule

Gül KOTAN^{1*}, Hilal MEDETALİBEYOĞLU², Murat BEYTUR², Onur AKYILDIRIM³, Haydar YÜKSEK²

ABSTRACT : In this study, the novel 5-Mercapto-2-(5-methyl-furan-2-yl-methylidenamino)-1,3,4-thiadiazole molecule was synthesized from the reaction of 2-amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole with 5-methyl-furan-2-carbaldehyde. The 5-Mercapto-2-(5-methyl-furan-2-yl-methylidenamino)-1,3,4-thiadiazole was optimized by using DFT(B3LYP)-HF methods. The mulliken charges, HOMO-LUMO energy, $E_{LUMO}-E_{HOMO}$ energy gap (ΔE_g), dipole moments, electron affinity (A), ionization potential (I), chemical softness (σ), chemical hardness (η), electronegativity (χ), bond angles, total energy and bond lengths of the molecule were calculated by using 6-31G(d,p) basis set with DFT (B3LYP) and HF methods. Otherwise, the ¹H-NMR and ¹³C-NMR isotropic shift values were calculated by using GIAO methods with GaussianG09W package program. The experimental/theoretical values were compared and the regression analysis were found. Defining IR values were used the veda4f program. The theoretical infrared spectrums are visualised.

Keywords: 1,3,4-Thiadiazole, HOMO-LUMO, DFT, HF, GIAO.

Yeni 5-Merkapto-2-(5-metil-furan-2-il-metilidenamino)-1,3,4-tiyadiazol Molekülün Sentezi ve Teorik Analizi

ÖZET: Bu çalışmada, yeni 5-Merkapto-2-(5-metil-furan-2-il-metilidenamino)-1,3,4-tiyadiazol molekülü 5-metil-furan-2-karbaldehid ile 2-amino-5-merkapto-1,3,4- tiyadiazolün reaksiyonundan sentezlenmiştir. 5-Merkapto-2-(5-metil-furan-2-il-metilidenamino)-1,3,4-tiyadiazol DFT(B3LYP)-HF metodları kullanılarak optimize edilmiştir. Molekülün mulliken yükleri, HOMO-LUMO enerjisi, $E_{LUMO}-E_{HOMO}$ enerji farkı(ΔE_g), dipol moment, elektron ilgisi (A), iyonizasyon potansiyeli (I), kimyasal yumuşaklık (σ), kimyasal sertlik (η), elektronegativite (χ), bağ açıları, toplam enerjisi ve bağ uzunlukları DFT(B3LYP)-HF metodları ile 6-31G(d,p) temel seti kullanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR isotropik kayma değerleri GaussianG09W programı ile GIAO metodları kullanılarak hesaplanmıştır. Deneysel ve hesaplanan teorik değerler karşılaştırılmış ve regrasyon analizi yapılmıştır. IR değerlerini belirlemek için veda4f programı kullanılmıştır. DFT-HF metodlarına göre elde edilen IR verileri uygun skala faktörleri ile çarpılmış ve teorik infrared spektrumları çizilmiştir.

Anahtar Kelimeler: 1,3,4-Tiyadiazol, HOMO-LUMO, DFT, HF, GIAO.

¹Gül KOTAN (Orcid ID: 0000-0002-4507-9029) , Kafkas University, Kars Vocational School, Kars, Turkey

²Hilal MEDETALİBEYOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-1310-6811), Murat BEYTUR (Orcid ID: 0000-0002-7098-5592), Haydar YÜKSEK (Orcid ID: 0000-0003-1289-1800), Kafkas University, Department of Chemistry, Kars, Turkey

³Onur AKYILDIRIM (Orcid ID: 0000-0003-1090-695X), Kafkas University, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Kars, Turkey

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Gül KOTAN, e-mail: gulkemer@hotmail.com

INTRODUCTION

Heterocyclic molecules are very common in nature and are used in many fields. Among these molecules, thiadiazoles, which have an important place among the 5-membered heterocyclic containing nitrogen and sulfur, are widely used in pharmaceutical chemistry, materials science and organic synthesis (Shahcheragh et al., 2017). 1,3,4-Thiadiazole and its derivatives have a broad spectrum of biological activity such as antimicrobial (El-Gohary et al., 2013), antibacterial (Li et al., 2015), antioxidant (Gür et al., 2017), anticonvulsant (Luszczki et al., 2015), analgesic (Ragab et al., 2016), and anticancer (Polkam et al., 2017). In addition, 1,3,4-thiadiazole derivatives are widely used in bactericides, insecticides, pesticides, fungicides and herbicides in many areas of agriculture and technology (Zarei, 2017; Zou et al., 2002). In the literature, experimental and theoretical studies on the structural and vibrational properties of 1,3,4-thiadiazole have been reported in order to understand the basic issues of this class of materials (Dani et al., 2013; Romano et al., 2013). The theoretical calculations on heterocyclic molecules have been reported so far (Kotan et al., 2018).

In this study, the novel 5-Mercapto-2-(5-methyl-furan-2-yl-methylidenamino)-1,3,4-thiadiazole was synthesized from the reaction of 2-amino-5-mercapto-1,3,4-thiadiazole with 5-methyl-furan-2-carbaldehyde. The structure of synthesized new compound was established from IR, ^1H NMR and ^{13}C NMR spectral data. Then, we examined theoretical features of titled new compound 5-mercapto-2-(5-methyl-furan-2-yl-methylidenamino)-1,3,4-thiadiazole. All theoretical computer calculations of the target compound were performed with the Gaussian09W (Frisch et al., 2009). Firstly, titled molecule were optimized by using the restricted DFT(B3LYP)-HF/6-31G(d,p) level of theory (Frisch et al., 2009; Wolinski et al., 1990).

Optimized structure is the most stable structure of the molecule. Then, the dipole moments, HOMO-LUMO energies, bond lengths, Mulliken atomic charges, bond angles and electronic properties; $E_{\text{LUMO}}-E_{\text{HOMO}}$ energy gap (ΔE_g), ionization potential (I), softness (σ), electron affinity (A), global hardness (η), electronegativity (χ), thermodynamics data; (entropy (S), thermal energies (E) and capacity (CV), total energy of titled molecule from optimized structure were calculated by using both methods. Furthermore, The theoretical calculations ^1H -NMR and ^{13}C -NMR were performed by using DFT/HF 6-31G(d,p) level. ^1H -/ ^{13}C -NMR isotropic shift data were performed by using the GIAO method with the Gaussian09W (Wolinski et al., 1990). The visualization of all results has been carried out using GaussView 5 (Dennington et al., 2009). Theoretical and experimental results were carried out the graphic by equation of $\delta_{\text{exp}}=a+b \cdot \delta_{\text{calc}}$. The standard error data were calculated.

Finally, the veda4f program was used in defining IR data (Jamróz, 2004). The theoretical vibrational spectra were calculated at the DFT(B3LYP)-HF 6-31G(d,p) basis sets in the gas phase and these data are scaled with 0.9613 and 0.8929 factors for DFT(B3LYP)-HF 6-31G(d,p) basis set (Merrick et al., 2007). The IR spectrum values obtained according to DFT(B3LYP)-HF methods are performed using theoretical and experimental data. The experimental and theoretical IR spectra are given in Fig. 5.

MATERIALS AND METHODS

Experimental

5-mercapto-2-(5-methyl-furan-2-yl-methylidenamino)-1,3,4-thiadiazole, 2.05 g (91%); mp: 185 °C; IR (ν , cm^{-1}): 2879, 2977 (CH_3), 2715 (SH), 1666 (N=CH), 1614 (C=N), 1556, 1495 (C=C), 1181 (C-O, furan), 1101 (N-N), 673 (C-S); ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ : 2.43 (s, 3H, CH_3), 6.49 (d, 1H, ArH; J=2.80 Hz), 7.38 (d, 1H, ArH; J=3.20 Hz),

8.36 (s, 1H, N=CH), 13.28 (s, 1H, SH); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.80 (CH_3), 110.73, 125.46, 149.06, 159.90 (Ar-C), 153.57 (N=CH), 169.32 (Thiazole C2), 177.11 (Thiazole C5).

RESULT AND DISCUSSION

Computational Details

NMR spectral analysis

Experimental ^1H and ^{13}C -NMR spectra of the target molecule were measured in DMSO- d_6 . ^1H and ^{13}C chemical shift values with GIAO were calculated using the DFT(B3LYP)/HF methods with the 6-31G(d,p) basis set for DMSO solvent. The calculated chemical shift values and experimental are given in Table 1.

In the ^{13}C -NMR spectra for the methyl group carbon (C8) was assigned at 13.80 ppm whereas calculated at 22.75/11.77 ppm for B3LYP/HF 6-31G(d,p). The aromatic furan ring carbons (C4, C5, C6, C7) have been assigned at 149.06, 125.46, 110.73, 159.90 ppm in the experimental respectively. Their calculated values were 155.87/138.97; 124.85/118.75; 117.07/101.38; 166.84/155.43 ppm, respectively.

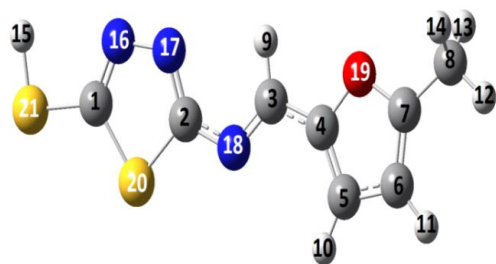


Figure 1. The Gausview structure of the molecule

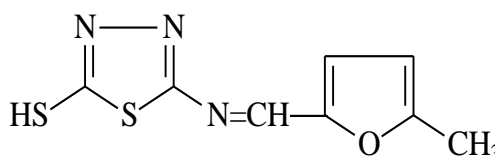


Figure 2. The chemical formula of the molecule

The R^2 values of the compound

B3LYP(DFT)-631G(d,p) in DMSO solvent: ^{13}C : 0.9815, ^1H : 0.9807; HF-631G(d,p) in DMSO solvent: ^{13}C : 0.9915, ^1H : 0.9807.

There is such a relationship between R^2 -values of the compound. Found a, b constants regression values and standard error rate were

The characteristic -N=CH peak was observed at 153.57 ppm in the experimental and same peak was calculated at 150.79/155.74 ppm according to 6-31G(d,p) basis sets of B3LYP and HF methods. The thiazole C2 and thiazole C5 peaks were observed experimentally at 169.32 and 177.11 ppm, these peaks were calculated theoretically at 171.41/163.17 ppm, respectively. In the ^1H -NMR spectra for the methyl group protons (H12, H13, H14), the singlets were observed at 2.43 ppm. Their theoretical values were 3.19, 3.29, 3.29 ppm for the DFT/B3LYP/6-31G(d,p) and 2.65, 2.67, 2.67 ppm for the HF/6-31G(d,p), respectively. The aromatic furan ring protons (H10, H11) were seen at 7.38 and 6.49 ppm in the experimental. The calculated values of these protons were 8.46/8.22 and 7.42/6.77 ppm for B3LYP/HF 631G(d,p), respectively. Although the singlet peaks for characteristic -N=CH proton (H9) and -S-H proton (H15) were assigned at 8.36 and 13.28 ppm in the experimental, their were calculated at 9.95/9.62 and 6.25/5.72 ppm, respectively.

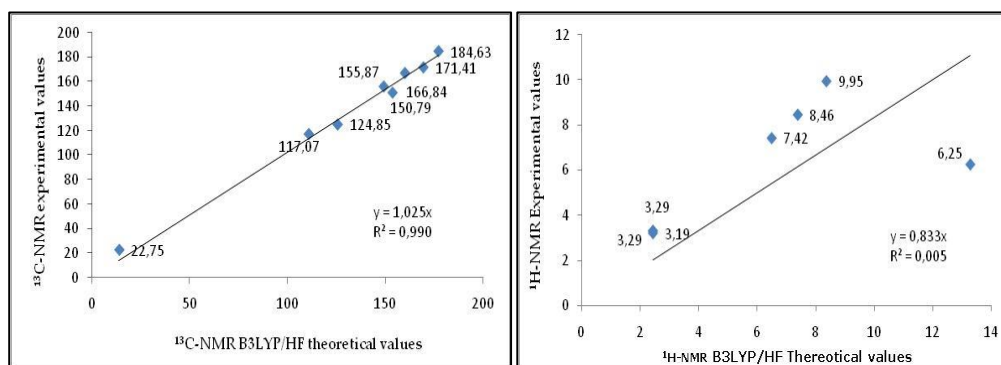
performed. These values for titled compound were given in Table 2. Theoretical/experimental proton (^1H -)-carbon (^{13}C -)-NMR chemical shifts values between according to a, b data and R^2 were performed and observed a linear correlation.

Table 1. ^{13}C -/ ^1H -NMR isotropic chemical shifts in DMSO (δ /ppm) (6-31G(d,p))

no	Experimental	DFT	Differ.DFT	HF	Differ.HF
C1	169.32	171.41	-2.09	163.17	6.15
C2	177.11	184.63	-7.52	171.14	5.97
C3	153.57	150.79	2.78	155.74	-2.17
C4	149.06	155.87	-6.81	138.97	10.09
C5	125.46	124.85	0.61	118.75	6.71
C6	110.73	117.07	-6.34	101.38	9.35
C7	159.90	166.84	-6.94	155.43	4.47
C8	13.80	22.75	-8.95	11.77	2.03
H9	8.36	9.95	-1.59	9.62	-1.26
H10	7.38	8.46	-1.08	8.22	-0.84
H11	6.49	7.42	-0.93	6.77	-0.28
H12	2.43	3.19	-0.76	2.65	-0.22
H13	2.43	3.29	-0.86	2.67	-0.24
H14	2.43	3.29	-0.86	2.67	-0.24
H15	13.28	6.25	7.03	5.72	7.56

Table 2. The correlations data of the molecule (^1H and ^{13}C -NMR)

6-31G (d,p)	^{13}C				^1H			
	R	S. error	a	b	R	S. error	a	b
DFT	0.9815	6.4084	1.0546	-12.191	0.9807	0.3357	0.9234	0.5884
HF	0.9915	4.3428	0.9823	5.5069	0.9807	0.3357	0.9234	0.5884

**Figure 3.** The correlation graphs for B3LYP/HF 631G(d,p) chemical shifts of molecule

The vibration frequency analysis

The calculated IR data were carried out according to veda4f program and the scaled DFT/HF values were obtained. The calculated IR data are multiplied with 0.9613 (for DFT), 0.8929 (for HF) adjustment factors according to 6-31G(d,p) basis sets. All frequencies of the compound were found positive. All theoretical spectrums were drawn according to obtained

results from B3LYP and HF methods. Theoretically infrared data were compared with experimental data. These results were found corresponding with each values.

C=C stretching vibrations have been assigned to two weak band in the regions 1556, 1495 cm^{-1} in the experimental whereas their calculated value for B3LYP/HF 631G(d,p) were in the region 1515/1551 cm^{-1} . The C=N

stretching vibration in the experimental IR spectrum was observed at 1614 cm^{-1} though the calculated values appeared at $1573/1625\text{ cm}^{-1}$ according to 6-31G(d,p) basis sets of B3LYP and HF methods. The band HC=N is 1666 cm^{-1} in the experimental IR spectrum and the calculated values are in the region $1583/1665\text{ cm}^{-1}$. The C-O stretching vibration was observed at 1181 cm^{-1} for experimental value which was calculated at $1188/1193\text{ cm}^{-1}$ for the HF and DFT methods with the 6-31G(d,p) basis set, respectively. The strong S-H stretching vibration band were assigned at 2715 cm^{-1} in FT-IR spectrum. The same vibration band was calculated theoretically $2584/2621\text{ cm}^{-1}$. The C-

H stretching vibration of aromatic furan ring was observed experimentally at 3078 cm^{-1} . Its calculated value were $3141/3181\text{ cm}^{-1}$ and $3160/3198\text{ cm}^{-1}$. The C-H shear and angle banding stretching vibration bands of the methyl group have been assigned at $2879, 2977\text{ cm}^{-1}$ in the experimental whereas The computed values for these C-H vibration bands have been calculated at $2983, 2930\text{ cm}^{-1}$ for the B3LYP/6-31G(d,p) and $2928, 2873\text{ cm}^{-1}$ for the HF/6-31G(d,p). The C-S stretching vibration has been assigned to a weak band in the region 673 cm^{-1} and calculated value for B3LYP/HF 631G(d,p) were in the region $598/612\text{ cm}^{-1}$ (Table 3,4).

Table 3. Significant vibrational frequencies (cm^{-1})

Significant vibrational frequencies	Experimental IR (cm^{-1})	B3LYP/DFT/HF 6-31G(d,p) IR (cm^{-1})	
		Scaled DFT	Scaled HF
$\nu\text{ C=C}$	1556, 1495	1515	1551
$\nu\text{ C=N}$	1614	1573	1625
$\nu\text{ CH=N}$	1666	1583	1665
$\nu\text{ C-O}$	1181	1188	1193
$\nu\text{ S-H}$	2715	2584	2621
$\nu\text{ C-H}$	2879, 2977	2983, 2930	2928, 2873
$\nu\text{ C-S}$	673	598	612

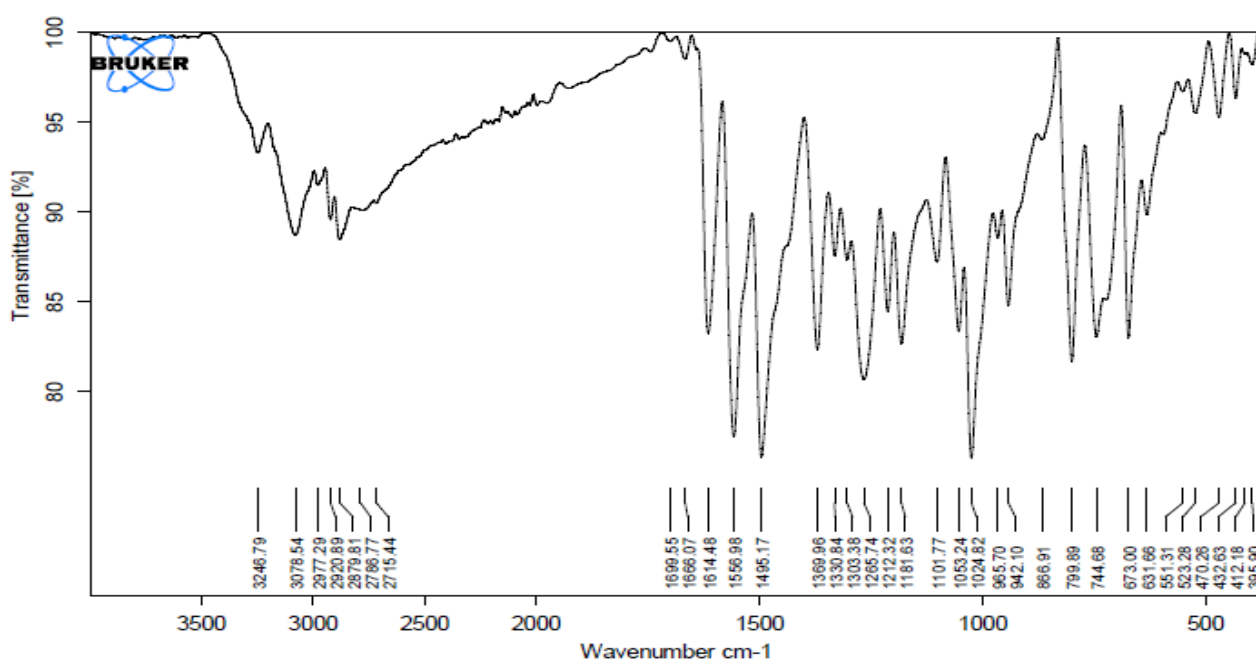
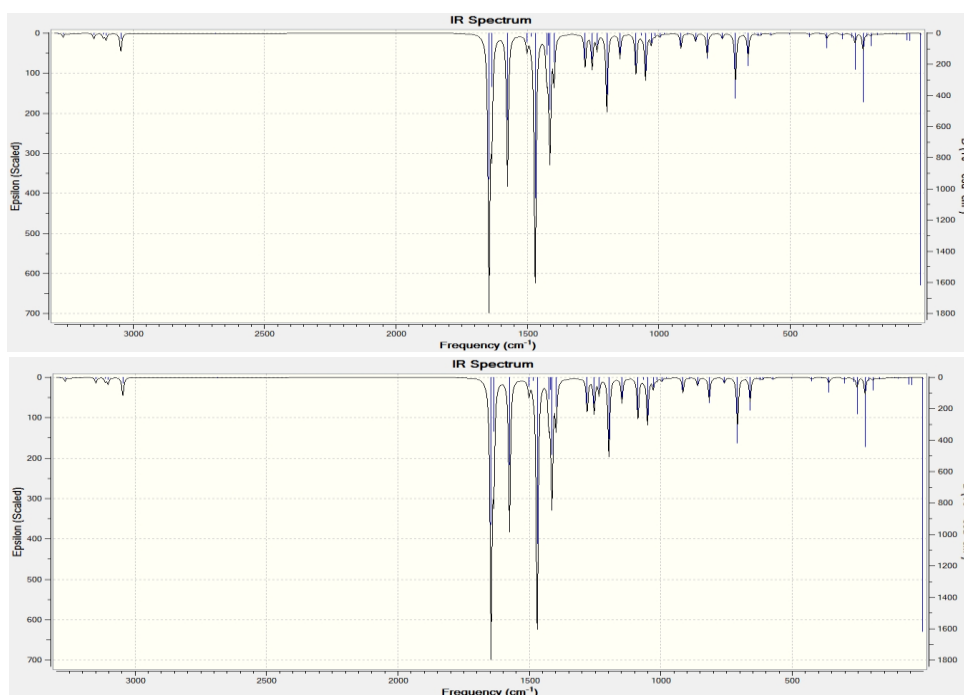


Figure 4. Experimental IR spectrum of the molecule

Table 4. The calculated IR frequencies (cm^{-1}) of compound (6-31G(d,p))

Vibrational frequencies	Scaled DFT	Scaled HF	Vibrational frequencies	Scaled DFT	Scaled HF
τ CNNC(66)	4	21	δ HCH(14), ν CC(16), ν OC(13)	942	960
τ NCCC(22), τ NNCN(20), τ CCOC(10)	44	47	ν OC(26), ν CC(11), δ COC(17)	958	968
δ CNNC(34), δ CCO(20)	54	54	τ HCNC(45)	976	993
τ CNNC(24), τ CCOC(30)	95	96	δ COC(23), ν CC(13)	990	1017
δ SCN(30), δ CNN(16), δ CCO(28)	106	128	δ HCC(13), ν CC(40), δ COC(14)	1011	1032
τ CNCN(20), τ CCCC(14)	161	154	δ HCH(18), τ HCCC(30)	1025	1048
ν CC(14), δ NCC(10), δ CNC(20)	185	180	ν NN(15), ν SC(38), δ NSC(12), δ NNC(15)	1045	1074
τ CNCN(15), τ CCNC(15)	202	187	ν NN(51), δ NNC(19)	1104	1142
τ CCOC(35), τ CNCN(30), τ CCON(11)	215	204	ν NN(12), ν NC(28), δ NNC(15)	1152	1183
δ CCC(11), τ CCCC(15), τ NNCN(11)	244	240	ν OC(15), δ HCC(43)	1188	1193
τ CCOC(27), τ COCC(12), τ NNNC(14)	257	259	ν OC(11), ν CC(16), δ HCC(14), δ CN(12)	1206	1225
τ HCCN(21)	290	302	ν OC(30), δ HCC(14), δ HCN(12)	1231	1234
δ NNC(10), δ CCO(43), δ SCN(13)	347	350	ν NC(16), δ HCN(36)	1345	1356
τ SSNC(33), τ NCCC(16), τ NCN(10)	375	398	ν NC(59)	1360	1391
ν SC(31), δ SCN(30)	409	421	ν NC(10), δ CCO(21), δ CN(10), δ COC(18)	1365	1398
δ CNN(14), δ CCO(21)	484	488	δ HCH(91)	1372	1439
τ NNCN(10), τ SCNN(10), τ SCN(10)	551	577	ν NC(30)	1414	1454
τ CNNC(47), τ COCC(17), τ SCNN(13)	589	607	τ HCCC(10), δ HCH(80)	1428	1514
ν SC(47), δ SCN(12)	598	612	δ HCH(67), τ HCCC(10)	1444	1527
τ CCOC(52)	613	632	ν CC(40)	1515	1551
ν CC(28), δ CCO(17)	635	637	ν CC(47), ν NC(13)	1573	1625
δ SCN(11), δ CNN(22), δ CCO(25)	646	662	ν NC(22)	1583	1665
δ HCC(27), δ CCC(13), τ CNNC(13)	681	697	ν SH(100)	2584	2621
ν NC(10), ν SC(20), δ CNN(20)	730	742	ν CH(92)	2930	2873
τ CHNC(46)	785	820	ν CH(50)	2983	2928
δ CNC(20), δ COC(10)	828	846	ν CH(56)	2993	2959
τ HCNC(78)	858	910	ν CH(46)	3029	2977
δ HSC(74)	881	914	ν CH(75)	3141	3081

ν – stretching; δ - In plane bending; τ – Twisting

**Figure 5.** Theoretical IR spectrums

Molecular geometry

The molecular geometric and electronic data such as bond lengths, mulliken atomic charges and bond angles of optimized molecule were calculated by using the DFT/(B3LYP)-HF 6-31G (d,p) basis set and obtained data were shown in Table 4-6. According to these data, the longest bond length is between C2-S20 atoms that this values are 1.773/1.742 Å. The electronegative oxygen (O), sulfur (S), nitrogen (N) atoms have negative atomic charge values. The carbon atoms surrounded by electronegative atoms have positive atomic charge values. The C1 atom surrounded by three electronegative atoms bond lengths in the thiadiazol ring N16-N17, N16-C1, C2-N17, C2-S20, S20-C1 are

calculated 1.362/1.363, 1.308/1.271, 1.309/1.273, 1.773/1.742, 1.748/1.735 6-31G(d,p) basis sets (Table 5). In the literature, the C=N and N-N bond lengths are measured as 1.280, 1.404, 1.212 Å (Ocak et.al., 2003; Ustabaş et.al., 2007). The biggest bond angle is between C(2)-N(59)-O(60) atoms, which is 134.17/133.6° (Table 6).

The mulliken atomic charges (Mulliken, 1955) were calculated by DFT/(B3LYP)-HF methods. The N16, S20, S21 and C2 atom is surrounded by three electronegative atoms N17, N18, S20. All hydrogen and sulfur atoms of the compound have positive atomic charge values. Also, all nitrogen and oxygen atoms have negative atomic charge values (Table 7).

Table 5. The calculated bond lengths of the molecule (B3LYP/HF 6-31G(d,p))

Bond lengths	DFT	HF	Bond lengths	DFT	HF
C(1)-N(16)	1.308	1.271	C(4)-C(5)	1.377	1.347
S(20)-C(1)	1.748	1.735	C(4)-O(19)	1.378	1.356
C(1)-S(21)	1.765	1.761	C(5)-H(10)	1.079	1.069
S(21)-H(15)	1.348	1.325	O(19)-C(7)	1.337	1.336
N(17)-N(16)	1.362	1.363	C(5)-C(6)	1.417	1.427
N(17)- C(2)	1.309	1.273	C(6)-H(11)	1.080	1.070
C(2)-N(18)	1.372	1.381	C(6)-C(7)	1.374	1.349
C(2)-S(20)	1.773	1.742	C(7)-C(8)	1.486	1.488
N(18)-C(3)	1.297	1.266	C(8)-H(12)	1.095	1.085
H(9)-C(3)	1.094	1.081	C(8)-H(13)	1.095	1.085
C(4) -C(3)	1.429	1.444	C(8)-H(14)	1.091	1.082

Table 6. The calculated bond angles of the molecule (B3LYP/HF 6-31G(d,p))

Bond Angles	B3LYP	HF	Bond Angles	B3LYP	HF
N(16)-C(1)-S(20)	114.53	114.15	C(4)-O(19)-C(7)	107.55	107.77
C(2)-N(17)-N(16)	113.78	113.31	C(4)-C(5)-H(10)	125.17	125.72
C(1)-S(20)-C(2)	85.78	85.72	C(4)-C(5)-C(6)	106.54	106.01
N(17)-C(2)-S(20)	113.06	113.69	C(5)-C(6)-H(11)	127.41	127.51
S(20)-C(2)-N(18)	118.29	118.68	C(5)-C(6)-C(7)	106.78	106.15
N(17)-C(2)-N(18)	128.63	127.60	O(19)-C(7)-C(6)	109.86	110.24
N(16)-S(21)-C(1)	123.54	123.90	H(11)-C(6)-C(7)	125.80	126.33
S(21)-C(1)-S(20)	121.92	121.93	O(19)-C(7)-C(8)	109.86	116.86
C(1)-S(21)-H(15)	93.13	94.65	C(7)-C(8)-H(12)	110.01	110.09
C(2)-N(18)-C(3)	118.34	117.73	C(7)-C(8)-H(13)	111.18	110.62
N(18)-C(3)-H(9)	122.49	122.54	C(7)-C(8)-H(14)	111.16	110.60
H(9)-C(3)-C(4)	116.60	116.31	H(12)-C(8)-H(13)	108.46	108.77
C(3)-C(4)-C(5)	134.17	133.66	H(12)-C(8)-H(14)	108.47	108.77
C(3)-C(4)-O(19)	116.57	116.52	H(13)-C(8)-H(14)	107.43	107.91

Table 7. The Mulliken atomic charges of title molecule (B3LYP/HF 6-31G(d,p))

	DFT	HF		DFT	HF
C1	-0.077	-0.106	H12	0.143	0.152
C2	0.268	0.325	H13	0.143	0.152
C3	0.097	0.183	H14	0.131	0.140
C4	0.303	0.272	H15	0.103	0.097
C5	-0.111	-0.143	N16	-0.243	-0.270
C6	-0.157	-0.256	N17	-0.292	-0.343
C7	0.340	0.363	N18	-0.476	-0.584
C8	-0.387	-0.363	O19	-0.473	-0.604
H9	0.139	0.206	S20	0.256	0.312
H10	0.126	0.197	S21	0.062	0.098
H11	0.104	0.169			

Frontier molecular orbital analysis

The FMO (frontier molecular orbitals) were used to determine the electric and electronic transitions, optical properties and kinetic stability (Fukui, et.al., 1955). The HOMO-LUMO energies of titled compound was performed using B3LYP-HF 6-31G (d,p) levels of theory. The energy gap between the HOMO and LUMO refers to the chemical stability of the molecule. If this energy gap (ΔE_g) is small, the interaction of the reactants and the reaction is easy. The HOMO-LUMO energies gap is 3.58 eV for B3LYP 6-31G (d,p) basis set and 9.87 eV for HF 6-31G (d,p) basis set (Figure 6).

All parameters such as the global electrophilicity index (ω), ionization potential (I), chemical potential (μ), electrophilic index (ω), electronegativity (χ), global hardness (η), chemical potential (Pi), nucleophilic index (IP) for the target compound have been performed by using both methods (Table 8). The electron affinity and ionization potential are used to evaluate the energy level of the electrons. The value of the energy level of molecule is 3.58 eV. The energy gap between the frontier orbitals is hardness. This value is 3.58 eV.

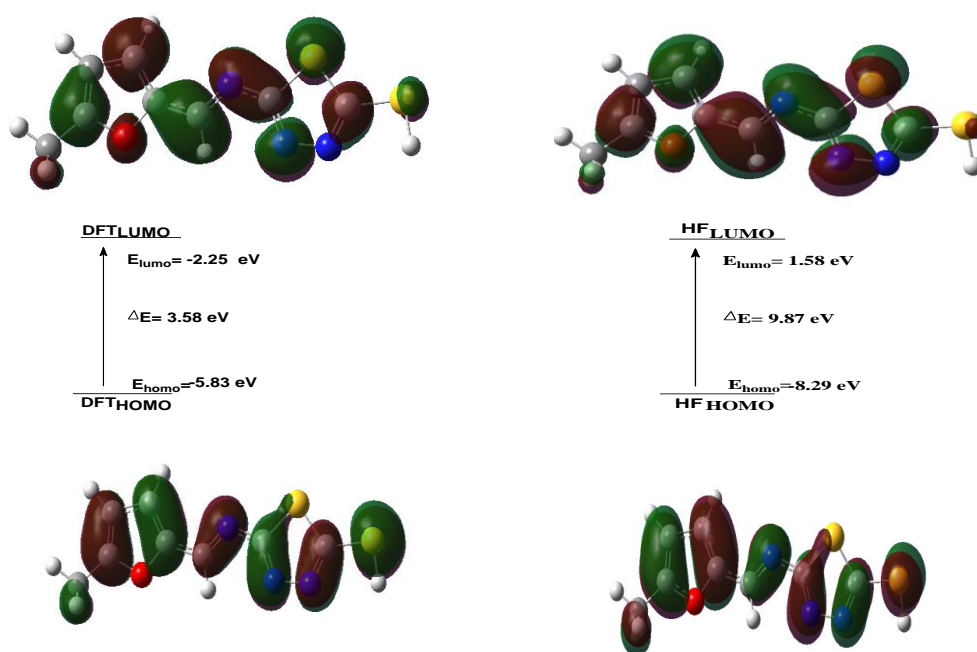
**Figure 6.** HOMO-LUMO and ΔE energies of the molecule

Table 8. The electronic structure parameters of the molecule

	Hartree	eV	Kcal/mol	Kj/mol
LUMO	0,05832	1,58693	36,596	153,119
HOMO	-0,30506	-8,3009	-191,426	-800,935
A Electron affinity	-0,05832	-1,58693	-36,596	-153,119
I Ionization potential	0,30506	8,3009	191,426	800,935
ΔE Energy gap	0,36338	9,88782	228,022	954,054
χ Electronegativity	0,12337	3,35698	77,415	323,908
Pi Chemical potential	-0,12337	-3,35698	-77,415	-323,91
ω Electrophilic index	0,001383	0,03762	0,86763	3,63021
IP Nucleophilic index	-0,02242	-0,60993	-14,066	-58,851
S Molecular softness	5,5039	149,764	3453,7	14450,4
η Molecular hardness	0,18169	4,94391	114,011	477,027

Table 9. The thermodynamics parameters of the molecule

	DFT	HF
Rotational temperatures (Kelvin)		
A	0.13247	0.13433
B	0.00838	0.00850
C	0.00789	0.00804
Rotational constants (GHZ)		
A	2.76013	2.79893
B	0.17459	0.17715
C	0.16445	0.16751
Thermal Energies E(Kcal/mol)		
Translational	0.889	0.889
Rotational	0.889	0.889
Vibrational	95.665	102.626
Total	97.442	104.403
Thermal Capacity CV(cal/mol-K)		
Translational	2.981	2.981
Rotational	2.981	2.981
Vibrational	41.757	38.505
Total	47.719	44.467
Entropy S(cal/mol-K)		
Translational	42.135	42.135
Rotational	32.673	32.626
Vibrational	47.659	40.923
Total	122.467	115.684
Zero-point correction (Hartree/Particle)	0.141928	0.153824
Thermal correction to Gibbs Free Energy	0.098040	0.112356
Thermal correction to Energy	0.155284	0.166377
Sum of electronic and zero-point Energies	-1344.731901	-1340.037485
Thermal correction to Enthalpy	0.156228	0.167321
Sum of electronic and thermal Energies	-1344.718545	-1340.024933
Sum of electronic and thermal Enthalpies	-1344.717601	-1340.023988
Sum of electronic and thermal Free Energies	-1344.775789	-1340.078954
Zero-point vibrational energy (Kcal/mol)	89.06110	96.52624

Investigation of thermodynamics properties of this compound

The thermodynamics parameters of the molecule were represented with B3LYP-HF 6-31G (d,p) basis sets. Thermodynamic parameters (thermal energy, entropy, vibrational energies (ZPVE), heat capacity, rotational temperatures, zero-point correction and rotational constants) were given in Table 9. Also, the standard thermodynamic functions of enthalpy H^0 , heat capacity CV^0 , and entropy S^0 were obtained. The dipole moment and total energy values of titled compound were performed by using B3LYP(DFT)-HF 6-31G(d,p) method and summarized in Table 10,11.

Molecular electrostatic potential (MEP), electron spin potential and total density

The total density, MEP of the molecule, the electron density and the electrostatic potential of titled compound have been performed by the DFT(B3LYP)-HF 6-31G(d,p) basis sets. The electron density in the molecule shows a uniform distribution. The colour scheme for the MEP surface of the molecule is as follows: while the electron rich region is red, the electron poor region is seen as blue color. The negative charges are delocalized in around N16, N17 and O19 atoms. The positive charges were observed in around H12, H13, H14 atoms connected with C atoms and shown in Figure 7.

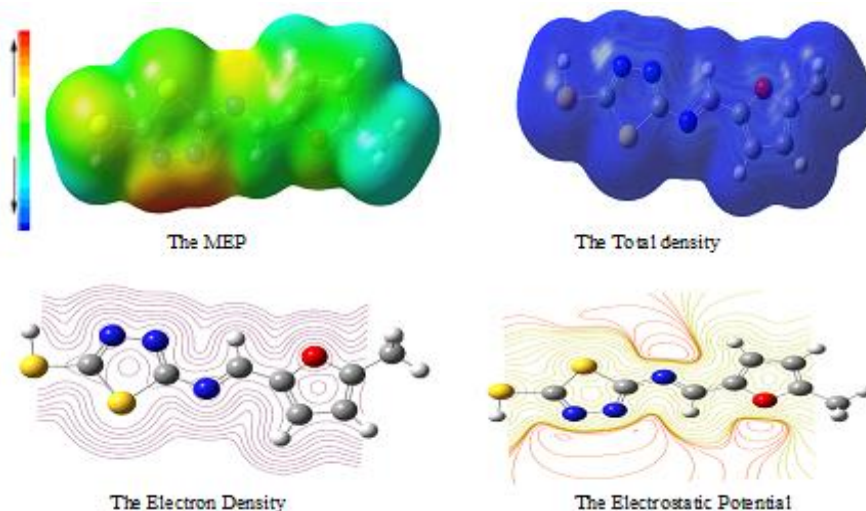


Figure 7. The calculated molecular surfaces of the molecule

Table 10. The dipole moment of the molecule

	μ_x	μ_y	μ_z	μ_{Total}
Dft	1.4434	-2.0798	0.2087	2.5402
Hf	1.4453	-2.2790	0.2998	2.7152

Table 11. The total energy of the molecule

Energy (a.u.)	DFT	HF
	-1344.873829	-1340.191309

CONCLUSION

The spectroscopic parameters such as ^{13}C -NMR, ^1H -NMR, IR and geometrical parameters are calculated by using DFT/HF methods with

the 6-31G (d,p) basis sets the GaussianG09W program. The spectroscopic values (^{13}C - and ^1H -NMR, IR) are compared with experimental ones. The ^{13}C -, ^1H -NMR chemical shifts and IR values are found that these data to be compatible with

the experimental values. Experimental and theoretical ^{13}C and ^1H -NMR chemical shifts values according to R^2 and a, b values were observed a linear correlation. Also, theoretical IR vibration frequencies were determined with veda4f program and significant results given in Tablo 3. Furthermore, HOMO and LUMO, Mulliken atomic charges, $E_{\text{HOMO}}-E_{\text{LUMO}}$ energy gap (ΔE_g), softness (σ), ionization potential (I), dipole moment, global hardness (η), electron affinity (A), electronegativity (χ) and total energies of the molecule were calculated with DFT (B3LYP)-HF 6-31G (d,p) basis sets.

REFERENCES

- Dani RK, Bharty MK, Kushawaha SK, Prakash O, Singh RK, Singh NK, 2013. Hydration process as an activation of trans and cisplatin complexes in anticancer treatment DFT and ab initio computational study of thermodynamic and kinetic parameters. *Journal of Computational Chemistry*, 26 (9): 907-914.
- Dennington R, Keith T, Millam J, 2009. GaussView, Version 5, Semichem Inc., Shawnee Mission KS.
- El-Gohary NS, Shaaban MI, 2013. Synthesis, antimicrobial, anti-quorum-sensing, antitumor and cytotoxic activities of new series of fused [1,3,4]thiadiazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 63: 185-195.
- Fukui K, Yonezawa T, Shingu HJ, 1952. A molecular orbital theory of reactivity in aromatic hydrocarbons. *The Journal of Chemical Physics*. 20: 722-725.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X et al, 2009. Gaussian 09, Revision C.01, Gaussian, Inc. Wallingford, CT.
- Gür M, Muğlu H, Çavuş MS, Güder A, Sayiner HS, Kandemirli F, 2017. Synthesis, characterization, quantum chemical and evaluation of antioxidant properties of 1,3,4-thiadiazole derivatives including 2- and 3-methoxy cinnamic acids. *Journal of Molecular Structure*, 1134: 40-50.
- Jamróz MH, 2004. Vibrational Energy Distribution Analysis, VEDA 4 program, Warsaw.
- Kotan G, Özdemir G, Yüksek H, 2018. Investigation of Spectroscopic, Electronic and Geometric Properties of 2-(3-Methyl-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-yl)-azomethine)-benzoic acid Using B3lyp and Hf Basis Sets. *Der Pharma Chemica*, 10(10): 66-72.
- Li P, Shi L, Gao MN, Yang X, Xue W, Jin LH, Hu DY, Song BA, 2015. Antibacterial activities against rice bacterial leaf blight and tomato bacterial wilt of 2-mercapto-5-substituted-1,3,4-oxadiazole/thiadiazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25 (3): 481-484.
- Luszczki JJ, Karpínska M, Matysiak J, Niewiadomy A, 2015. Characterization and preliminary anticonvulsant assessment of some 1,3,4-thiadiazole derivatives. *Density Functional Theory Study. Pharmacological Reports*, 67 (3): 588-592.
- Merrick JP, Moran D, Radom L, 2007. An Evaluation of Harmonic Vibrational Frequency Scale Factors. *Journal of Physical Chemistry*, 111(45): 11683-11700.
- Mulliken RS, 1955. Electronic Population Analysis on LCAO-MO Molecular Wave Functions I. *The Journal of Chemical Physics*, 23; 1833-1840.
- Ocak N, Çoruh U, Kahveci B, Şaşmaz S, Vazquez-Lopez EM, Erdönmez A, 2003. 1-Acetyl-3-(p-chlorobenzyl)-4-(p-chlorobenzylidenamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one. *Acta Crystallographica Section E*, 59(6): 750-752.
- Polkam N, Kummari B, Rayam P, Brahma U, Naidu VGM, Balasubramanian S, Anireddy JS, 2017. Synthesis of 2,5-Disubstituted-1,3,4-oxadiazole Derivatives and Their Evaluation as Anticancer and Antimycobacterial Agents. *Medicinal Chemistry & Drug Discovery*, 2: 5492-5496.
- Ragab FA, Heiba HI, El-Gazzar MG, Abou-Seri SM, El-Sabbagh WA, El-Hazek RM, 2016. Anti-inflammatory, analgesic and COX-2 inhibitory activity of novel thiadiazoles in irradiated rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 166: 285-300.

- Romano E, Ladetto MF, Brandán SA, 2013. Structural and vibrational studies of the potential anticancer agent, 5-difluoromethyl-1,3,4-thiadiazole-2-amino by DFT calculations. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1011: 57-64.
- Shahcheragh SM, Habibi A, Khosravi S, 2017. Straight forward synthesis of novel substituted 1,3,4-thiadiazole derivatives in choline chloride-based deep eutectic solvent. *Tetrahedron Letters*, 58, 855-859.
- Ustabaş R, Çoruh U, Sancak K, Ünver Y, Vazquez-Lopez EM, 2007. 1-(benzoylmethyl)-4-[(2,4-dichlorobenzylidene)amino]-3-(2-thienylmethyl)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one. *Acta Crystallographica Section E*, 63: 2982-3051.
- Wolinski K, Hilton JF, Pulay PJ, 1990. Efficient implementation of the gauge-independent atomic orbital method for NMR chemical shift calculations. *Journal of the American Chemical Society*, 112, 512.
- Zarei M, 2017. One-pot synthesis of 1,3,4-thiadiazoles using Vilsmeier reagent as a versatile cyclodehydration agent. *Tetrahedron*, 73: 1867-1872.

Synthesis and Characterization of Poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) Block Copolymers

Serhat ÖZTÜRK¹, İsmail ÇAKMAK¹, Ahmet Turan TEKEŞ¹, Ümit YILDIKO²

ABSTRACT: In this study, poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) was synthesized with the ring opening polymerization of ϵ -caprolactone using of the poly lactic acid with the presence of DBTDL catalyst. In order to achieve that, poly lactic acid was synthesized by the condensation from the polymerization of the lactic acid with the SnCl₂ catalyst. Poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) block copolymer was synthesized from the poly lactic acid (PLA) by changing some polymerization parameters such as polymer and monomer amounts and polymerization time. Block copolymers were characterized by using ¹H-NMR, ¹³C-NMR, FT-IR, DSC and GPC chromatography methods.

Key Words: Condensation polymerization, ring opening polymerization, poly lactic acid, block copolymer

¹Serhat ÖZTÜRK (Orcid ID: 0000-0003-3865-5806, İsmail ÇAKMAK (Orcid ID: 0000-0002-3191-7570), Ahmet Turan TEKEŞ (Orcid ID: 0000-0002-9942-7367), Faculty of Arts and Sciences. Department of Chemistry, Kafkas University, Kars, Turkey.

²Ümit YILDIKO (Orcid ID: 0000-0001-8627-9038), Architecture and Engineering Faculty, Department of Bioengineering, Kafkas University, Kars, Turkey

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ümit YILDIKO, e-mail: yildiko1@gmail.com

* Bu çalışma Serhat ÖZTÜRK'ün Yüksek Lisans tezinden alınmıştır.

INTRODUCTION

Poly (lactic acid) (PLA) is a polymer that is incorporated into the group of aliphatic polyesters whose repeating units consist of lactic acid (Jin, Hu, and Park 2019; Basu et al. 2016; Nofar et al. 2019; Saeidlou et al. 2012; Sonchaeng et al. 2018). One of the most important characteristics is that it is a biodegradable (Jin, Hu, and Park 2019; Wu et al. 2019; Nofar et al. 2019) and compostable (Kalita et al. 2019) thermoplastic polymer (Liu et al. 2019) produced from starch rich vegetable sources such as corn, sugarcane and wheat. With the increasing sensitivity of humans to the environment and the discovery of the new properties of the PLA, research on PLA has accelerated and provided more economic synthesis paths for high molecular weight PLA production. Thus, the use of poly (lactic acid) has started to expand and has started to spread to a wide range from packaging industry to general consumer products (Nofar et al. 2019; Gan and Chow 2018).

The lactide monomer forming the polylactic acid can be produced by carbohydrate fermentation or chemical synthesis. The PLA polymer can be synthesized in methods such as azeotropic dehydrative condensation, direct condensation or lactide polymerization. However, the synthesis, which is frequently used in industry, is carried out by ring opening polymerization mechanism. By this method, high molecular weight PLA is obtained. In recent years new synthesis mechanisms have also been found in commercial life (Castro-Aguirre et al. 2016).

ϵ -caprolactone (Moraczewski 2014) can also be copolymerized with a large number of different monomers (ethylene oxide, styrene, methyl methacrylate, vinyl acetate, etc.) (Sisson, Ekinci, and Lendlein 2013; Sinha et al. 2004). In addition, PCL tends to form a mixture compatible with many different polymers (Guindani et al. 2019; Jang et al. 2018;

Wang et al. 2018). Thanks to these properties, PCL can work alone or in combination with other polymers in tissue engineering studies (Dalgic et al. 2019; Pedram Rad, Mokhtari, and Abbasi 2018).

Poly (ϵ) -caprolactone was synthesized by ring-opening polymerization using hydrophobised silylated starch precursor. Poly (ϵ) -caprolactone side chains consist of 40-45 monomer units and are a function of reagent uptake. Poly (ϵ) -caprolactone copolymer was synthesized by (ϵ) -caprolactone ring-opening polymerization in tin octoate medium (Sinha et al. 2004; Wang et al. 2018).

Depending on the chemical components and molecular structures, block copolymers reveal interesting physicochemical properties which cause many applications (Cama et al. 2017). They can be used as stabilizers, emulsifiers, dispersing agents, elastomeric materials and surfactants, as well as in drug release (de Cassan et al. 2018), cosmetics, and many other industrial applications.

Murphy et al. prepared new materials by blending poly (ϵ -caprolactone) (PCL) and poly (lactic acid) (PLA) mixtures (Murphy et al. 2017). In this respect, synthesis with good properties as block copolymers is required.

In this study, poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) was synthesized by ring opening polymerization of DBTDL catalyzed ϵ -caprolactone using poly lactic acid. Poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) block copolymer was synthesized by varying various parameters (amount of polymer, amount of monomer and polymerization time)

MATERIALS AND METHODS

Materials

Lactic acid (80% Sigma-Aldrich product), Tin (II) chloride (SnCl_2) (Sigma-Aldrich product), P-toluene sulfonic acid (Sigma-Aldrich product), Diethyl ether (Sigma-Aldrich product),

ϵ - caprolactone (Sigma-Aldrich product), Toluene (Sigma-Aldrich product) and used as received. Silicone oil is a product of Sigma-Aldrich which is used to heat the material to a certain temperature with the heater in the beaker. Methanol (Technical product) was used as received. Chloroform was EMBOY product. Dibutyl tin was used as received dilaurat lens product.

Methods

Synthesis of Poly (lactic acid) Polymer by Condensation Polymerization

In the study, 50 g of 80% Lactic acid, 1.2 g of SnCl_2 and 1 g of p-toluene sulfonic acid were weighed and placed in a glass flask. When the temperature of a liquid filled beaker was reached to a temperature above 140°C with the heat exchanger, these chemicals were subjected to polymerization with the back cooling and vacuum assembly.

The silicone oil bath was held at 140°C for about 24 hours (the oil filled beaker was surrounded by isocam to prevent temperature loss). The polymer was removed from the flask, added chloroform and stirred for 2 hours with

the aid of a magnet. A portion of the solvent in the flask was evaporated in a rotary evaporator and precipitated with diethyl ether. The polymer was kept in the vacuum oven at 30°C for 1 week. 25.73 g of poly (lactic acid) were obtained in 49.3% yield (Figure 1).

Synthesis of Poly (lactic acid- b- ϵ -caprolactone) Block Copolymers

A quantity of poly (lactic acid) polymer, ϵ -caprolactone monomer, toluene and DBTDL (Dibutyl tin dilaurate) (required catalyst to provide ring opening) was put into a test tube and the tube was sealed. The reaction temperature was adjusted to 95°C and polymerization was carried out. After the polymerization was completed, the polymer was precipitated in methanol and the polymer was withdrawn by precipitation with methanol. To thoroughly remove the methanol, the polymer was allowed to dry well at 30°C in a vacuum oven. The reaction was repeated by changing the test conditions (amount of polymer, amount of monomer and hour)(Figure 2)

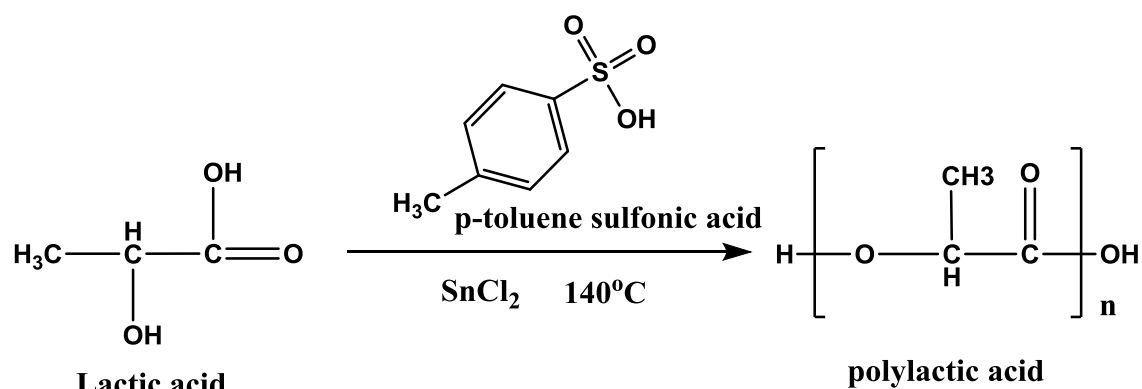


Figure 1. Polymerization of lactic acid

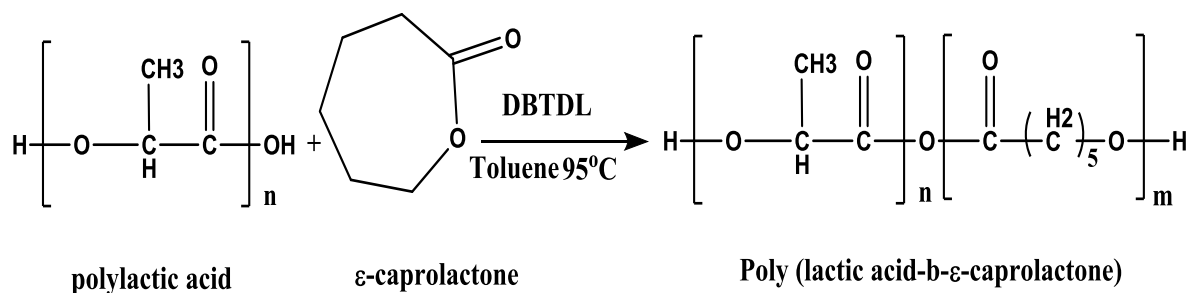


Figure 2. Synthesis reaction of poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) Block Copolymer

RESULT AND DISCUSSION

Condensation Polymerization of Lactic Acid

Synthesis of Poly (lactic acid) Polymer by Condensation Polymerization

In condensation polymerization, functional monomer groups have proven their success (Mallakpour and Hatami 2017). Polymers with certain molecular weight and low polydispersity indices (PDI) can be given condensation of a wide variety of monomers under mild conditions (Lynd, Meuler, and Hillmyer 2008). In this study, two sets of polymerization of polylactic acid were introduced and the polymerization of ϵ -CL was carried out in two sets. The silicone oil bath was carried out at 140°C as described in the experiment. Synthesis-related reaction conditions and GPC results are given in Table 1.

The amount of PLA and ϵ -CL were fixed and the polymerization time was changed. When the amount of polymer (PLA) is increased and the amount of monomer (ϵ -CL) is kept constant, the amount of polymer (PLA) is kept constant and the amount of monomer (ϵ -CL) is increased or the amount of polymer (PLA) and monomer (ϵ -CL) are kept constant. It was. The heterogeneity index of the obtained block copolymers was found to be between 1.55-3.42. The synthesized PLA was found to be 2.27. The molecular weight of PLA was 1448.9 g/mol and the block copolymer of $1728.9\text{-}7471.0\text{ g/mol}$. The fact that the molecular weight of the obtained block copolymers is higher than the PLA used as initiators indicates the synthesis of block copolymers.

Table 1. Reaction conditions and GPC results of synthesis of polylactic acid

80% Lactic acid (g)	SnCl_2 (g)	p-toluene sulfonic acid (g)	Yield (%)	\overline{M}_n (g mol^{-1})	$\overline{M}_w/\overline{M}_n$
50	1.2	1	49.3	1448.8	2.27

FT-IR (KBr): $3647.05\text{-}3511.33\text{ cm}^{-1}$ OH strain vibration, $2998.79\text{-}2879.55\text{ cm}^{-1}$ Aliphatic C-H strain vibration, 1760.99 cm^{-1} C = O tensile

vibration, $1292.30\text{-}1212.58\text{ cm}^{-1}$ COO strain vibration peaks are observed. PLA FT-IR graph is given in figure 3.

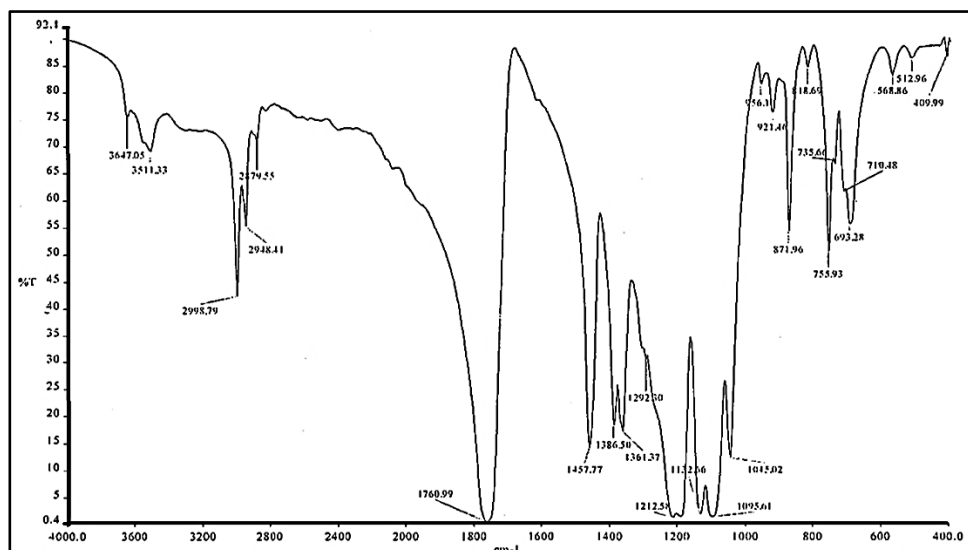


Figure 3. FT-IR spectrum of poly lactic acid (PLA)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): The protons of the $-\text{CH}_3$ group at 1.5 ppm, the protons of the proton groups at 4.3-4.4 ppm, and the proton of the CH

group at 5.1-5.3 ppm are seen. PLA $^1\text{H-NMR}$ graph is given in figure 4.

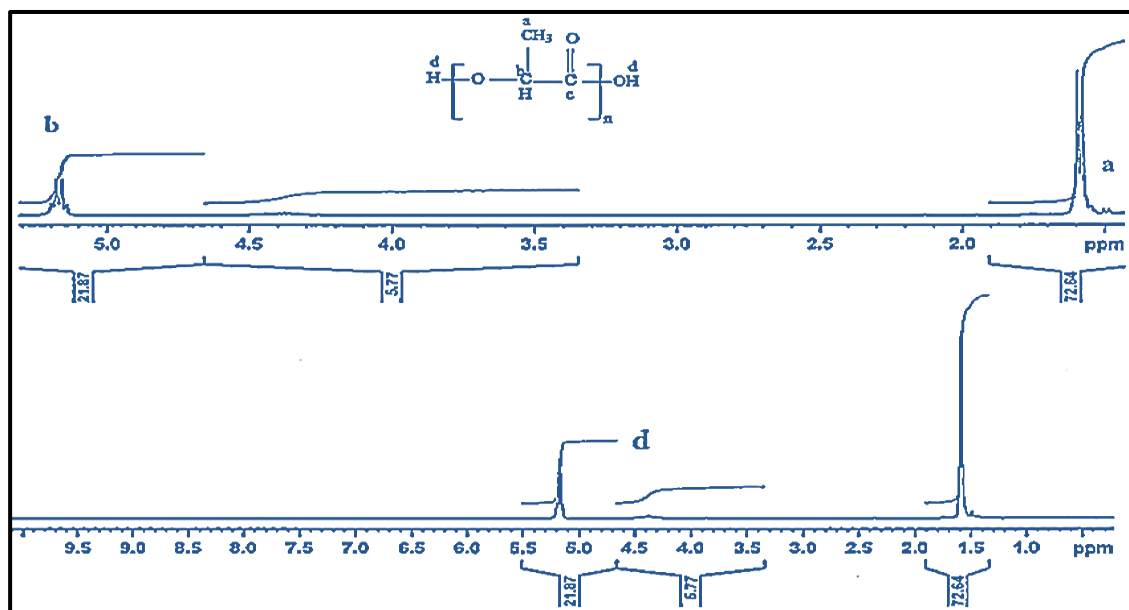


Figure 4. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of poly lactic acid (PLA)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): At 16.62-16.66 ppm, the carbon atom of the $-\text{CH}_3$ group, the carbon atom of the "CH" group at 69.01 ppm, the peaks

of the carbon atom of the "C = O" group at 169.60 ppm. PLA $^{13}\text{C-NMR}$ graph is given in figure 5.

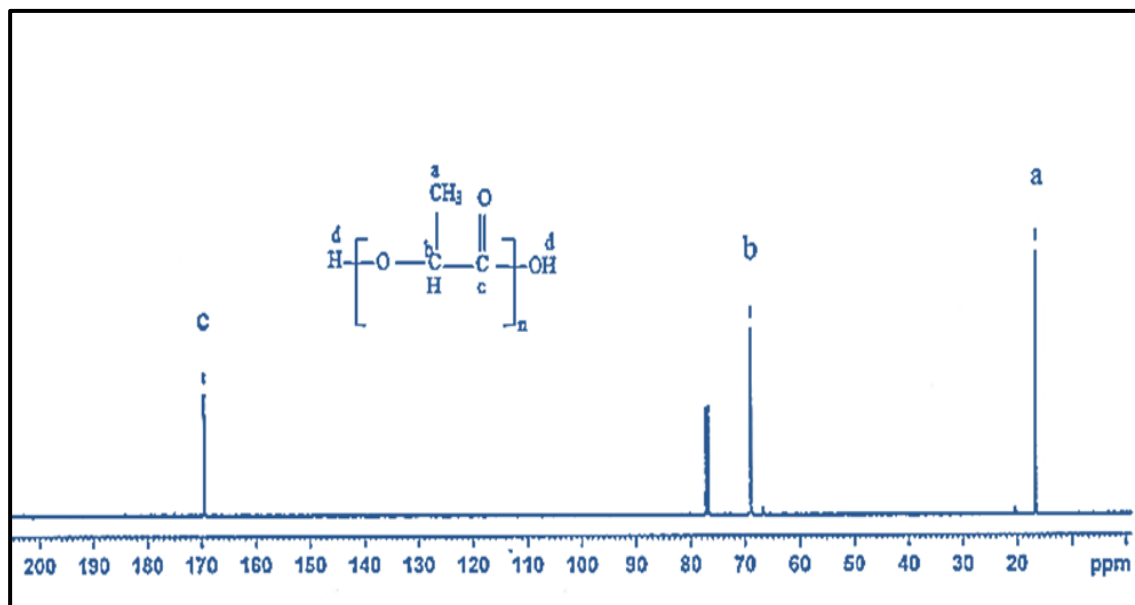


Figure 5. ^{13}C -NMR spectrum of poly lactic acid (PLA)

The reaction conditions and GPC results of the synthesis of poly (lactic acid- b- ϵ -caprolactone) block copolymers are given in

Table 2. Poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) Graphical drawings were drawn with the OriginPro 9 program.

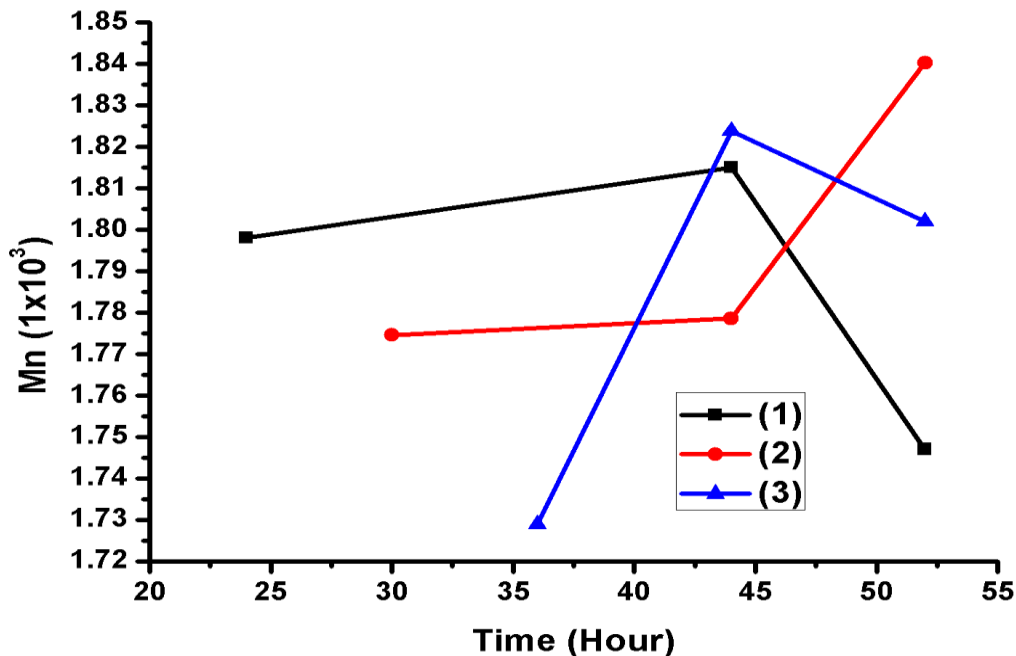
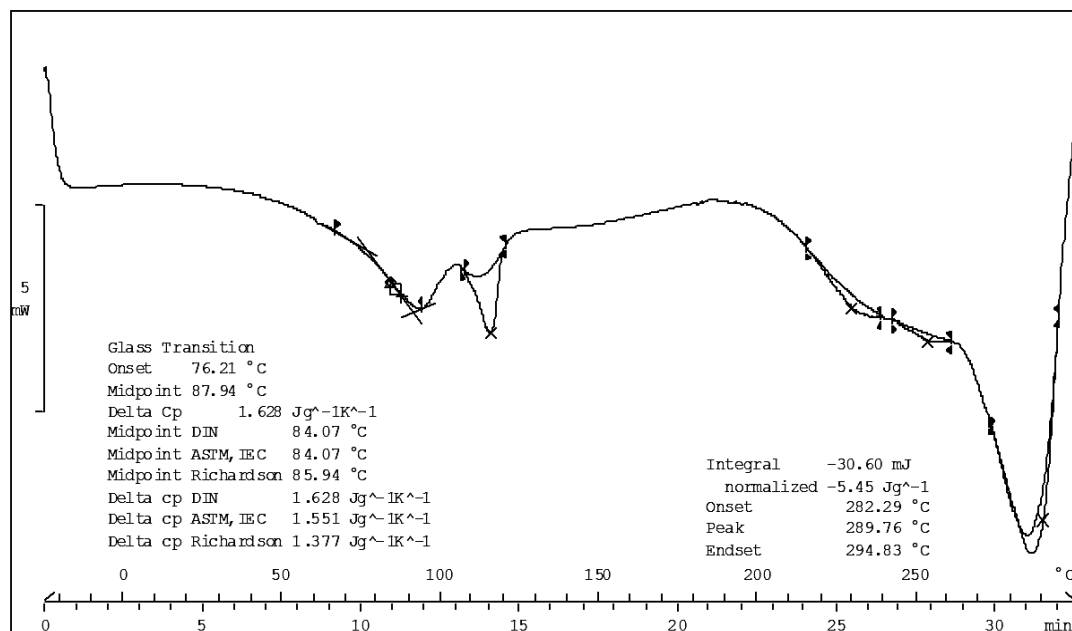


Figure 6. Molecular weight graph of poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) reaction against time

Table 2. Poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) Reaction conditions and GPC results of Block Copolymer synthesis

Exp. No.	Exp. Code	PLA (g)	E-CL (g)	Test time (h)	\overline{M}_n (g mol ⁻¹)	Mw/ \overline{M}_n	Yield (%)
1	A ₁	0.3038	1.0150	44	1815.7	1.67	52
2	B ₁	0.5018	1.0066	52	7471.0	2.38	54
3	C ₁	0.2540	1.0235	24	1798.4	1.99	67
4	A ₂	0.5006	1.2000	44	1774.6	1.94	56
5	B ₂	0.5025	1.2875	52	1840.3	1.88	61
6	C ₂	0.2505	1.0326	30	1774.6	1.72	73
7	A ₃	0.6023	1.0000	44	1823.9	3.42	59
8	B ₃	0.5014	1.5300	52	1802.0	1.92	70
9	C ₃	0.2502	1.0841	36	1728.9	1.70	76
10	B ₄	0.5021	2.7686	52	1753.1	1.55	45

Temperature = 95°C; Toluene = 2 ml; DBTDL; 1 drop; * precipitator (methanol, ml)

**Figure 7.** DSC diagram of poly lactic acid (PLA)

Differential scanning calorimetry based techniques are important when characterizing polymers (Drzeżdżon et al. 2019; Fitzharris, Rosen, and Shofner 2019). In the DSC spectrum of poly (lactic acid), T_g (glass transition temperature) at 76.21°C and T_d (melting temperature) at 115.65°C were seen in Figure 7.

The DSC spectrum of poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) showed T_g (glass transition temperature) at 29.04°C and T_d (melting temperature) at 52.16°C in Figure 8. Differential scanning calorimetry (DSC) and glass transition

temperature (T_g) and melting temperature (T_m) of the obtained polymers were determined. The addition of poly (lactic acid) g e ϵ -CL reduced the T_g and T_d values of the block copolymer of poly (lactic acid). The ratio of the glass transition temperature (T_g) and melting temperature (T_m) of the obtained block copolymer to a value between the glass transition temperature (T_g) and the melting temperature (T_m) of the poly (lactic acid) and ϵ -CL were determined. it is confirmed.

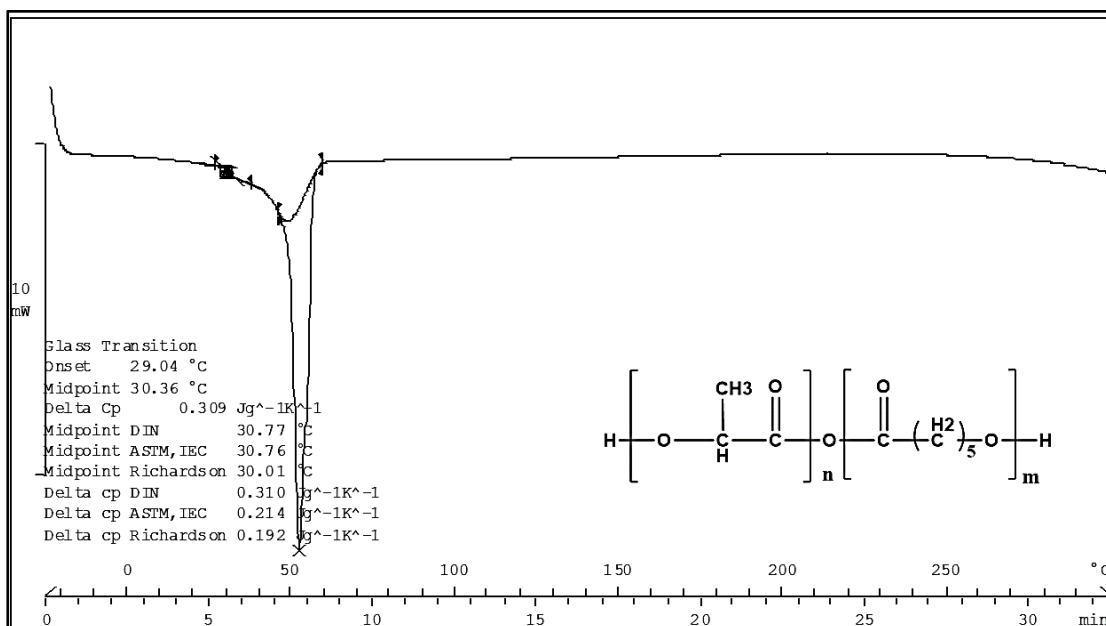


Figure 8. DSC spectrum of poly (lactic acid- b- ϵ -caprolactone) block copolymer

FT-IR (KBr): 3630.25 - 3551.82 cm⁻¹ OH tensile vibration, 2946.97 - 2867.02 cm⁻¹ Aliphatic C-H tensile vibration, 1725.52 cm⁻¹ C = O stress vibration, 1243.62 - 1295.77 cm⁻¹ COO stress vibration peaks are observed.

3439.03 cm⁻¹ C = O overtone band (2x1725.52). The FT-IR graph of the poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) block copolymer is given in figure 9.

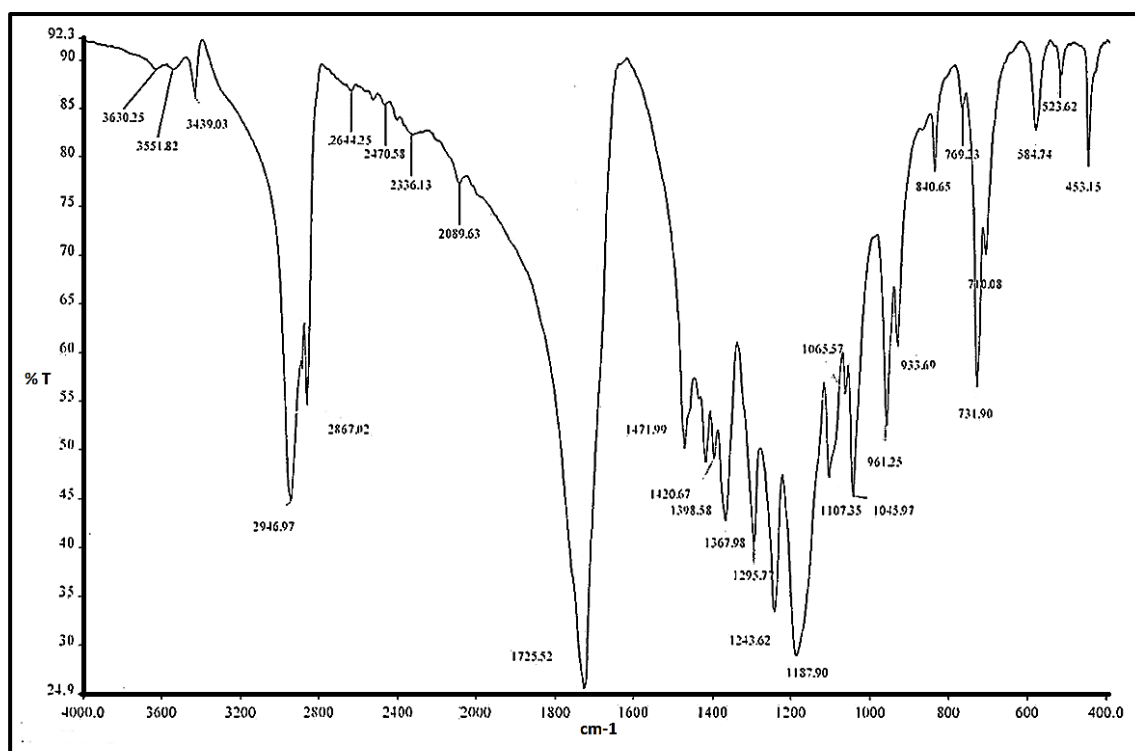


Figure 9. FT-IR spectrum of poly (lactic acid- b- ϵ -caprolactone) block copolymer (B4)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): protons of (a) at 5.1446-5.1619 ppm, protons of (b) at 4.0357-4.0655 ppm, protons of (i) at 2.2774-2.3139 ppm, 1.5588-1.6323 ppm The protons of (k) show

protons of (c) at 1.3590-1.4090 ppm. The $^1\text{H-NMR}$ graph of the poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) block copolymer is given in figure 10.

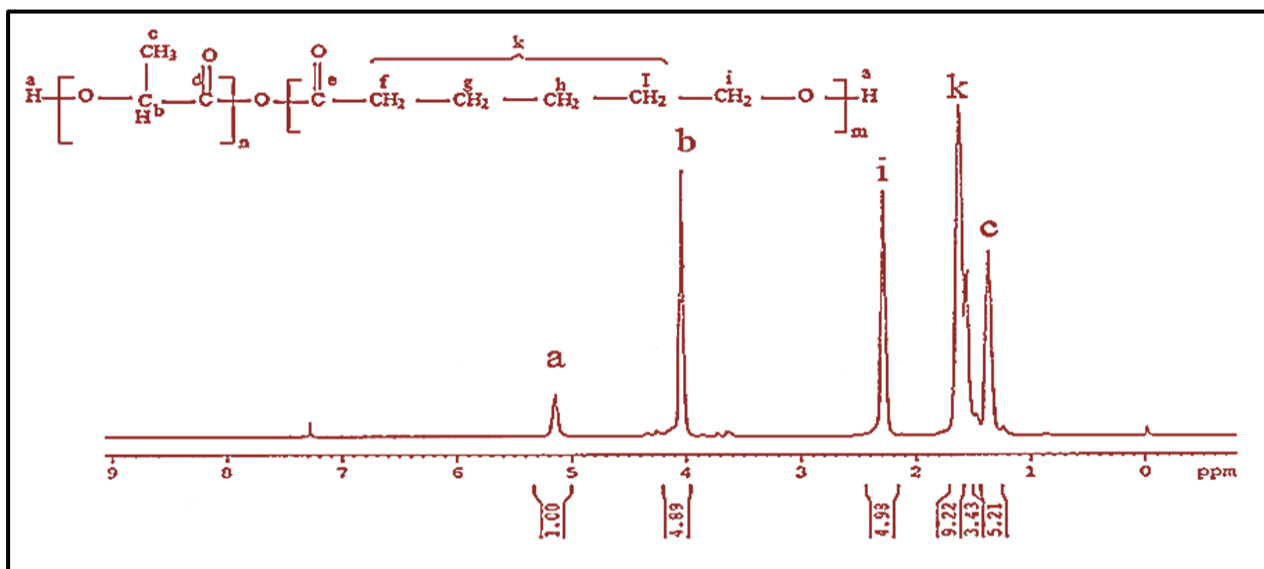


Figure 10. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) block copolymer

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm): 173.52 (carbon of e'), 169.56 (carbon of d), 68.98 (carbon of b), 64.11 (carbon of i), 34.09 (carbon of f), 28.32 (carbon of g), 25.50 (carbon of I), 24.55 (carbon

of h), 16.61 (carbon of c). The $^{13}\text{C-NMR}$ graph of the poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) block copolymer is given in figure 11.

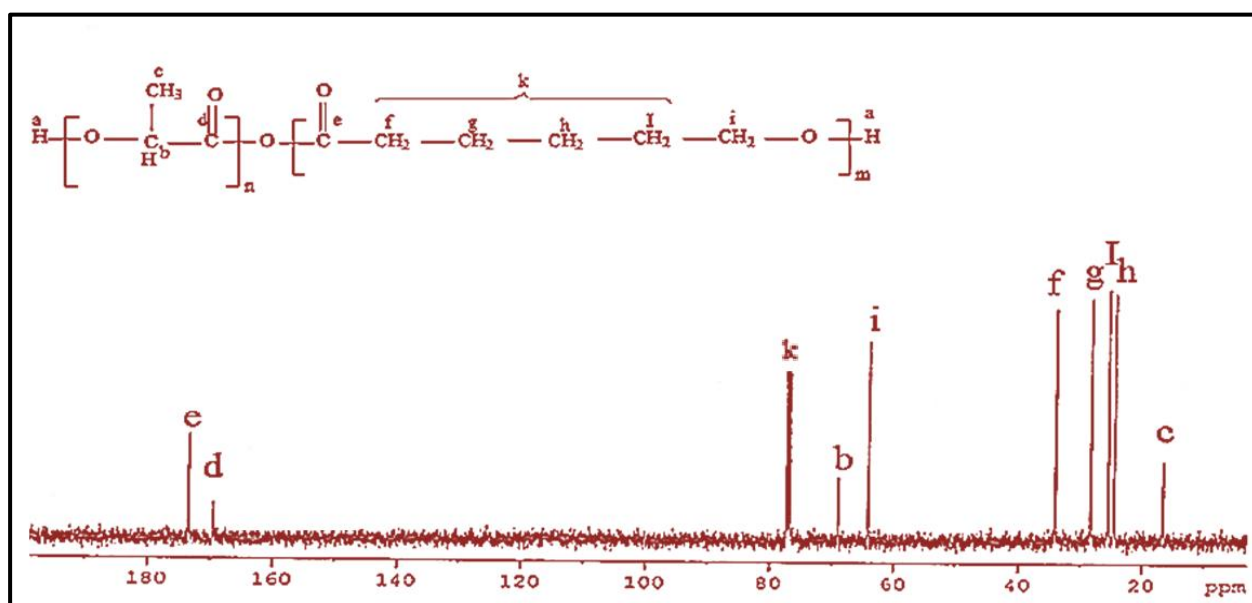


Figure 11. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of poly (lactic acid- b- ϵ -caprolactone) block copolymer

CONCLUSION

In this study, the synthesis of poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) block copolymers was carried out by ring opening polymerization of ϵ -caprolactone of poly lactic acid. Poly lactic acid (PLA) was synthesized by condensation polymerization of lactic acid. Poly (lactic acid-b- ϵ -caprolactone) block copolymer was synthesized by changing various parameters (amount of polymer, amount of monomer and polymerization time). .

The use of biomaterials of bio-origin, biocompatible, and biocompatible, plays an active role in many areas of the world of technology. Particularly, poly (lactic acid) (PLA), which is in the part of biopolymers, has different degradation processes and it increases the usage areas of this polymer, block copolymers and composites. With the new block properties of poly (lactic acid- b- ϵ -caprolactone) block copolymers, medical, environmental, packaging and textiles will increase their importance in many areas.

REFERENCES

- Arijit B, Kunduru KR, Doppalapudi S, Domb AJ, and Khan W, 2016. 'Poly(lactic acid) based hydrogels', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107: 192-205.
- Cama G, Mogosanu DE, Houben A, and Dubruel P, 2017. '3 - Synthetic biodegradable medical polyesters: Poly- ϵ -caprolactone.' in Xiang Zhang (ed.), *Science and Principles of Biodegradable and Bioresorbable Medical Polymers* (Woodhead Publishing).
- Camila G, Dozoretz P, Pedro H, Araújo H, Sandra R, Ferreira S, and Oliveira D 2019. 'N-acetylcysteine side-chain functionalization of poly(globalide-co- ϵ -caprolactone) through thiol-ene reaction', *Materials Science and Engineering: C*, 94: 477-83.
- Castro-Aguirre E, Iñiguez-Franco F, Samsudin H, Fang X, and Auras R, 2016. 'Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107: 333-66.
- Dalgic AD, Deniz A, Karatas A Tezcaner A, and Keskin D, 2019. 'Diatom shell incorporated PHBV/PCL-pullulan co-electrospun scaffold for bone tissue engineering', *Materials Science and Engineering: C*, 100: 735-46.
- Dominik C, Sydow S, Schmidt N, Behrens P, Roger Y, Hoffmann A, Hoheisel AL, Glasmacher B, Hänsch R, and Menzel H, 2018. 'Attachment of nanoparticulate drug-release systems on poly(ϵ -caprolactone) nanofibers via a graftpolymer as interlayer', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 163: 309-20.
- Emily RF, Rosen WD, and Shofner ML, 2019. 'Fast scanning calorimetry for semicrystalline polymers in fused deposition modeling', *Polymer*, 166: 196-205.
- Fan-Long J, Rong-Rong H, and Park SJ, 2019. 'Improvement of thermal behaviors of biodegradable poly(lactic acid) polymer: A review', *Composites Part B: Engineering*, 164: 287-96.
- Joanna D, Jacewicz D, Sielicka A, and Chmurzyński L, 2019. 'Characterization of polymers based on differential scanning calorimetry based techniques', *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 110: 51-56.
- Ivy G, and Chow WS, 2018. 'Antimicrobial poly(lactic acid)/cellulose bionanocomposite for food packaging application: A review', *Food Packaging and Shelf Life*, 17: 150-61.
- Krzysztof M, 2014. 'Characterization of multi-injected poly(ϵ -caprolactone)', *Polymer Testing*, 33: 116-20.

- Kumar KN, Nagar MK, Mudenur C, Kalamdhad A, and Katiyar V, 2019. 'Biodegradation of modified Poly(lactic acid) based biocomposite films under thermophilic composting conditions', *Polymer Testing*.
- Lynd, NA, Meuler AJ, and Hillmyer MA, 2008. 'Polydispersity and block copolymer self-assembly', *Progress in Polymer Science*, 33: 875-93.
- Murphy SH, Marsh JJ, Kelly CA, Leeke GA, and Jenkins MJ, 2017. 'CO₂ assisted blending of poly(lactic acid) and poly(ϵ -caprolactone)', *European Polymer Journal*, 88: 34-43.
- Ningjing W, Guoliang F, Yang Y, Xia M, Yun H, and Wang Q, 2019. 'Fire safety enhancement of a highly efficient flame retardant poly(phenylphosphoryl phenylenediamine) in biodegradable poly(lactic acid)', *Journal of Hazardous Materials*, 363: 1-9.
- Nofar M, Sacligil D, Carreau PJ, Kamal MR, and Heuzey MC, 2019. 'Poly (lactic acid) blends: Processing, properties and applications', *International Journal of Biological Macromolecules*, 125: 307-60.
- Rad P, Mokhtari Z J, and Abbasi M, 2018. 'Fabrication and characterization of PCL/zein/gum arabic electrospun nanocomposite scaffold for skin tissue engineering', *Materials Science and Engineering: C*, 93: 356-66.
- Sajjad S, Huneault MA., Li H, and Park CB, 2012. 'Poly(lactic acid) crystallization', *Progress in Polymer Science*, 37: 1657-77.
- Shadpour M, and Hatami M, 2017. 'Condensation polymer/layered double hydroxide NCs: Preparation, characterization, and utilizations', *European Polymer Journal*, 90: 273-300.
- Sinha VR, Bansal K, Kaushik R, Kumria R, and Trehan A, 2004. 'Poly- ϵ -caprolactone microspheres and nanospheres: an overview', *International Journal of Pharmaceutics*, 278: 1-23.
- Sisson, Adam L., Duygu Ekinci, and Andreas Lendlein. 2013. 'The contemporary role of ϵ -caprolactone chemistry to create advanced polymer architectures', *Polymer*, 54: 4333-50.
- Su-Hee J, Dae-Hoon K, Park DH, Kim OY, and Hwang SH, 2018. 'Construction of sustainable polyurethane-based gel-coats containing poly(ϵ -caprolactone)-grafted lignin and their coating performance', *Progress in Organic Coatings*, 120: 234-39.
- Uruchaya S, Fabiola IF, Auras R, Selke S, Rubino M, and Lim LT, 2018. 'Poly(lactic acid) mass transfer properties', *Progress in Polymer Science*, 86: 85-121.
- Xiansong W, Liu S, Wang Q, Li J, and Wang. G, 2018. 'Synthesis and characterization of poly(ethylene 2,5-furandicarboxylate-co- ϵ -caprolactone) copolyesters', *European Polymer Journal*, 109: 191-97.
- Xiang L, Zhou L, Heng P, Xiao J, Lv J, Zhang Q, Hickey ME, Qin T, and Jinyi W. 2019. 'Lecithin doped electrospun poly(lactic acid)-thermoplastic polyurethane fibers for hepatocyte viability improvement', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 175: 264-71.

Grafen Tabanlı Nanoakışkanların Araç Radyatörü Soğutma Performansı Üzerindeki Etkisinin Deneysel Analizi

Ferhat KILINÇ^{1*}, Ertan BUYRUK¹, Koray KARABULUT²

ÖZET: Bu deneysel çalışmada, araç radyatörüne ait soğutma performansı saf su, grafen oksit (GO)-saf su ve grafen nano ribon (GNR) -saf su nanoakışkanları kullanılarak incelenmiştir. Deneyler 3 farklı akışkan giriş sıcaklığı (36, 40 ve 44 °C) ve 4 farklı debi (0.6, 0.7, 0.8 ve 0.9 m³ h⁻¹) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneysel veriler kullanılarak nanoakışkanlara ait toplam ısı transferi katsayısı değerleri hesaplanmıştır. Araç radyatörü dikdörtgen kesitli bir kanal ile sabit hızda hava kullanılarak soğutulmuştur. Soğutma performansındaki artış, elde edilen deneysel verilere göre saf su ve nanoakışkanlar için toplam ısı transfer katsayıları karşılaştırılarak belirlenmiştir. U değerlerindeki en yüksek ortalama artış oranlarının %0.01 GO-saf su, %0.02 GO-saf su ve %0.01 GNR-saf su nanoakışkanları için sırasıyla %6.9, %32 ve için %18.9 oldukları sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Karbon tabanlı parçacıklar, araç radyatörü, soğutma performansı.

Experimental Analysis of Graphene Based Nanofluids on Vehicle Radiator Cooling Performance

ABSTRACT: In this experimental work, cooling performance of a vehicle radiator by using pure water, graphene oxide-pure water and graphene nano ribbon-pure water nanofluids was investigated. Experiments were performed by employing 3 different fluid inlet temperatures (36, 40 and 44 °C) and 4 different flow rates (0.6, 0.7, 0.8 and 0.9 m³h⁻¹). Overall heat transfer coefficient (U) values were calculated using experimental datas for nanofluids. The vehicle radiator was cooled with air at constant velocity at a duct with rectangular cross-section. Increment in cooling performance was determined comparing U values for pure water and nanofluids according to obtained experimental datas. It was concluded that the highest average increment rates for U values were 6.9%, 32.0% and 18.9% for the 0.01% GO-pure water, 0.02% GO- pure water and 0.01% GNR- pure water nanofluids, respectively.

Key Words: Carbon based nanofluids, vehicle radiator, cooling performance.

¹Ferhat KILINÇ (Orcid ID: 0000-0003-2707-6438), Ertan BUYRUK (Orcid ID: 0000-0002-6539-7614), Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Makine Mühendisliği Bölümü, Sivas, Türkiye

²Koray KARABULUT (Orcid ID: 0000-0001-5680-0988), Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, SMYO Elektrik ve Enerji Bölümü Gaz ve Tesisatı Teknolojisi Programı, Sivas, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ferhat KILINÇ, e-mail: fkilinc@cumhuriyet.edu.tr

GİRİŞ

Yüksek performanslı soğutma, endüstrideki birçok teknolojinin en önemli ihtiyaçlarından biridir. Ancak doğası gereği düşük ısı iletkenlik, yüksek performanslı soğutma için gerekli olan enerji tasarruflu ısı transferi sıvılarının gelişimindeki başlıca kısıtlamadır (Das ve ark., 2008).

Yüksek verimli bir motor otomotiv endüstrisi açısından, sadece performanslı demek değil aynı zamanda daha iyi yakıt ekonomisi ve daha az salınım demektir. Araç radyatörleri otomobillerde bulunan soğutma sistemi elemanlarının en önemlilerinden biridir. Araç radyatörleri kompakt tip ısı eşanjörlerindedir. Radyatörlerin soğutma oranını artıran yaklaşımlardan biri kanatçıklar eklemektir. Bu durum daha fazla ısı transfer alanı sağlar ve hava taşınım ısı transfer katsayısını artırır. Bununla birlikte kanatçıklar ve mikrokanallar kullanarak soğutma oranını artırmak gibi geleneksel yaklaşımlar artık sınırlarına ulaşmışlardır (Kulkarni ve ark., 2008; Canbolat ve ark., 2014).

Nanoakışkanın genel olarak nanoparçacıkların bir taban akışkana süspansiyonuna denilmektedir. 100 nm ve daha küçük boyuttaki metal (Gümüş, bakır, demir, alüminyum, titanyum gibi), metal oksit (CuO, SiC, TiO₂ gibi) ya da karbon nanotüpler gibi metalik olmayan maddeler, Newton kuralına uyan akışkanlar içerisine düşük hacimsel ya da kütleli konsantrasyonlarda eklenmesiyle oluşturulurlar ve geleneksel ısı transferi akışkanlarından daha fazla ısı iletkenlik değerlerine sahiptirler. Bunun yanında çok daha iyi bir dağılım ve ısı taşınım katsayısı sağlanırken, pompalama gücünde küçük bir artış meydana getirmektedirler (Hong ve ark., 2006; Jang ve ark., 2007; Hwan ve ark., 2008).

Yapılan bir çok deneysel çalışmada metal nanoparçacık süspansiyon edilerek elde edilen nanoakışkanlar kullanılmış ve ısı değiştiricilerindeki ısı transferi performansı araştırılmıştır. Metal oksitlerle araç radyatörü

başlığı altında da benzer çalışmalar yapılmıştır. Ancak grafen tabanlı nanoakışkan kullanılarak yapılmış deneysel çalışma sayısı çok kısıtlı olup araç radyatöründe kullanımı yok denecek kadar azdır.

Alümina nanoakışkanının (Al₂O₃/su) hava soğutmalı ısı değiştiricisinde ısı dağılımına uygunluğunu incelemişlerdir. En yüksek ısı transferi artışı en fazla kütleli fraksiyon (%1.5) ve düşük nanoakışkan sıcaklığında (30 °C) %40 olmuştur (Hung ve ark., 2012). Bakır bir boruda gerçekleştirilen deneysel çalışmada %0.01 hacimde MWCNT-su nanoakışkanının hacimsel debinin etkilerini ve taşınım ısı transferi artışında ısı akışı araştırmışlardır. Reynolds sayısının 2753 olduğu durumda taban akışkanına kıyasla en yüksek ısı akışı için ısı taşınım katsayısı değerinde yüzde yirmilik artış hesaplamışlardır (Karabulut ve ark., 2015). Al₂O₃ ve TiO₂ nanoparçacıklarla bir motosiklet radyatörüyle deneysel bir çalışma yapmışlardır. Yapılan deneyler sonucunda etilen glikol su karışımı ile karşılaştırıldığında viskozite %30.4, özgül ısı %3.2 ayrıca ısı iletkenlik ise %39.7 hepsi için en yüksek oranları olarak hesaplanmıştır (Nieh ve ark., 2014). Deneysel çalışmada su taban akışkanı için bakır ve alüminyum nanoparçacıklı oksit nanoakışkanları ile otomobil radyatörünün ısı performansını incelemişlerdir. Yüzdesel olarak %0.1 hacimsel oranlarda her iki nanoakışkanın da saf suya kıyasla daha fazla performans iyileşmesi gösterdiğini sonucuna varılmıştır (Naik ve ark., 2016). Otomobil radyatöründe ısı transferi performansını bakır oksit ve demir oksit nanoakışkanları için araştırmışlardır. Akışkanın sıcaklığı radyatör girişinde düşürüldüğünde toplam ısı aktarım katsayısında artış olduğu, debilerdeki artışın (sıvı ve hava için) toplam ısı aktarım katsayısını artış olduğu, nanopartikül oranındaki artışın Fe₂O₃/su nanoakışkanı için toplam ısı aktarım katsayısını artırdığı sonuçları elde edilmiştir (Peyghambarzadeh ve ark., 2013).

Yapılan bu deneysel çalışmada, araç radyatörüne ait soğutma performansı değişimi saf su ve grafen bazlı (GO ve GNR) nanoakışkanlar için radyatör girişinde farklı akışkan sıcaklıkları ve debilerinde incelenmiştir. Toplam ısı transferi katsayısı, %0.01 ve 0.02 hacimsel konsantrasyonlardaki GO-saf su ve GNR nanoakışkanları için elde edilen sonuçlar kullanılarak hesaplanmıştır. Deneysel sonuçlar elde edilen veriler kullanılarak toplam ısı transfer katsayıları, nanoakışkanlar için saf suyla karşılaştırılıp soğutma performansındaki artışın miktarı belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Nanoakışkanın Hazırlanması

Nanoakışkanların sentezlenmesi işlemi Sivas Cumhuriyet Üniversitesi'ne ait Nanoteknoloji Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir. Nanoparçacık olarak grafen ve taban akışkanı olarak saf su kullanılarak nanoakışkanlar hazırlanmıştır.

Karbon allotropu ve bal peteği örgülü bir yapı olan grafen, tek düzlemde iki boyutlu ve bir atom kalınlığındadır (Singh ve ark., 2012). Grafen bu yapısı sayesinde olağanüstü mekanik, ısı ve elektriksel özellikler göstermektedir ve bu nedenle çoğu araştırmacının ilgisini çekmiştir (Novoselov ve ark., 2005). Tek tabakalı grafen nanotabakasının oda sıcaklığındaki ısı iletkenliği $5000 \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ve yüzey alanı $2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ dir (Balandin ve ark., 2008).

$$\frac{V_p}{V_{nf}} = \frac{V_p}{V_f + V_p} = \frac{\frac{m_p}{\rho_p}}{\frac{m_p}{\rho_p} + \frac{m_f}{\rho_f}} = \frac{m_p \rho_f}{m_p \rho_f + m_f \rho_p} \quad (1)$$

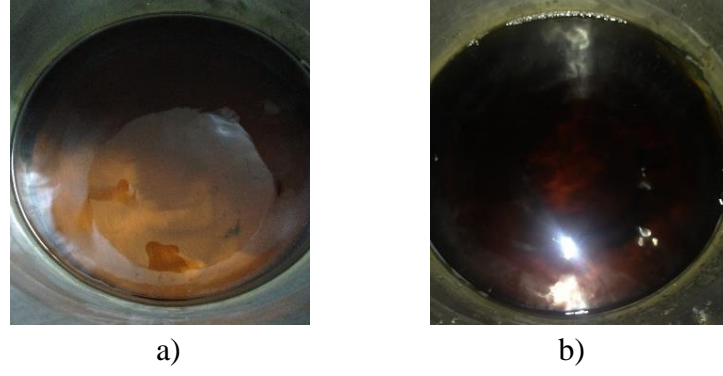
Eşitlik 1.' de gösterilen ρ_f ve ρ_p taban akışkanının ve nanoparçacığın yoğunlukları, m_p ve m_f nanoparçacığın ve taban akışkanın kütlesidir.

Deneysel öncesi ve tamamlandıktan sonraki sistem tankında bulunan grafen oksite ait

Nanoakışkanı hazırlamak için uygulanan rutin işlemler mevcuttur. Grafen tabanlı nanoakışkanlar sentezlenirken çeşitli asitler ve kimyasallarla işleme tabi tutulmuştur. Asit ve kimyasal ayrıştırma için saf su ile yıkama işlemi yapılarak sonrasında fırında kurutma işlemine geçilmiş ve grafen oksit nanoparçacıkları elde edilmiştir (Hummers ve ark., 1958; Hajjar ve ark., 2014). Grafenin karbon nanotüplerden elde edilmiş hali olarak adlandırılan Ribon iki boyutlu düzlem şeklindeki yapraklar olup, silindirik şeklindeki karbon nanotüplerin uzunlamasına açılarak üretilmektedir (Eravcu, 2016).

Deneysel öncesinde hazırlanmak istenilen konsantrasyona göre grafen parçacıkları, AXIS marka terazi (0.1 mg hassasiyetli) ile tartılmıştır. Bu işlem sonrasında kütle oranı değerlerinin hacimsel oranlara çevrilmesi için Eşitlik 1. kullanılmıştır. %0.01 konsantrasyonda toplam 8 L nanoakışkan elde etmek için 4 L saf suya 0.4 gr grafen olacak şekilde iki grup halinde hazırlanmıştır. Nanoakışkanlarda bulunan nanoparçacıkların kararlılığını artırmak ve topaklaşmasını önlemek amacıyla JEIOTECH marka 230 W'lık maksimum güce ve 50 Hz'lik frekansa sahip ultrasonifikatör cihazında 4-8 saatlik süreyle sonifikasyon işlemine tabi tutulmuştur (Kılınç, 2015). Tüm işlemler sonrasında siyah mürekkep görünümünde homojen bir süspansiyon elde edilmiştir (Şekil 1.).

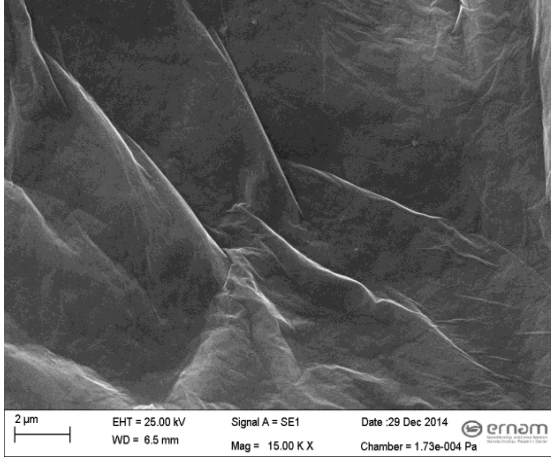
görseller Şekil 1a ve Şekil 1b' de verilmiştir. Görsellerden de fark edilebileceği gibi deneyler esnasında oksitlenme gerçekleşmiş ve nanoakışkanlar daha koyu bir renk almıştır. GNR nanoakışkanı için de aynı durum olduğundan görseller verilmemiştir.



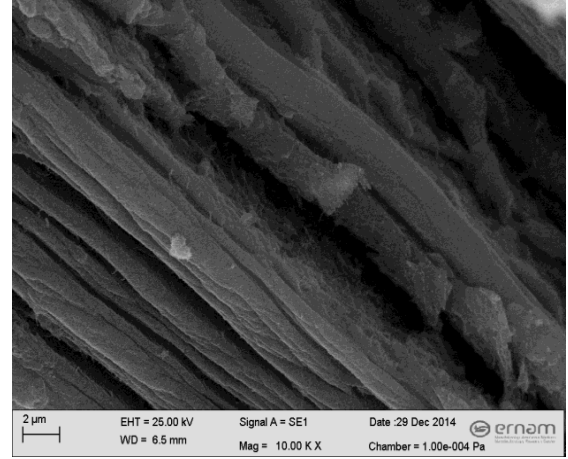
Şekil 1. GO nanoakışkanına ait görseller a) deneyden önce b) deneyden sonra

Deneysel olarak kullanılan ve iyileştirilmiş Hummers metodu ile sentezlenen grafen oksit nanoparçacıklarına ait SEM görüntüsü Şekil 2a'da ve iyileştirilmiş Hummers metodu uygulanarak

çok duvarlı karbon nanotüplerin boylamasına açılması ile üretilen grafen nano ribon nanoparçacıklarına ait SEM görüntüsü Şekil 2b'de gösterilmektedir.



a)



b)

Şekil 2. a) Grafen oksit nanoparçacıklarının b) Grafen nano ribon (Karbon nanotüp nanoşeritler) SEM görüntüleri

Nanoakışkanların Termofiziksel Özellikleri

Nanoakışkanlara ait reolojik özelliklerin analizi gerilim kontrollü reometre (Malvern Kinexus Pro marka) ile yapılmıştır. Araştırmalarda çoğunlukla tercih edilen sıcak tel yöntemi ile deneysel olarak ısı iletkenlik ölçer cihazı (Decagon Devices KD2 Pro marka) kullanılarak ısı iletkenlik ölçümü deneysel olarak yapılmıştır. Yoğunluk ölçümü ise yine deneysel olarak yoğunluk ölçer cihazı (Anton-Paar DMA

4200) kullanılarak yapılmıştır. Nanoakışkanın özgül ısı değerleri analitik modeller kullanılarak belirlenmiştir (Pak ve Cho, 1998);

$$c_{nf} = \phi c_p + (1 - \phi) c_{bf} \quad (2)$$

Eşitlik 2' de gösterilen alt indisler sırasıyla nf, p ve bf nanoakışkan, parçacık ve taban akışkan anlamındadır. Saf su ve grafen tabanlı nanoakışkanlara ait ısı özellikler Tablo 1' de gösterilmektedir.

Tablo 1. Akışkanlara ait ısıl termofiziksel özelliklerin farklı sıcaklıklardaki değerleri

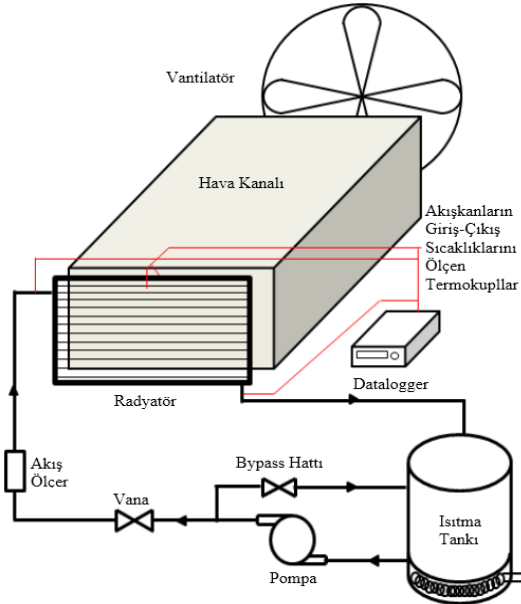
Akışkan	k ($Wm^{-1}K^{-1}$)	ρ ($kg\ m^{-3}$)	c_p ($Jk\ g^{-1}K^{-1}$)	μ ($kg\ m^{-1}s^{-1}$)
Saf Su (36 °C)	0.6246	992.0	4179	707×10^{-6}
Saf Su (40 °C)	0.6310	992.0	4179	653×10^{-6}
Saf Su (44 °C)	0.6358	992.0	4179	607×10^{-6}
%0.01 GO (35 °C)	0.6696	994.6	4179	1000×10^{-6}
%0.02 GO (35 °C)	0.6780	994.6	4179	1060×10^{-6}
%0.02GNR (35 °C)	0.7100	994.5	4179	1000×10^{-6}

Deney Sistemi ve Sistem Kalibrasyonu

Aşağıda şematik hali ve fotoğrafı verilen deney sistemi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Makine Mühendisliği Bölümü'nde bulunmakta olup yaklaşık $289\ m^3$ ($11m \times 7.5m \times 3.5m$) hacme sahip bir laboratuarda kurulmuştur (Şekil 3.).

Paslanmaz çelikten imal edilen ısıtma tankı, doğru akım güç kaynağına sahip dimmer

ile kontrol edilebilen elektrikli bir ısıtıcı (2500 W) ile ısıtılmakta olup, yaklaşık olarak 25 L (30 cm çap ve 35 cm yükseklik) hacme sahiptir. Analizi yapılan araç radyatörü, kıvrımlı kanatçıklı, stadyum kesitli ve 36 adet yatay tüpten oluşan çapraz akışlı bir ısı değiştiricisidir. Deneyler tank hacminin yaklaşık üçte birine denk (8 L) nanoakışkanlar kullanılarak gerçekleştirilmektedir.

**Şekil 3.** Çalışmada kullanılan deneysel sistem

Tank/radyatör arasındaki gidiş-dönüş hattı 1" çapındaki plastik borulardan oluşmaktadır. Sirkülasyon pompası (Grundfos Alpha2 25-60 180) frekans konvertörlü, 0 ile $+110\ ^\circ C$ sıcaklık

aralığında çalışabilen, $2.7\ m^3\ h^{-1}$ maksimum debili, 10 bar basınca dayanabilen ve basma yüksekliği 6 m olup, üç farklı güçte çalışabilmektedir. Akışkan debileri hem pompa

hem de tesisat mevcut olan küresel vana ile değiştirilebilmektedir. Debi ölçümleri, 80 °C sıcaklığa dayanabilen, 10 bar basınca ve 0.01 L dk⁻¹ hassasiyette ($\pm\%2$ doğruluğa sahip) ayarlanabilen, bir akış ölçer (Kobold MIK-5VA30KE14R) ile ölçülmektedir. Radyatörün soğutulması 2.5 m uzunluğa sahip dikdörtgen kesitli (40x63 cm) paslanmaz çelik hava kanalı içerisinden bir fan (Dündar SV 60 (24'') 1350 rpm) ile üzerine hava gönderilerek

gerçekleştirilmiştir. Soğutma havasının giriş-çıkış sıcaklıkları 2 adet K tipi, nanoakışkanın giriş-çıkış sıcaklıkları boru içine daldırılarak 2 adet J tipi ve araç radyatörünün yüzey sıcaklıkları ise farklı noktadaki 7 adet J tipi ısı eleman çifti kullanılarak, veri toplayıcı (Agilent Technologies 34970A) ile kayıt altına alınmıştır. Deneyselerde kullanılan araç radyatörünün boyutları aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir (Tablo 2. ve Tablo 3.).

Tablo 2. Araç radyatörünün boyutları nanoakışkan tarafı)

Boyut	Sembol	Değer
Radyatör uzunluğu	L_{rad}	0.66 m
Radyatör yüksekliği	H_{rad}	0.44 m
Radyatör genişliği	W_{rad}	0.026
Tüp uzunluğu	L_t	0.0621 m
Tüp yüksekliği	H_t	0.0021 m
Tüp genişliği	W_t	0.0260 m
Tüp sayısı	-	36
Tüp hidrolik çapı	d_h	0,00395 m
Toplam tüp alanı	A_i	1,214 m ²

Tablo 3. Araç radyatörünün boyutları (su- (hava tarafı)

Boyut	Sembol	Değer
Kanatçık uzunluğu	L_f	0.009 m
Kanatçık yüksekliği	H_f	0.001 m
Kanatçık genişliği	W_f	0.026 m
Her kolondaki kanal sayısı	-	287
Toplam kanal sayısı	-	10619
Toplam tüp alanı	A_o	6,74 m ²

Deney sisteminin hassasiyeti ve güvenilirliğinden emin olana kadar saf su kullanılarak farklı akışkan sıcaklıkları ve debilerinde deneyler tekrarlanmıştır. Elde edilen verilerden deneysel sistemin hassas ve güvenilir olduğundan emin olunması neticesinde nanoakışkanlar ile deneyler yapılmaya başlanmıştır. Deneysel verilerin kayıt altına alınma işlemi için sistem dengeye gelmesi beklenmiştir. Sistemin dengeye ulaşması sonrasında sonra toplam 10 dakika boyunca (20 saniyede bir ölçüm) kaydedilerek ve hesaplamalarda bu verilerin son 10 tanesinin ortalaması kullanılmıştır.

Belirsizlik Analizi

Belirsizlik analizi ölçümlerdeki hataların hesaplanmasıyla elde edilmektedir. Reynolds sayısının belirsizlik aralığı hacimsel debi ve boruların hidrolik çap ölçümlerindeki hatalardan kaynaklanırken, toplam ısı transfer

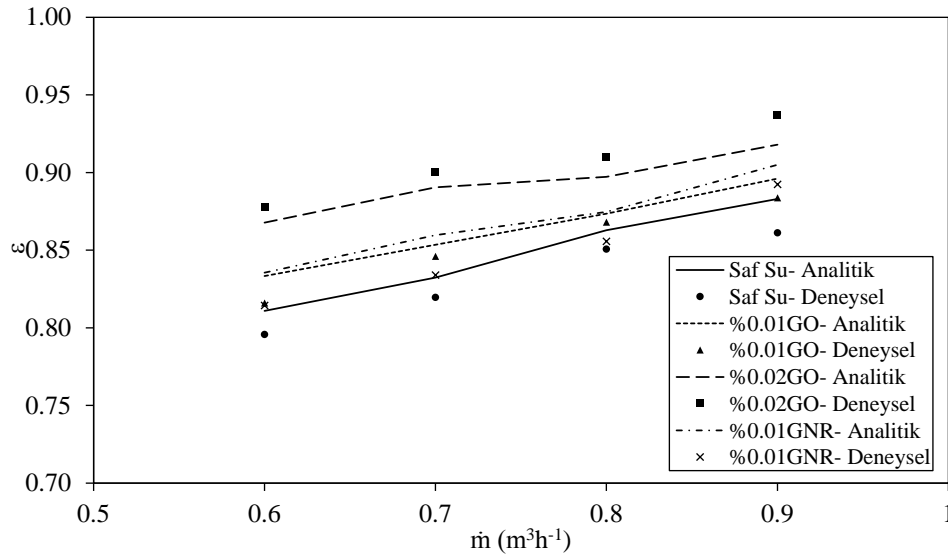
katsayısındaki hata ise hacimsel debi, hidrolik çap ve sıcaklık ölçümlerindeki hatalara bağlıdır. Belirsizlik analizine göre nanoakışkan tarafındaki Re sayısındaki belirsizlik $\pm\%2.65$, toplam ısı transfer katsayısındaki belirsizlik ise $\pm\%7.39$ olarak hesaplanmıştır (Holman, 2001).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Gerçekleştirilen deneysel çalışmada, öncelikle saf suyla deneyler yapılmış, sonrasında farklı hacimsel konsantrasyonlarda grafen tabanlı nanoakışkanlar kullanılmıştır. Farklı sıcaklıklar ve debilerde gerçekleştirilen deneylerden elde edilen veriler neticesinde toplam ısı transferi katsayısı, U hesaplanarak sisteme ait soğutma performansı grafikleri elde edilmiştir. İlk olarak grafen tabanlı nanoakışkanlar ve saf suya ait etkenlik ve radyatör çıkış sıcaklıkları değerleri gösterilmiştir.

Deneysel veriler kullanılarak etkenlik değerleri hesaplanmış ve 36 °C sıcaklık için karşılaştırmalı olarak aşağıda verilmiştir (Şekil 4.). Grafik sonuçlarında analitik ve deneysel verilerin uyumlu olduğu açıkça görülmektedir. Diğer sıcaklıklar için de (40 ve 44 °C) akışkanların benzer davranış sergilediği görülmüş olup ayrıca grafikleri verilmemiştir. Hacimce %0.01 GO-su ve GNR-su nanoakışkanlarının analitik etkenlik değerleri deneysel değerlerden daha yüksek iken, hacimce

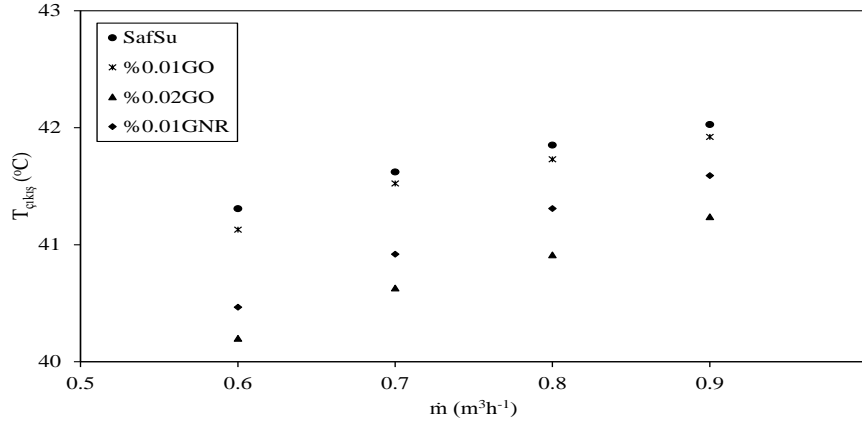
%0.02 GO-su nanoakışkanının deneysel etkenlik değerlerinin sayısal değerlerden daha yüksek çıktığı görülmektedir. Saf suyla kıyaslandığında ise tüm nanoakışkanlar için bütün sıcaklık ve debilerde nanoakışkanlara ait sayısal ve deneysel etkenlik değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Verilen sıcaklık için deneysel etkenlik değerleri en düşük 0.80 ile saf suya ve en yüksek 0.94 ile %0.02 GO-su nanoakışkanına ait olarak elde edilmektedir.



Şekil 4. Araç radyatörüne ait etkenlik değerlerinin 36 °C sıcaklığında saf su, GO ve GNR için karşılaştırılması

Giriş sıcaklıkları 44 °C olan nanoakışkanların konsantrasyonunun artırılması ile çıkış sıcaklığı değişimine ait değerler Şekil 5'te gösterilmektedir. Hacimsel konsantrasyonu %0.01 GO nanoakışkanı için çıkış sıcaklığındaki fark (0.2 °C) az olsa da gerek %0.02 GO bu fark (1.1 °C) gerekse %0.02 GNR nanoakışkanı için bu fark (0.8 °C) belirgin olarak görülmektedir.

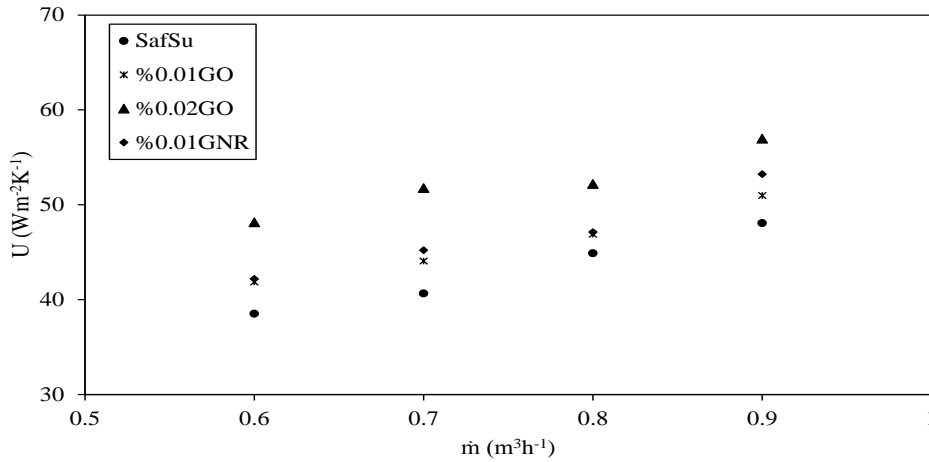
Her üç nanoakışkan için debinin artmasıyla sıcaklık farkında azalma olduğu görülmektedir. Ayrıca nanoparçacık konsantrasyonunun artırılması akışkan çıkış sıcaklığını azaltmaktadır. Çıkış sıcaklıklarındaki bu değişim oranı, araç radyatörünün soğutma performansındaki iyileşmenin bir göstergesi olarak yorumlanabilir.



Şekil 5. Araç radyatörünün 44 °C sıcaklıktaki soğutma performansının saf su, GO ve GNR için karşılaştırılması

Şekil 6' da toplam ısı transferi katsayısındaki artış miktarı 36 °C akışkan giriş sıcaklığı için gösterilmiştir. Grafen konsantrasyonunun artmasıyla ısı transferi katsayısında artış olduğu görülmektedir. Saf suyla kıyaslandığında %0.01 GO, %0.02 GO ve %0.01 GNR nanoakışkanlarında U değeri için

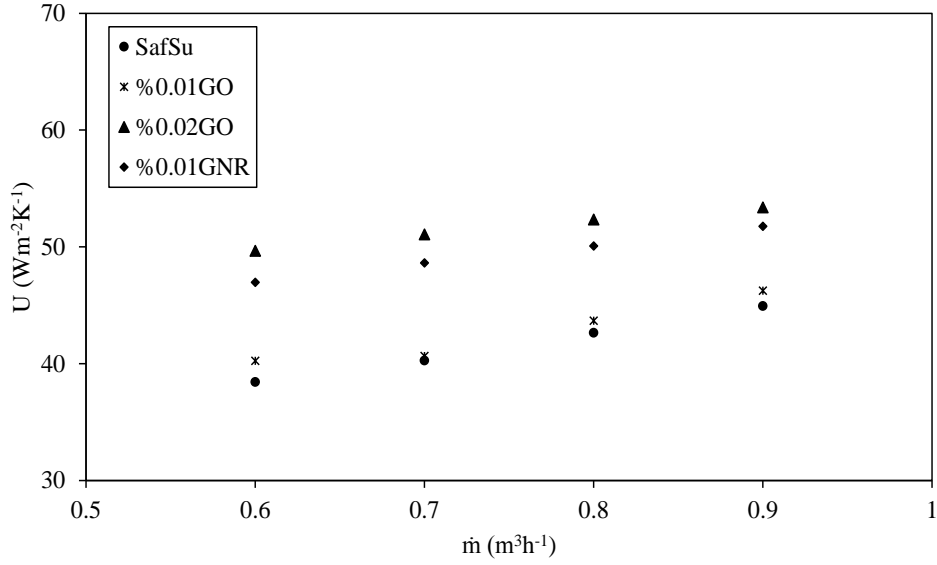
elde edilen en fazla artış miktarları sırasıyla %8.7 (0.6 m³ h⁻¹ debide) , %27.3 (0.7 m³ h⁻¹ debide) ve %11.3 (0.7 m³ h⁻¹ debide) olarak hesaplanmıştır. Tüm debilerde U değerindeki ortalama artma miktarları %6.9 (%0.01 GO), %21.8 (%0.02 GO) ve %9.1 (%0.01 GNR) olarak elde edilmiştir.



Şekil 6. U değerinin 36 °C sıcaklıkta saf su, GO ve GNR için karşılaştırılması

Toplam ısı transferi katsayısındaki artış miktarı 40 °C sıcaklık için Şekil 7' de gösterilmektedir. Artış miktarı %0.01 GO nanoakışkanı için en yüksek %4.7, %0.02 GO nanoakışkanı için önemli bir artışla en yüksek %29.2 ve %0.01 GNR nanoakışkanı için ise %22.2 olarak elde edilmektedir. Akışkan debisi

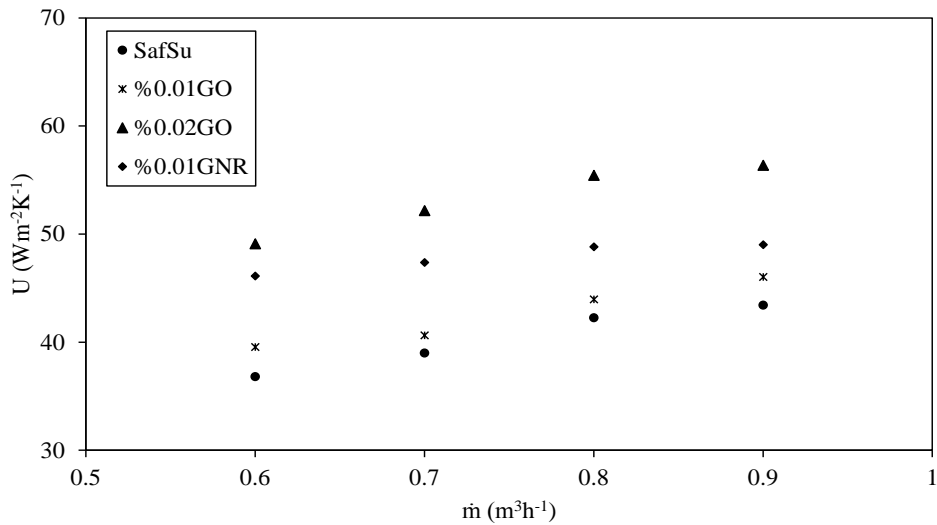
artıkça toplam ısı transferi katsayısındaki artış miktarı azalmakta ve bu durum %0.02 GO nanoakışkanı için belirgin olarak görülmektedir. Verilen sıcaklıkta U değerinde ortalama artma miktarları ise %3.4 (%0.01 GO), %24.4 (%0.02 GO) ve %18.9 (%0.01 GNR)'dür.



Şekil 7. U değerinin 40 °C sıcaklıkta saf su, GO ve GNR için karşılaştırılması

Toplam ısı transferi katsayısındaki artış miktarı 44 °C sıcaklık için Şekil 8'de gösterilmiştir. Diğer sıcaklıklarda gösterilen değerlere kıyasla, toplam ısı transferi katsayısındaki artış oranı 44 °C sıcaklıkta %0.01 GO nanoakışkanı haricinde daha belirgin olarak görülmektedir. Toplam ısı transferi katsayısı için %0.01 GO nanoakışkanında %7.9, %0.02 GO nanoakışkanında %33.9 ve %0.01 GNR nanoakışkanında %25.3 en yüksek artış miktarı olarak gerçekleşmiştir. Benzer biçimde toplam

ısı transferi katsayısındaki ortalama artış miktarı ise %0.01 GO nanoakışkanı için %5.4, %0.02 GO nanoakışkanı için %32.0 ve %0.01 GNR nanoakışkanı için %18.8 olarak hesaplanmıştır. Akışkan sıcaklığının artmasının toplam ısı transferi katsayısı değerinde artış sağladığı farklı akışkan sıcaklıkları için verilen şekillerde görülmektedir. Bu durum nanoakışkanın parçacık konsantrasyonunun artmasıyla da doğru orantılı olarak artmaktadır.



Şekil 8. U değerinin 44 °C sıcaklıkta saf su, GO ve GNR için karşılaştırılması.

SONUÇ

Grafen tabanlı nanoakışkan kullanımının araç radyatörünün soğutma performansına etkisi araştırıldığı bu deneysel çalışmada; hacimce %0.01 ve %0.02 konsantrasyonda nanoakışkanlar saf suyla kıyaslanmıştır. Deneysel sentezlenen GO ve GNR nanoakışkanlarıyla farklı akışkan sıcaklıkları ve debilerinde gerçekleştirilmiştir. Toplam ısı transferi katsayısının akışkan sıcaklığındaki ve akışkan debisindeki artışla azaldığı görülmüştür. Toplam ısı transferi katsayısındaki %0.01 GO nanoakışkanı için en yüksek artış saf suya kıyasla 36 °C sıcaklıkta %7.4, %0.02 GO ve %0.01 GNR nanoakışkanları için en yüksek artışlar sırasıyla 44 °C sıcaklıkta %33.9 ve %25.3 olarak elde edilmiştir. Deneysel sonucunda tüm sıcaklıklar için toplam ısı transferi katsayısındaki ortalama artış, saf suyla kıyaslandığında %0.01 GO için %5.41, %0.02 GO için %26.08 ve %0.01 GNR için %15.62 olarak hesaplanmaktadır.

Literatürde metal nanoparçacık kullanılarak elde edilen nanoakışkanlarla gerçekleştirilmiş bir çok çalışma bulunmaktadır. Metal oksitlerde karşılaşılan sorunların birçoğu grafen tabanlı nanoakışkanlarda görülmemektedir. Gerek metal gerekse grafen nanoparçacık kullanılan nanoakışkanların ısı aktarım performansı konusundaki üstünlükleri özellikle fark edilir olsa da; uzun süreli kullanımlarında karşılaşılabilecek sorunlar henüz anlaşılıp kesin olarak analiz edilememiştir. Sonuçta; U değerlerinde ulaşılan artışların araç radyatörlerinin soğutma performanslarının iyileştirmesine katkı sağlayıp, daha küçük boyutlardaki bileşenlerin aynı oranlardaki ısıyı sistemden atılabileceğini göstermektedir. Bu durum gerek araç gerekse diğer soğutma sistemlerinin boyutlarının küçültülebileceği ve ağırlıklarının azaltılabileceği anlamına gelmektedir. Böylece yeni nesil araçlar tasarım yönünden kısıtlamalar aşarak daha iyi aerodinamik yapılara ve daha az yakıt tüketen

düşük salınımlı çevreci araçlar haline gelebileceklerdir.

TEŞEKKÜR

Bu deneysel çalışmayı M-526 proje numarasıyla Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi desteklemiştir.

KAYNAKLAR

- Balandin AA, Ghosh S, Bao W, Calizo I, Teweldebrhan D, Miao F, Lau CN, 2008. Superior Thermal Conductivity of Single-Layer Graphene. *Nano Letters*, 8 (3): 902-907.
- Canbolat AS, Türkan B, Yamankaradeniz R, Can M, Etemoğlu AB, 2014. Otomobil Radyatörlerinde Boru Sayısının Isıl Performansa ve Etkenliğe Etkisinin İncelenmesi. 7. Otomotiv Teknolojileri Kongresi, 26 – 27 Mayıs 2014, Bursa.
- Das SK, Choi SUS, Yu W, Pradeep T, 2008. *Nanofluids: Science and Technology*. John Wiley&Sons.
- Eravcu F, 2016. Karbon Tabanlı Nanomalzemelerin Sentezi, Karakterizasyonu, Reolojisi, Isıl İletkenliği ve Kararlılığı. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Hajjar Z, Rashidi A, Ghoozati A, 2014. Enhanced Thermal Conductivities of Graphene Oxide Nanofluids. *International Communications In Heat and Mass Transfer*, 57 (2014): 128-131.
- Holman JP, 2001. *Experimental Methods For Engineers*. 7th Edition, Wiley, New York.
- Hong KS, Hong TK, Yang HS, 2006. Thermal conductivity of Fe nanofluids depending on the cluster size of nanoparticles. *Applied Physics Letters*. 88 (7): 1-3.
- Hummers WS, Offeman RE, 1958. Preparation of Graphitic Oxide. *American Chemistry Society*, 80: 13-39.
- Hung YH, Teng TP, Teng TC, Chena JH, 2012. Assessment of heat dissipation performance for nanofluid. *Applied Thermal Engineering*, 32: 132-140.

- Hwan L, KyoSik H, SeokPil J, ByeongHo L, JunHo K, Choi S U S, ChulJin C, 2008. Effective viscosities and thermal conductivities of aqueous nanofluids containing low volume concentrations of Al_2O_3 nanoparticles. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 51 (11-12): 2651-2656.
- Jang SP, Choi SUS, 2007. Effects of various parameters on nanofluid thermal conductivity. *Journal of Heat Transfer*, 129 (5): 617-623.
- Karabulut K, Yapıcı K, Buyruk E, Kılınç F, 2015. Karbon Nanotüp İçeren Nanoakışkanın Isı Transferi Artışı ve Basınç Düşüşü Performansının Deneysel ve Sayısal Olarak İncelenmesi. 20. Ulusal Isı Bilimi ve Tekniği Kongresi, 2-5 Eylül 2015, Balıkesir, s.96-105.
- Kılınç F, 2015. Oto Radyatörlerde Nanoakışkan Kullanılarak Isı Aktarım Performansının Arttırılması. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Kulkarni DP, Vajjha RS, Das DK, Oliva D, 2008. Application of Aluminum Oxide Nanofluids in Diesel Electric Generator as Jacket Water Coolant. *Applied Thermal Engineering*, 28 (14-15): 1774-1781.
- Naik RG, Mohite AS, Dadi JF, 2016. Experimental Evaluation of Heat Transfer Rate in Automobile Cooling System by Using Nanofluids. *Asme International Mechanical Engineering Congress and Exposition*, 13-19 November 2015, Texas, USA, 8A.
- Nieh HM, Teng TP, Yu CC, 2014. Enhanced heat dissipation of a radiator using oxide nanocoolant. *International Journal of Thermal Science*, 77: 252-261.
- Novoselov K, Geim AK, Morozov S, Jiang D, Grigorieva MKI, Dubonos S, Firsov A, 2005. Two-Dimensional Gas of Massless Dirac Fermions in Graphene. *Nature International Journal of Science*, 438 (7065): 197-200.
- Pak BC, Cho YI, 1998. Hydrodynamic and Heat Transfer Study of Dispersed Fluids with Submicron Metallic Oxide Particles. *Experimental Heat Transfer*, 11 (2): 151-170.
- Peyghambarzadeh SM, Hashemabadi SH, Naraki M, Vermahmoudi Y, (2013). Experimental Study of Overall Heat Transfer Coefficient In The Application Of Dilute Nanofluids In The Car Radiator. *Applied Thermal Engineering*, 52 (1): 8-16.
- Singh V, Joung D, Zhai L, Das S, Khondaker KI, Seal S, 2012. Graphene Based Materials: Past, Present and Future. *Progress in Materials Science*, 56 (2011): 1178-1271.

Aralık Nötrosofik Kümeler Arasında Mesafe Tabanlı Benzerlik Ölçüsü ve Çok Kriterli Karar Verme Metodu

Gökçe DİLEK KÜÇÜK^{1*}

ÖZET: Bu makalede, Hamming ve Öklid uzaklığa dayanan ağırlıklı benzerlik ölçüsü, aralık nötrosofik kümelerle genişletilmiştir. Bu ölçü daha önce tek değerli nötrosofik kümeler için kullanılmıştır. Daha sonra kriter ağırlıkları bilinen çok kriterli bir karar verme metodu oluşturulmuştur. Problemden, her bir alternatifin kriterlere göre değerleri aralık nötrosofik sayılarla verilmiştir. Son olarak ideal alternatif ile her bir alternatif arasında ağırlıklı benzerlik ölçüsü kullanılarak alternatifler sıralanmış ve en iyi alternatif belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hamming ve Öklid uzaklık, benzerlik ölçüsü, aralık nötrosofik küme, çok kriterli karar verme

Distance-Based Similarity Measure Between Interval Neutrosophic Sets and Multi Criteria Decision Making Method

ABSTRACT: In this paper, the weighted similarity measure based on Hamming and Euclidean distances is extended to interval neutrosophic sets. It has been previously used for single valued neutrosophic sets. Then a multicriteria decision-making (MCDM) method is established, in which the criterion weights are known. In the problem the values of each alternative corresponding to the criteria are given with interval neutrosophic numbers. Finally, alternatives are ranked by using the weighted similarity measure between the ideal alternative and each alternative, and the best one is determined.

Keywords: Hamming and Euclidean distances, similarity measure, interval neutrosophic set, multi criteria decision-making.

Gökçe DİLEK KÜÇÜK (Orcid ID: 0000-0002-4219-0709), Iğdır Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü, Iğdır, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Gökçe DİLEK KÜÇÜK, e-mail: gokce.kucuk@igdir.edu.tr

Geliş tarihi / *Received:* 06.09.2018
Kabul tarihi / *Accepted:* 13.11.2018

INTRODUCTION

With the proposal of the fuzzy set (FS) theory (Zadeh, 1965), the subject is not based on finding a wide application area but based on the development of the intuitionistic fuzzy set (IFS) (Atanassov, 1986), the interval valued intuitionistic fuzzy set (IVIFS) (Atanassov ve Gargov 1989), the neutrosophic set (NS) (Smarandache, 1999), the interval neutrosophic set (INS) (Wang et al., 2005) and single valued neutrosophic set (SVNS) (Wang et al., 2010). In NS indeterminacy is clearly stated and the set is represented by the truth-membership function $T_A(x)$, an indeterminacy-membership function $I_A(x)$ and a falsity-membership function $F_A(x)$, which are completely independent of each other. This information is important as it carries more information on modeling uncertainties. SVNS and INS are subsets of the NS and INS represents the uncertain, incomplete and inconsistent information better that exists in the real world.

MCDM problems have been researched by many authors and accordingly different methods have been developed to obtain the solution (Broumi et al., 2014a; Broumi et al., 2014b; Broumi et al., 2014c; Broumi et al., 2015; Chi et al., 2013; Deli, 2015; Deli et al., 2018; Ye 2013; Peng et al., 2015; Şahin, 2015; Küçük and Şahin, 2018; Şahin and Küçük, 2018). Hamming, Euclidean distances were defined and a similarity measure was proposed for INSs (Ye, 2014a).

The comparisons and operations between the interval neutrosophic numbers (INNs) and the average operators are included in the study (Zhang et al., 2014). (Ye, 2014b) extended the similarity measure between interval fuzzy values (IFVs) defined by (Xu and Yager, 2009) to SVNSs and also defined the weighted similarity measure for SVNSs.

In this study after defining the NS (Smarandache, 1999), SVNS (Wang ve ark.,

2010) and similarity measures for this set (Ye, 2014 b), Hamming and Euclidean distances definitions are given. Then the distance-based similarity measure defined by (Ye, 2014b) is extended to INSs and some properties of them are presented. Later a MCDM method based on similarity measure has been developed for these sets and the developed method is implemented to a decision making (DM) problem and the alternatives are ranked with the help of the ideal alternative. Finally, a brief summary of the work is presented.

MATERIALS AND METHODS

Some Concepts of SVNSs

Definition 1. (Smarandache, 1999) Let X be a space of points with generic elements in X denoted by x . A neutrosophic set (NS) A in X is characterized by a truth-membership function $T_A(x)$, an indeterminacy-membership function $I_A(x)$ and a falsity-membership function $F_A(x)$. The functions $T_A(x)$, $I_A(x)$ and $F_A(x)$ are real standard/nonstandard subset of $]0, 1^+[$, that is $T_A: X \rightarrow]0, 1^+[$, $I_A: X \rightarrow]0, 1^+[$ and $F_A: X \rightarrow]0, 1^+[$ such that $0 \leq \sup T_A(x) + \sup I_A(x) + \sup F_A(x) \leq 3^+$.

Definition 2. (Wang et al., 2010) Let X be a space of points with generic elements in X denoted by x . A SVNS A in X is characterized by a truth-membership function $T_A(x)$, an indeterminacy-membership function $I_A(x)$ and a falsity-membership function $F_A(x)$. For each point x in X , there are $T_A(x), I_A(x), F_A(x) \in [0, 1]$, and $0 \leq T_A(x) + I_A(x) + F_A(x) \leq 3$. Therefore, a SVNS A can be represented by

$$A = \{\langle x, T_A(x), I_A(x), F_A(x) \rangle : x \in X\},$$

A single valued neutrosophic number (SVNN) is denoted by $a = (T_a, I_a, F_a)$.

Let $A = \{\langle x, T_A(x), I_A(x), F_A(x) \rangle : x \in X\}$ be a SVNS. Then the complement of A is defined as follows:

$$A^c = \{\langle x, F_A(x), 1 - I_A(x), T_A(x) \rangle : x \in X\}.$$

Definition 3. (Ye, 2014b) Let $\alpha_1 = (T_1, I_1, F_1)$ and $\alpha_2 = (T_2, I_2, F_2)$ be SVNNs. Normalized Hamming distance between α_1 and α_2 is defined as follows:

$$d(\alpha_1, \alpha_2) = \frac{1}{3} (|T_1 - T_2| + |I_1 - I_2| + |F_1 - F_2|).$$

Definition 4. (Ye, 2014b) Let $\alpha_1 = (T_1, I_1, F_1)$ and $\alpha_2 = (T_2, I_2, F_2)$ be two SVNNs. Similarity measure between α_1 and α_2 is defined as:

$$S(\alpha_1, \alpha_2) = \begin{cases} 0.5, & \text{if } \alpha = \alpha_2 = \bar{\alpha}_2 \\ \frac{d(\alpha_1, \bar{\alpha}_2)}{d(\alpha_1, \alpha_2) + d(\alpha_1, \bar{\alpha}_2)}, & \text{otherwise} \end{cases}$$

where $\bar{\alpha}_2 = (F_2, 1 - I_2, T_2)$ is the complement of α_2 . $S(\alpha_1, \alpha_2)$ satisfies the following properties:

- 1) $0 \leq S(\alpha_1, \alpha_2) \leq 1$;
- 2) $S(\alpha_1, \alpha_2) = 1 \Leftrightarrow \alpha_1 = \alpha_2$;
- 3) $S(\alpha_1, \alpha_2) = S(\alpha_2, \alpha_1)$;
- 4) If $d(\alpha_1, \alpha_2) = d(\alpha_1, \bar{\alpha}_2)$, then $S(\alpha_1, \alpha_2) = 0.5$;
- 5) If $\alpha_1 = \bar{\alpha}_2$, then $S(\alpha_1, \alpha_2) = 0$.

Definition 5. (Ye, 2014b) Let $A_1 = \{\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n\}$ and $A_2 = \{\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n\}$ be SVNSs. Similarity measure between A_1, A_2 is defined as:

$$S(A_1, A_2) = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \frac{d(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}{d(\alpha_j, \beta_j) + d(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}$$

where α_j and β_j ($j = 1, 2, \dots, n$) are SVNNs. For every j , if $\alpha_j = \beta_j = \bar{\beta}_j$, then

$$\frac{d(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}{d(\alpha_j, \beta_j) + d(\alpha_j, \bar{\beta}_j)} = 0.5.$$

$S(A_1, A_2)$ satisfies following properties:

- 1) $0 \leq S(A_1, A_2) \leq 1$;
- 2) $S(A_1, A_2) = 1 \Leftrightarrow \alpha_1 = \alpha_2$;
- 3) $S(A_1, A_2) = S(A_2, A_1)$;
- 4) If $d(\alpha_j, \beta_j) = d(\alpha_j, \bar{\beta}_j)$, then $S(A_1, A_2) = 0.5$ ($j = 1, 2, \dots, n$).
- 5) If $\alpha_j = \bar{\beta}_j$, then $S(A_1, A_2) = 0$ ($j = 1, 2, \dots, n$).

If the weight w_j ($w_j \in [0, 1], \sum_{j=1}^n w_j = 1$) for each element α_j or β_j ($j = 1, 2, \dots, n$), then the weighted similarity measure between A_1, A_2 is defined as (Ye, 2014b):

$$S_w(A_1, A_2) = \sum_{j=1}^n w_j \frac{d(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}{d(\alpha_j, \beta_j) + d(\alpha_j, \bar{\beta}_j)} \quad (1)$$

(1) satisfies the properties (1-5)

Some Concepts of INs

Definition 6. (Wang et al., 2005) Let X be a discourse universe and $x \in X$. An interval neutrosophic set A in X is defined as follows:

$$A = \{ \langle x, [T^L(x), T^U(x)], [I^L(x), I^U(x)], [F^L(x), F^U(x)] \rangle : x \in X \},$$

where $T_A(x) = [T^L(x), T^U(x)]$, $I_A(x) = [I^L(x), I^U(x)]$, $F_A(x) = [F^L(x), F^U(x)] \subseteq$

$[0,1]$ are truth-membership function, indeterminacy-membership function and falsity-membership functions, respectively and for every $x \in X$, $0 \leq T^U(x) + I^U(x) + F^U(x) \leq 3$.

For the rest of the paper $\alpha = ([T^L, T^U], [I^L, I^U], [F^L, F^U])$ represents interval neutrosophic number (INN).

RESULTS AND DISCUSSION

Similarity Measure Between INS

In this section, the similarity measure defined in (1) is extended to INS.

Definition 7. (Ye 2014 a) Let $\alpha = ([T_1^L, T_1^U], [I_1^L, I_1^U], [F_1^L, F_1^U])$ and

$\beta = ([T_2^L, T_2^U], [I_2^L, I_2^U], [F_2^L, F_2^U])$ be two INNs;

1) Hamming distance between α and β is defined as:

$$D_H(\alpha, \beta) = \frac{1}{6} (|T_1^L - T_2^L| + |T_1^U - T_2^U| + |I_1^L - I_2^L| + |I_1^U - I_2^U| + |F_1^L - F_2^L| + |F_1^U - F_2^U|) \quad (2)$$

2) Euclidean distance between α and β is defined as:

$$D_E(\alpha, \beta) = \sqrt{\frac{1}{6} ((T_1^L - T_2^L)^2 + (T_1^U - T_2^U)^2 + (I_1^L - I_2^L)^2 + (I_1^U - I_2^U)^2 + (F_1^L - F_2^L)^2 + (F_1^U - F_2^U)^2)} \quad (3)$$

Definition 8. (Wang et al., 2005) The complement of an interval neutrosophic set A is denoted by \bar{A} and it is defined by

$$\bar{A} = [F^L(x), F^U(x)], [1 - I^U(x), 1 - I^L(x)], [T^L(x), T^U(x)]$$

for all x in X .

Definition 9. Let $\alpha = ([T_1^L, T_1^U], [I_1^L, I_1^U], [F_1^L, F_1^U])$, $\beta = ([T_2^L, T_2^U], [I_2^L, I_2^U], [F_2^L, F_2^U])$ be two INNs and $\bar{\beta} = ([F_2^L, F_2^U], [1 - I_2^U, 1 - I_2^L], [T_2^L, T_2^U])$ is the complement of β .

The similarity measure between α and β is defined as follows:

$$s(\alpha, \beta) = \begin{cases} 0.5, & \text{if } \alpha = \beta = \bar{\beta}, \\ \frac{D(\alpha, \bar{\beta})}{D(\alpha, \beta) + D(\alpha, \bar{\beta})}, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (4)$$

where D is the distance given in Definition 7.

Theorem 1: $s(\alpha, \beta)$ satisfies following properties:

- 1) $0 \leq s(\alpha, \beta) \leq 1$;
- 2) $s(\alpha, \beta) = 1 \Leftrightarrow \alpha = \beta$;
- 3) $s(\alpha, \beta) = s(\beta, \alpha)$;
- 4) If $D(\alpha, \beta) = D(\alpha, \bar{\beta})$, then $s(\alpha, \beta) = 0.5$.
- 5) If $\alpha = \bar{\beta}$, then $s(\alpha, \beta) = 0$.

Proof.

1. Since $0 \leq D(\alpha, \bar{\beta}) \leq 1$ and $0 \leq D(\alpha, \beta) \leq 1$, it is obtained that $0 \leq \frac{D(\alpha, \bar{\beta})}{D(\alpha, \beta) + D(\alpha, \bar{\beta})} \leq 1$. Hence, $0 \leq s(\alpha, \beta) \leq 1$.
2. Let $s(\alpha, \beta) = 1$. Then $\frac{D(\alpha, \bar{\beta})}{D(\alpha, \beta) + D(\alpha, \bar{\beta})} = 1$. So it is obvious that $D(\alpha, \beta) = 0$. This equality is provided when $\alpha = \beta$.

When $\alpha = \beta$, it is obtained that $D(\alpha, \beta) = 0$. So we can write $\frac{D(\alpha, \bar{\beta})}{D(\alpha, \beta) + D(\alpha, \bar{\beta})} = 1$ and $s(\alpha, \beta) = 1$.

3. To prove $s(\alpha, \beta) = s(\beta, \alpha)$, it is sufficient to show that $D(\alpha, \bar{\beta}) = D(\beta, \bar{\alpha})$ is provided.

$$\begin{aligned} D(\alpha, \bar{\beta}) &= \frac{1}{6} (|T_1^L - F_2^L| + |T_1^U - F_2^U| + |I_1^L - (1 - I_2^U)| + |I_1^U - (1 - I_2^L)| + |F_1^L - T_2^L| + |F_1^U - T_2^U|) \\ &= \frac{1}{6} (|T_2^L - F_1^L| + |T_2^U - F_1^U| + |I_2^L - (1 - I_1^U)| + |I_2^U - (1 - I_1^L)| + |F_2^L - T_1^L| + |F_2^U - T_1^U|) \\ &= D(\beta, \bar{\alpha}) \end{aligned}$$

Theorem can be proven for Euclidean distance in the same way.

4. When $D(\alpha, \beta) = D(\alpha, \bar{\beta})$, it is obvious that $\beta = \bar{\beta}$.

$$\frac{D(\alpha, \bar{\beta})}{D(\alpha, \beta) + D(\alpha, \bar{\beta})} = \frac{D(\alpha, \bar{\beta})}{D(\alpha, \bar{\beta}) + D(\alpha, \bar{\beta})} = 0.5$$

so we get

$$s(\alpha, \beta) = \begin{cases} 0.5, & \text{if } \alpha = \beta = \bar{\beta}, \\ 0.5, & \text{otherwise} \end{cases}$$

5. If $\alpha = \bar{\beta}$, then $D(\alpha, \bar{\beta}) = 0$. Hence we get $s(\alpha, \beta) = 0$.

Definition 10. Let $A_1 = \{\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n\}$, $A_2 = \{\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n\}$ be two INSs. The similarity measure between A_1 , A_2 is defined as follows:

$$s(A_1, A_2) = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \frac{D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}{D(\alpha_j, \beta_j) + D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)} \quad (5)$$

where α_j ve β_j are INNs. If $\alpha_j = \beta_j = \bar{\beta}_j$, then

$$\frac{D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}{D(\alpha_j, \beta_j) + D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)} = 0.5.$$

Theorem 2: $s(A_1, A_2)$ satisfies the following properties:

- 1) $0 \leq s(A_1, A_2) \leq 1$;
- 2) $s(A_1, A_2) = 1 \Leftrightarrow A_1 = A_2$;
- 3) $s(A_1, A_2) = s(A_2, A_1)$;
- 4) If $D(\alpha_j, \beta_j) = D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)$, then $s(A_1, A_2) = 0.5$.
- 5) If $\alpha_j = \bar{\beta}_j$, then $s(A_1, A_2) = 0$.

It can be proven as in Theorem 1.

Definition 11. Let $A_1 = \{\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n\}$ and $A_2 = \{\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n\}$ INSs, then the weighted similarity measure between A_1, A_2 is defined as follows:

$$S_w(A_1, A_2) = \sum_{j=1}^n w_j \frac{D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}{D(\alpha_j, \beta_j) + D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)} \quad (6)$$

In here the weight w_j ($w_j \in [0,1], \sum_{j=1}^n w_j = 1$) for each element α_j or β_j ($j = 1, 2, \dots, n$) satisfies properties (1-5).

If $w = (1/n, 1/n, \dots, 1/n)^T$, then Equation (6) reduces to Equation (5) as follows:

$$\begin{aligned} S_w(A_1, A_2) &= \sum_{j=1}^n \frac{1}{n} \frac{D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}{D(\alpha_j, \beta_j) + D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)} \\ &= \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \frac{D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)}{D(\alpha_j, \beta_j) + D(\alpha_j, \bar{\beta}_j)} = s(A_1, A_2) \end{aligned}$$

A MCDM Method Based on Similarity Measure

Now, a method for MCDM problem will be presented by using the similarity measure developed between INSs.

Let $A = \{A_1, A_2, \dots, A_m\}$ be an alternatives set and $C = \{C_1, C_2, \dots, C_n\}$ be the criteria set. Assume that the weight of the criterion C_j ($j = 1, 2, \dots, n$), given by decision maker, is w_j , $w_j \in [0,1]$ and $\sum_{j=1}^n w_j = 1$. The characteristic of alternative A_i ($i = 1, 2, \dots, m$) is given by;

$$A_i = \{ \langle x, [T_{A_i}^L(C_j), T_{A_i}^U(C_j)], [I_{A_i}^L(C_j), I_{A_i}^U(C_j)], [F_{A_i}^L(C_j), F_{A_i}^U(C_j)] \rangle : C_j \in C \}$$

where $0 \leq T_{A_i}^U(C_j) + I_{A_i}^U(C_j) + F_{A_i}^U(C_j) \leq 3$, $T_{A_i}^U(C_j) \geq 0$, $I_{A_i}^U(C_j) \geq 0$, $F_{A_i}^U(C_j) \geq 0$, ($i = 1, 2, \dots, m$), ($j = 1, 2, \dots, n$). Here $[T_{A_i}^L(C_j), T_{A_i}^U(C_j)]$ indicates the degree that the alternative A_i satisfies the criterion C_j , $[T_{A_i}^L(C_j), T_{A_i}^U(C_j)]$ indicates the degree that the alternative A_i is indeterminacy on the criterion C_j , $[F_{A_i}^L(C_j), F_{A_i}^U(C_j)]$ indicates the degree that the alternative A_i does not satisfy the criterion C_j .

For the rest of the paper $v_{ij} = ([a_{ij}, b_{ij}], [c_{ij}, d_{ij}], [e_{ij}, f_{ij}])$ will be used instead of $T_{A_i}(C_j), I_{A_i}(C_j), F_{A_i}(C_j)$ and decision matrix which consist of v_{ij} interval neutrosophic numbers will be denoted $R = (v_{ij})_{m \times n}$.

We suggest the decision making procedure as follows:

Step1. Obtain the decision matrix

Suppose that the decision matrix is defined by

$$R = \begin{matrix} & \begin{matrix} C_1 & C_2 & \dots & C_n \end{matrix} \\ \begin{matrix} A_1 \\ A_2 \\ \vdots \\ A_m \end{matrix} & \left[\begin{array}{cccc} ([a_{11}, b_{11}], [c_{11}, d_{11}], [e_{11}, f_{11}]) & ([a_{12}, b_{12}], [c_{12}, d_{12}], [e_{12}, f_{12}]) & \dots & ([a_{1n}, b_{1n}], [c_{1n}, d_{1n}], [e_{1n}, f_{1n}]) \\ ([a_{21}, b_{21}], [c_{21}, d_{21}], [e_{21}, f_{21}]) & ([a_{22}, b_{22}], [c_{22}, d_{22}], [e_{22}, f_{22}]) & \dots & ([a_{2n}, b_{2n}], [c_{2n}, d_{2n}], [e_{2n}, f_{2n}]) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ ([a_{m1}, b_{m1}], [c_{m1}, d_{m1}], [e_{m1}, f_{m1}]) & ([a_{m2}, b_{m2}], [c_{m2}, d_{m2}], [e_{m2}, f_{m2}]) & \dots & ([a_{mn}, b_{mn}], [c_{mn}, d_{mn}], [e_{mn}, f_{mn}]) \end{array} \right. \end{matrix}$$

whose elements are INNs.

Step 2. Calculate the ideal alternative.

Assessment criteria are generally classified into two categories: benefit and cost criteria.

Ideal alternative is obtained as follow:

$$A^* = v_j = ([a_j, b_j], [c_j, d_j], [e_j, f_j]) = \begin{cases} ([1,1], [0,0], [0,0]), & \text{for benefit criteria,} \\ ([0,0], [1,1], [1,1]), & \text{for cost criteria,} \end{cases}$$

$j = 1, 2, \dots, n.$

Step 3. Calculate the similarity between the ideal alternative and each alternative.

For this purpose it is obtained by;

$$S_w^t(A^*, A_i) = \sum_{j=1}^n w_j \frac{D(v_j, \bar{v}_{ij})}{D(v_j, v_{ij}) + D(v_j, \bar{v}_{ij})} \cdot (t = 1, 2) \quad (7)$$

Here $S_w^1(A^*, A_i)$ and $S_w^2(A^*, A_i)$ are obtained by using Hamming and Euclidean distances, respectively.

Step 4. Rank the alternatives.

For decision analysis, the optimal choice is made according to this obtained result.

Numerical Example

In this section, the MCDM problem given by Ye (2014a) will be examined to demonstrate the efficacy of the developed method.

Let us consider an investment company that wants to invest a sum of money in the best option from the alternatives (1) A_1 is a car company (2) A_2 is a food company (3) A_3 is a computer company (4) A_4 is an arm company, under three criteria (1) C_1 is the risk analysis (2) C_2 is the growth analysis (3) C_3 is the environmental impact analysis. In here C_1 and C_2 are benefit criteria; C_3 is cost criterion. The weight vector of the criteria is $w = (0.35, 0.25, 0.40)$.

Let us consider the following decision matrix R whose elements are given by INNs.

$$R = \begin{matrix} & \begin{matrix} C_1 & C_2 & C_3 \end{matrix} \\ \begin{matrix} A_1 \\ A_2 \\ A_3 \\ A_4 \end{matrix} & \left[\begin{array}{ccc} ([0.4, 0.5], [0.2, 0.3], [0.3, 0.4]) & ([0.4, 0.6], [0.1, 0.3], [0.2, 0.4]) & ([0.7, 0.9], [0.2, 0.3], [0.4, 0.5]) \\ ([0.6, 0.7], [0.1, 0.2], [0.2, 0.3]) & ([0.6, 0.7], [0.1, 0.2], [0.2, 0.3]) & ([0.3, 0.6], [0.3, 0.5], [0.8, 0.9]) \\ ([0.3, 0.6], [0.2, 0.3], [0.3, 0.4]) & ([0.5, 0.6], [0.2, 0.3], [0.3, 0.4]) & ([0.4, 0.5], [0.2, 0.4], [0.7, 0.9]) \\ ([0.7, 0.8], [0.0, 0.1], [0.1, 0.2]) & ([0.6, 0.7], [0.1, 0.2], [0.1, 0.3]) & ([0.6, 0.7], [0.3, 0.4], [0.8, 0.9]) \end{array} \right. \end{matrix}$$

By using Equation (2) and Equation (7), $S_w^1(A^*, A_i)$ ($i = 1, 2, 3, 4$) can be obtained as follows:

$$S_w^1(A^*, A_1) = 0.5025$$

$$S_w^1(A^*, A_2) = 0.6900$$

$$S_w^1(A^*, A_3) = 0.5983$$

$$S_w^1(A^*, A_4) = 0.6958$$

so the ranking order of alternatives is

$$A_4 \succ A_2 \succ A_3 \succ A_1.$$

Obviously A_4 is the best one.

By using Equation (3) and Equation (7), $S_w(A^*, A_i)$ ($i = 1, 2, 3, 4$) evaluated as:

$$S_w^2(A^*, A_1) = 0.5012$$

$$S_w^2(A^*, A_2) = 0.6766$$

$$S_w^2(A^*, A_3) = 0.5897$$

$$S_w^2(A^*, A_4) = 0.7111$$

therefore the ranking order of alternatives is

$$A_4 \succ A_2 \succ A_3 \succ A_1.$$

A_4 is also the best one.

With regard to the method in (Şahin, 2015), the same final ranking result is obtained. But the easy applicability of this method makes it more advantageous than the other. Moreover, the result is same as (Ye, 2014a) according to Hamming distance measure. This demonstrates the effectiveness of the proposed method.

CONCLUSION

In this article, the Hamming and Euclidean distances-based similarity measure is extended to interval neutrosophic set. Then, by using this similarity measure, the best alternative is identified. To demonstrate the applicability and effectiveness of the proposed method, we compare the ranking results with others.

REFERENCES

- Atanassov K, 1986. Intuitionistic fuzzy sets. *Fuzzy Sets Syst.* 20, 87–96.
- Atanassov K, Gargov G, 1989. Interval-valued intuitionistic fuzzy sets. *Fuzzy Sets Syst.*, 31(3): 343–349.
- Broumi S, Deli I, Smarandache F, 2014 a. Relations on Interval Valued Neutrosophic Soft Sets, *Journal of New Results in Science* 5: 01-20.
- Broumi S, Deli I, Smarandache F, 2014 b. Distance and Similarity Measures of Interval Neutrosophic Soft Sets. *Critical Review, Center for Mathematics of Uncertainty, Creighton University, USA*, 8: 14-31.
- Broumi S, Deli I, Smarandache F, 2014 c. Interval valued neutrosophic parameterized soft set theory and its decision making, *Journal of New Results in Science* 7: 58-71.
- Broumi S, Deli I, Smarandache F, 2015. N-valued Interval Neutrosophic Sets and Their Application in Medical Diagnosis. *Critical Review, Center for Mathematics of Uncertainty, Creighton University, USA*, 10: 46-69.
- Deli I, 2015. npn-Soft Sets Theory and Applications. *Annals of Fuzzy Mathematics and Informatics*, 10(6): 847-862.
- Deli I, Eraslan S, Çağman N, 2018. Invpiv-Neutrosophic soft sets and their decision making based on similarity measure. *Neural Computing and Applications*, 29(1): 187–203. DOI 10.1007/s00521-016-2428-z.

- Chi P.P, Liu P.D, 2013. An extended TOPSIS method for the multiple attribute decision making Problems based on interval neutrosophic sets, *Neutrosophic Sets and Systems* 1(1) , 63–70.
- Peng JJ, Wang J, Wang J, Zhang HY, Chen XH, 2015. Simplified neutrosophic sets and their applications in multi-criteria group decision-making problems. *Int. J. Systems Sci.*, 47(10): 2342–2358.
- Smarandache F, 1999. A unifying field in logics. neutrosophy: Neutrosophic probability, set and logic, American Research Press, Rehoboth.
- Şahin R, 2015. Cross-entropy measure on interval neutrosophic sets and its applications in multicriteria decision making. *Neural computing and applications*, 28(5): 1177-1187.
- Küçük GD, ŞAHİN R, 2018. A Novel Hybrid Approach for Simplified Neutrosophic Decision Making with Completely Unknown Weight Information, *International Journal for Uncertainty Quantification*, 8(2):161–173.
- Şahin R, Küçük GD, 2018. Group Decision Making with Simplified Neutrosophic Ordered Weighted Distance Operator. *Mathematical Methods in The Applied Sciences*, 41(12): 4795-4809.
- Wang H, Smarandache F, Zhang YQ, Sunderraman R, 2005. Interval neutrosophic sets and logic: Theory and applications in computing, Hexis, Phoenix, AZ:2005
- Wang H, Smarandache F, Zhang YQ, Sunderraman R, 2010. Single valued neutrosophic sets. *Multispace and Multistructure*, 4: 410–413.
- Ye J, 2013. Multiple attribute group decision-making method with unknown weights in intuitionistic fuzzy setting and interval-valued intuitionistic fuzzy setting. *International Journal Of General Systems*, 42(5), 489-502.
- Ye J, 2014a. Similarity measures between interval neutrosophic sets and their applications in multicriteria decision-making, *Journal of Intelligent and Fuzzy Systems*, 26(1), 165–172.
- Ye J, 2014b. Multiple attribute group decision-making method with completely unknown weights based on similarity measures under single valued neutrosophic environment. *Journal of Intelligent and Fuzzy Systems*, 27, 2927-2935.
- Xu Z.S, Yager R.R, 2009. Intuitionistic and interval-valued intuitionistic fuzzy preference relations and their measures of similarity for the evaluation of agreement within a group. *Fuzzy Optimal and Decision Making* 8, 123–139.
- Zadeh LA, 1965. Fuzzy sets. *Inf Control*;8, 338–353.
- Zhang HY, Wang JQ, Chen XH, 2014. Interval neutrosophic sets and their application in multicriteria decision making problems. *The Scientific World Journal*, 645953.

Some New Results on Soft $n-T_4$ Spaces

Orhan GÖÇÜR^{1*}

ABSTRACT: Göçür and Kopuzlu showed that any soft T_4 space, may not be a soft T_2 space (also may not be a soft T_3 space). In this case, they described a new soft separation axiom which is called soft $n-T_4$ space. Then they indicated that any soft $n-T_4$ space is soft T_3 space also (Göçür and Kopuzlu, 2015b). In the present paper we showed that if (X, τ, E) is a soft $n-T_4$ space, topological space (X, τ_e) is a T_4 space for all $e \in E$. Then we indicated that any Soft Metric space is also soft $n-T_4$ space. Consequently, we indicated that any Soft Metric space \Rightarrow Soft $n-T_4$ space \Rightarrow Soft T_3 space \Rightarrow Soft T_2 space \Rightarrow soft T_1 space \Rightarrow soft T_0 space also.

Keywords: soft metric space, soft separation axioms, soft set, soft closed set, soft $n-T_4$ space, soft topological space.

¹ Orhan GÖÇÜR (Orcid ID: 0000-0001-7141-118X), Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, İstatistik ve Bilgisayar Bilimleri Bölümü, Bilecik, Türkiye

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Orhan GÖÇÜR, e-mail:orhangocur@gmail.com

* Bu makale 02-06 Mayıs 2018 tarihleri arasında Kiev/Ukrayna'da düzenlenen Mühendislik ve Doğa Bilimleri Üzerine 4. Uluslararası Konferans'ta sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

INTRODUCTION

Molodtsov defined soft set and gives some properties about it. For this, he thought that there are many uncertainties to solve complicated problems such as in sociology economics, engineerig, medical science, environment problems, statistics, etc, and there are no deal to solve them successfully. However, there are some theories such as vague sets theory (Gau and Buehrer,1993), fuzzy sets (Zadeh, 1965), probability, intuitionistic fuzzy sets (Atanassov, 1986), rough sets (Pawlak,1982), interval mathematics (Gorzalzano, 1987), etc, but these studies have their own complexities (Molodtsov, 1999). Then Maji et al. (2003) defined some operators for soft sets and gave some properties about it. Up to now, there are many studies on the soft sets and their applications in different fields.

Shabir and Naz defined soft topological spaces which are introduced over an initial universe with constant set of parameters. They indicated a parameterized family of topological spaces mean that also be a soft topological space. They defined the concept of soft open sets, soft closed sets, soft closure, soft separation axioms, etc. Also, they gave some important properties about soft separation axioms. They gave definitions of soft T_i spaces for $i = 0,1,2,3,4$. And they gave some relations about them. For example; they indicated that any soft T_i space is a soft T_{i-1} space for $i = 1,2$ also. And they asserted that any soft T_3 space need not be a soft T_2 space by given an example (Shabir and Naz, 2011). But the example is false. In this case, Won Keun Min indicated that any soft T_3 space is also a soft T_2 space (Min, 2011). After that, Shabir and Naz asserted that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft T_1 space, then topological space (X, τ_e) is T_1 space for all $e \in E$ (Shabir and Naz, 2011). But this proposition is false. In this case, Göçür and Kopuzlu showed that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft T_1 space,

then topological space (X, τ_α) is a T_1 space for which $\alpha \in E$. And also, they showed that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft T_0 space, topological space (X, τ_α) is a T_0 space for which $\alpha \in E$ (Göçür and Kopuzlu, 2015a). Shabir and Naz indicated that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft T_2 space, then topological space (X, τ_e) is a T_2 space for all $e \in E$ (Shabir and Naz, 2011). And in this case Won Keun Min indicated that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft T_3 space, then topological space (X, τ_e) is a T_3 space for all $e \in E$ (Min, 2011).

Shabir and Naz asserted that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft T_4 space, then (X, τ, E) may not be a soft T_3 space (Shabir and Naz 2011). This proposition is true but given an example about this is false. For this, Zhang gave correct example about it (Zhang, 2015). After then Göçür and Kopuzlu indicated that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft T_4 space, (X, τ, E) may not be a soft T_2 space (also may not be a soft T_3 space). And they indicated that any soft discrete space is soft T_2 space. Then they showed that any soft discrete space may not be soft T_3 space. After that they indicated any soft discrete space is soft T_4 space. In this case, they described a new soft separation axiom which is called soft n- T_4 space. Then they indicated that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft n- T_4 space, (X, τ, E) is also a soft T_3 space. Consuquently they showed that any soft n- T_4 space \Rightarrow soft T_3 space \Rightarrow Soft T_2 space \Rightarrow soft T_1 space \Rightarrow soft T_0 space. In this case, Göçür and Kopuzlu showed that any soft discrete topological space may not be a soft n- T_4 space. So, they introduced a new soft topological space that is called soft single point space. And they indicated that any soft single point space is also soft subspace of soft discrete space. Then they indicated that any soft single point space is soft n- T_4 space. (Göçür and Kopuzlu, 2015b). After that, Göçür introduced soft metric space which is defined over an initial universe set with constant

set of parameters. And he gave definitions of soft open ball and soft closed ball in soft metric spaces. Also, he introduced soft metrizable. And he showed that any soft discrete space is soft non-metrizable while soft single point space is soft metrizable. Finally, he indicated that any soft metrizable space is soft n-T₄ (Göçür, 2017).

In the present paper, we show that if a soft topological space (X, τ, E) is a soft n-T₄ space, then topological space (X, τ_e) is a T₄ space for all $e \in E$. Then we show that any Soft Metric space is soft n-T₄ space also. Consequently, we indicate that any Soft Metric space \Rightarrow Soft n-T₄ space \Rightarrow soft T₃ space \Rightarrow Soft T₂ space \Rightarrow soft T₁ space \Rightarrow soft T₀ space.

MATERIALS AND METHODS

We will use this terminology for following pages: X denotes an initial universe, E denotes universal set of parameters; A, B, C are subset of E , $P(X)$ denotes the power set of X and then, $(F, E), (G, E), (H, E)$ are soft sets over X .

Definition 1. (F, A) is said to be a soft set over X , where F is a mapping from A to $P(X)$ (Molodtsov, 1999).

Definition 2. (F, E) is a soft subset of (G, E) , denoted by $(F, E) \subseteq (G, E), F(e) \subseteq G(e), \forall e \in E$ (Maji et al, 2003).

Definition 3. If $(F_1, E) \subseteq (F_2, E)$ and $(F_2, E) \subseteq (F_1, E)$, it is called (F_1, E) is a soft equal (F_2, E) and it is indicated that $(F_1, E) \cong (F_2, E)$ (Maji et al, 2003).

Definition 4. (F, E) is an empty soft set denoted with $\tilde{\emptyset}$, if $F(e) = \emptyset, \forall e \in E$, (Maji et al, 2003).

Definition 5. (H, E) is called soft union of (F_1, E) and (F_2, E) . It is denoted by $(F_1, E) \tilde{\cup} (F_2, E)$ such that $H(e) = F_1(e) \cup F_2(e), \forall e \in E$ (Maji et al, 2003).

Definition 6. (H, E) is called soft intersection of (F, E) and (G, E) . It is denoted by

$(F_1, E) \tilde{\cap} (F_2, E)$ such that $H(e) = F_1(e) \cap F_2(e), \forall e \in E$ (Feng et al, 2008).

Definition 7. (H, E) is called soft difference of (F_1, E) and (F_2, E) . It is denoted by $(F_1, E) \tilde{\setminus} (F_2, E)$ such that $H(e) = F_1(e) \setminus F_2(e), \forall e \in E$ (Shabir and Naz, 2011).

Definition 8. Let $x \in X$. If $\forall e \in E, x \in F(e)$, then $x \tilde{\in} (F, E)$. Note this; if $x \notin F(\alpha), \exists \alpha \in E$, $x \tilde{\notin} (F, E)$ (Shabir and Naz, 2011).

Definition 9. Let $x \in X$. (x, E) is called the soft set if $x(e) = \{x\}, \forall e \in E$ (Shabir and Naz, 2011).

Definition 10. $(F, E)'$ is called relative complement of (F, E) if $(F', E) \cong (F, E)'$ where F' is a mapping from E to $P(X)$; $F'(e) = X - F(e), \forall e \in E$ (Shabir and Naz, 2011).

Definition 11. Let τ be the collection of soft sets on X , then τ is called soft topology over X if

1. $\tilde{\emptyset}, \tilde{X} \tilde{\in} \tau$,
2. the intersection of any two soft sets in $\tau \tilde{\in} \tau$,
3. the soft union of any number of soft sets in $\tau \tilde{\in} \tau$.

So (X, τ, E) is a soft topological space on X (Shabir and Naz, 2011).

We will use this terminology for following: (X, τ, E) as a soft topological space over X and $x, y, z \in X$.

Definition 12. Given (X, τ, E) . The members of τ are called soft open sets in X (Shabir and Naz, 2011).

Definition 13. Given (X, τ, E) . (F, E) is called soft closed set in X , if $(F, E)' \tilde{\in} \tau$ (Shabir and Naz, 2011).

Proposition 1. Given (X, τ, E) . The collection $\tau_e = \{F(e) | (F, E) \in \tau\}, \forall e \in E$, defines a topology on X (Shabir and Naz, 2011).

Proposition 2. Given (X, τ, E) . (F, E) be a soft closed set over X , if $F(e)$ is closed set in (X, τ_e) , $\forall e \in E$ (Evanzalin and Thangavelu 2017).

Definition 14. Given (X, τ, E) , soft open sets (F, E) , (G, E) and $x \neq y$. If $x \tilde{\in} (F, E), y \tilde{\notin} (F, E)$ or $y \tilde{\in} (G, E), x \tilde{\notin} (G, E)$, then (X, τ, E) is called soft T_0 space (Shabir and Naz, 2011).

Remark 1. Let (X, τ, E) be a soft T_0 space. Then there exist soft open sets (F, E) and (G, E) such that $x \tilde{\in} (F, E), y \tilde{\notin} (F, E)$ or $y \tilde{\in} (G, E), x \tilde{\notin} (G, E)$ from Definition 14. Also we know that for all $e \in E$, (X, τ_e) is a topological space from Proposition 1. Then we can see that clearly, since $x \tilde{\in} (F, E)$, there exists open set $F(e)$ in τ_e such that $x \in F(e)$ for all $e \in E$; and since $y \tilde{\notin} (F, E)$, there exists open set $F(e_i)$ in τ_{e_i} such that $y \notin F(e_i)$ for $e_i \in E, i \in I$. Or similarly since $y \tilde{\in} (G, E)$, there exists open set $G(e)$ in τ_e such that $y \in G(e)$ for all $e \in E$; and since $x \tilde{\notin} (G, E)$, there exist open sets $G(e_j)$ in τ_{e_j} such that $x \notin G(e_j)$ for $e_j \in E, j \in I$ (Göçür and Kopuzlu, 2015a).

Theorem 1. Given (X, τ, E) and $x \neq y$ and let $i, j \in I$ such that mentioned in Remark 1, $e \in E$. If (X, τ, E) is a soft T_0 space, then at least one of (X, τ_{e_i}) and (X, τ_{e_j}) are T_0 spaces (Göçür and Kopuzlu, 2015a).

Definition 15. Given (X, τ, E) , soft open sets (F, E) and (G, E) , $x \neq y$. If $x \tilde{\in} (F, E), y \tilde{\notin} (F, E)$ and $y \tilde{\in} (G, E), x \tilde{\notin} (G, E)$, (X, τ, E) is said to be soft T_1 space (Shabir and Naz, 2011).

Remark 2. Let (X, τ, E) be a soft T_1 space, then there exist $(F, E), (G, E) \tilde{\in} \tau$ such that $x \tilde{\in} (F, E), y \tilde{\notin} (F, E)$ and $y \tilde{\in} (G, E), x \tilde{\notin} (G, E)$ from Definition 15. Also we know that for each $e \in E$, (X, τ_e) is a topological space from Proposition 1. Then we can see that clearly, since $x \tilde{\in} (F, E)$, there exists open set $F(e)$ in τ_e such

that $x \in F(e)$ for all $e \in E$; and since $y \tilde{\notin} (F, E)$, there exists open set $F(e_i)$ in τ_{e_i} such that $y \notin F(e_i)$ for $e_i \in E, i \in I$.

And similarly since $y \tilde{\in} (G, E)$, there exists open set $G(e)$ in τ_e such that $y \in G(e)$ for all $e \in E$; and since $x \tilde{\notin} (G, E)$, there exist open sets $G(e_j)$ in τ_{e_j} such that $x \notin G(e_j)$ for $e_j \in E, j \in I$ (Göçür and Kopuzlu, 2015a).

Theorem 2. Given (X, τ, E) , x, y such that $x \neq y$ and let $i, j \in I$ such that mentioned in Remark 2, $e \in E$. Let $k, l \in I$ such that $e_{i_k} = e_{j_l}$. If (X, τ, E) is a soft T_1 space, then $(X, \tau_{e_{i_k}})$ are T_1 spaces (Göçür and Kopuzlu, 2015a).

Example 1. Let $X = \{a, b\}, E = \{e_1, e_2\}$ and $\tau = \{\emptyset, X, (G_1, E), (G_2, E), (G_3, E)\}$ where

$$G_1(e_1) = X, \quad G_1(e_2) = \{a\},$$

$$G_2(e_1) = \{b\}, \quad G_2(e_2) = \{b\},$$

$$G_3(e_1) = \{b\}, \quad G_3(e_2) = \emptyset.$$

We note that (X, τ, E) is a soft T_1 space because there exist soft open sets (G_1, E) and (G_2, E) such that $a \tilde{\in} (G_1, E), b \tilde{\notin} (G_1, E)$ and $b \tilde{\in} (G_2, E), a \tilde{\notin} (G_2, E)$.

We can see clearly that (X, τ_{e_1}) is not T_1 space because of $\tau_{e_1} = \{\emptyset, X, \{b\}\}$. Also we can see clearly that, τ_{e_2} is a T_1 space because of $\tau_{e_2} = \{\emptyset, X, \{a\}, \{b\}\}$.

Definition 16. Given (X, τ, E) , soft open sets (F, E) , (G, E) and $x \neq y$. If $x \tilde{\in} (F, E), y \tilde{\in} (G, E)$ and $(F, E) \tilde{\cap} (G, E) = \tilde{\emptyset}$, then (X, τ, E) is called soft T_2 space (Shabir and Naz, 2011).

Proposition 3. (X, τ_e) is a T_2 space for all $e \in E$ if (X, τ, E) is a soft T_2 space (Shabir and Naz, 2011).

Definition 17. Given (X, τ, E) . Let (H, E) be a soft closed set in X , $x \tilde{\notin} (H, E)$. If $(F, E), (G, E) \tilde{\in} \tau$ such that $x \tilde{\in} (F, E), (H, E) \tilde{\subset} (G, E)$ and

$(F, E) \tilde{\cap} (G, E) = \tilde{\emptyset}$, then (X, τ, E) is said to be soft regular space (Shabir and Naz, 2011).

Definition 18. If (X, τ, E) is also soft regular and soft T_1 space, then it is called soft T_3 space (Shabir and Naz, 2011).

Remark 3. If (X, τ, E) is a soft T_3 space, (X, τ_e) is T_3 space for each parameter $e \in E$ (Min 2011).

Definition 19. Let (F, E) and (G, E) be soft closed sets in (X, τ, E) . And let $x \tilde{\in} (F, E)$, $(F, E) \tilde{\cap} (G, E) \cong \tilde{\emptyset}$. If there exist soft open sets (F_1, E) and (F_2, E) such that $y \tilde{\in} (F_2, E)$, $(F, E) \tilde{\subset} (F_1, E)$, $(G, E) \tilde{\subset} (F_2, E)$ and $(F_1, E) \tilde{\cap} (F_2, E) \cong \tilde{\emptyset}$, then (X, τ, E) is a soft n-normal space. (Göçür and Kopuzlu, 2015b)

Definition 20. If (X, τ, E) is a soft n-normal space and also soft T_1 space, then (X, τ, E) is a soft n- T_4 space (Göçür and Kopuzlu, 2015b).

Theorem 3. Any Soft n- T_4 space is soft T_3 space (Göçür and Kopuzlu, 2015b).

Corollary 1. Any Soft n- T_4 space \Rightarrow soft T_3 space. \Rightarrow Soft T_2 space \Rightarrow soft T_1 space \Rightarrow soft T_0 space. (Göçür and Kopuzlu, 2015b).

Definition 21. Let \tilde{X} be the absolute soft set i.e., $F(e) = X$, for all $e \in E$, where $(F, E) = \tilde{X}$. Let $\tilde{\mathbb{R}}$ denotes set of all soft real numbers (briefly SRN). And let \tilde{r} to denote SRN such that $F(e) = r$, for all $e \in E$, where $(F, E) = \tilde{r}$. For instance, $\tilde{0}$ is the SRN where $F(e) = 0$, for all $e \in E$ where $(F, E) = (0, E)$ for $0 \in \mathbb{R}$. Also for shortly, we use $\tilde{a}, \tilde{b}, \tilde{x}, \tilde{y}, \tilde{z}$ instead of $(a, E), (b, E), (x, E), (y, E), (z, E)$ respectively for all $a, b, x, y, z \in X$ and for all $e \in E$.

A mapping $d: \tilde{X} \times \tilde{X} \rightarrow \tilde{\mathbb{R}}$ is called a soft metric, if d satisfies the following:

1. $d(\tilde{x}, \tilde{y}) \geq \tilde{0}$,
2. $d(\tilde{x}, \tilde{y}) = \tilde{0}$ if and only if $x = y$,
3. $d(\tilde{x}, \tilde{y}) = d(\tilde{y}, \tilde{x})$,
4. $d(\tilde{x}, \tilde{z}) \leq d(\tilde{x}, \tilde{y}) + d(\tilde{y}, \tilde{z})$,

The soft set \tilde{X} with a soft metric d on \tilde{X} is denoted by (\tilde{X}, d, E) and it is said to be a soft metric space (Göçür, 2017).

We will use this terminology for following: (\tilde{X}, d, E) be a soft metric space, \tilde{r} and $\tilde{\epsilon}$ be non-negative SRN.

Definition 22. Given (\tilde{X}, d, E) and \tilde{r} . For any $a \in X$, open soft ball with centre \tilde{a} and radius \tilde{r} satisfy $d(\tilde{x}, \tilde{a}) < \tilde{r}$. Thus the open soft ball with centre \tilde{a} and radius \tilde{r} is denoted by $B(\tilde{a}, \tilde{r})$. Hence $B(\tilde{a}, \tilde{r}) = \{x \in X; d(\tilde{x}, \tilde{a}) < \tilde{r}\}$ (Göçür, 2017).

Definition 23. Given (\tilde{X}, d, E) and \tilde{r} . For any $a \in X$, closed soft ball with centre \tilde{a} and radius \tilde{r} satisfy $d(\tilde{x}, \tilde{a}) \leq \tilde{r}$. Thus the closed soft ball with centre \tilde{a} and radius \tilde{r} is denoted by $B[\tilde{a}, \tilde{r}]$. Hence $B[\tilde{a}, \tilde{r}] = \{x \in X; d(\tilde{x}, \tilde{a}) \leq \tilde{r}\}$ (Göçür, 2017).

RESULTS AND DISCUSSION

Theorem 4. Given (X, τ, E) . If X is a soft n-normal space, then (X, τ_e) is a normal space for all $e \in E$.

Proof Let (X, τ, E) be a soft n-normal space and $x, y \in X$. And let (H_1, E) and (H_2, E) be soft closed sets such that $x \tilde{\in} (H_1, E)$ and $(H_1, E) \tilde{\cap} (H_2, E) = \tilde{\emptyset}$. Then, there exist soft open sets (G_1, E) and (G_2, E) such that $y \tilde{\in} (G_2, E)$, $(H_1, E) \tilde{\subset} (G_1, E)$, $(H_2, E) \tilde{\subset} (G_2, E)$ and $(G_1, E) \tilde{\cap} (G_2, E) = \tilde{\emptyset}$ from Definition 19. Here, because (H_1, E) and (H_2, E) be soft closed sets such that $x \tilde{\in} (H_1, E)$ and $(H_1, E) \tilde{\cap} (H_2, E) = \tilde{\emptyset}$, there exist closed sets $H_1(e)$ and $H_2(e)$ in (X, τ_e) such that $H_1(e) \cap H_2(e) = \emptyset$, for all $e \in E$ from Proposition 2 and Definition 4. And then there exist open sets $G_1(e)$ and $G_2(e)$ in (X, τ_e) such that $H_1(e) \subset G_1(e)$, $H_2(e) \subset G_2(e)$ and $G_1(e) \cap G_2(e) = \emptyset$, for all $e \in E$ from Definition 2, Proposition 1 and Definition 4. Hence (X, τ_e) is a normal space, for all $e \in E$.

Theorem 5. Given (X, τ, E) . If X is a soft n- T_4 space, then (X, τ_e) is a T_4 space, for all $e \in E$.

Proof (X, τ, E) is both soft n-normal space and soft T_1 space from Definition 20. Because (X, τ_e) is normal space for all $e \in E$ from Theorem 4

and (X, τ_e) is T_1 space for all $e \in E$ from Corollary 1, Proposition 3 and we know that any T_2 space is also T_1 space from classical topology, then (X, τ_e) is T_4 space, for all $e \in E$.

Example 2. Let $X = \{a, b, c\}, E = \{e_1, e_2\}$ and

$$\tau = \{\emptyset, X, (G_1, E), (G_2, E), (G_3, E), (G_4, E), (G_5, E), (G_6, E)\}$$

Where

$$\begin{aligned} G_1(e_1) &= \{a\}, & G_1(e_2) &= \{a\}, \\ G_2(e_1) &= \{b\}, & G_2(e_2) &= \{b\}, \\ G_3(e_1) &= \{c\}, & G_3(e_2) &= \{c\}. \\ G_4(e_1) &= \{a, b\}, & G_4(e_2) &= \{a, b\} \\ G_5(e_1) &= \{a, c\}, & G_5(e_2) &= \{a, c\} \\ G_6(e_1) &= \{b, c\}, & G_6(e_2) &= \{b, c\} \end{aligned}$$

Then (X, τ, E) is a soft topological space over X . Here, we can see clearly that (X, τ, E) is soft n- T_4 space and so (X, τ_{e_1}) and (X, τ_{e_2}) are T_4 space.

Theorem 6. Any soft metric space is soft T_1 space also.

Proof Let (\tilde{X}, d, E) be a soft metric space; $a, b \in X$ and let $\tilde{\varepsilon}$ be a non-negative SRN such that $d(\tilde{a}, \tilde{b}) = \tilde{\varepsilon}$. Then there exist soft open ball $B(\tilde{a}, \tilde{\varepsilon}/3)$ such that $b \notin B(\tilde{a}, \tilde{\varepsilon}/3)$. And similarly, there exist soft open ball $B(\tilde{b}, \tilde{\varepsilon}/3)$ such that $a \notin B(\tilde{a}, \tilde{\varepsilon}/3)$. Hence \tilde{X} is soft T_1 .

Theorem 7. Any soft metric space is soft n-normal space.

Proof Let (\tilde{X}, d, E) be a soft metric space. Let (A, E) and (B, E) be disjoint soft closed soft subsets of \tilde{X} . For each $a \in (A, E)$, choose $\tilde{\varepsilon}_a$, which is non-negative SRN, so that the soft ball $B(\tilde{a}, \tilde{\varepsilon}_a)$ does not intersect (B, E) . Similarly, for each $b \in (B, E)$, choose $\tilde{\varepsilon}_b$, which is non-

negative SRN, so that the soft ball $B(\tilde{b}, \tilde{\varepsilon}_b)$ does not intersect (A, E) . Define

$$(U, E) \cong \bigcup_{a \in (A, E)} \widetilde{B(\tilde{a}, \tilde{\varepsilon}_a/3)}$$

and

$$(V, E) = \bigcup_{b \in (B, E)} \widetilde{B(\tilde{b}, \tilde{\varepsilon}_b/3)}$$

Then (U, E) and (V, E) are soft open sets containing (A, E) and (B, E) respectively.

Also $b \notin (U, E)$. We assert they are disjoint. For if $z \in (U, E) \cap (V, E)$, then

$$z \in B(\tilde{a}, \tilde{\varepsilon}_a/3) \cap B(\tilde{b}, \tilde{\varepsilon}_b/3)$$

for some $a \in (A, E)$ and $b \in (B, E)$ the triangle inequality applies to show that $d(\tilde{a}, \tilde{b}) < (\tilde{\varepsilon}_a + \tilde{\varepsilon}_b)/3$. If $\tilde{\varepsilon}_a \leq \tilde{\varepsilon}_b$, then $d(\tilde{a}, \tilde{b}) < \tilde{\varepsilon}_b$, so that the soft ball $B(\tilde{b}, \tilde{\varepsilon}_b)$ contains a . If $\tilde{\varepsilon}_b \leq \tilde{\varepsilon}_a$, then $d(\tilde{a}, \tilde{b}) < \tilde{\varepsilon}_a$, so that the soft ball $B(\tilde{a}, \tilde{\varepsilon}_a)$ contains \tilde{b} . Neither situation is possible.

Theorem 8. Any soft metric space is soft n- T_4 space.

Proof It is obvious that Definition 20, Theorem 6 and Theorem 7.

Corollary 2. Soft Metric Space \Rightarrow Soft n- T_4 space \Rightarrow soft T_3 space. \Rightarrow Soft T_2 space \Rightarrow soft T_1 space \Rightarrow soft T_0 space.

Proof It is obvious that Theorem 8 and Corollary 1.

CONCLUSION

In the present paper, we showed that if (X, τ, E) is a soft n- T_4 space, then topological space (X, τ_e) is a T_4 space for all $e \in E$. Then we showed that any Soft Metric space is soft n- T_4 space also. Consequently, we indicated that any Soft Metric space \Rightarrow Soft n- T_4 space \Rightarrow soft T_3 space. \Rightarrow Soft T_2 space \Rightarrow soft T_1 space \Rightarrow soft T_0 space.

In this study, our purpose is completing as much as possible that soft separation axioms defined over an initial universe with constant set of parameter. And we hope that researchers investigate soft metric, soft compactness, soft connectedness, soft sequences etc.

REFERENCES

- Atanassov K, 1986. Intuitionistic fuzzy sets. *Fuzzy Sets and Systems*, 20:87-96.
- Evanzalin E.P and Thangavelu P, 2017. On quasi soft sets in soft topology. *GJPAM*, 13(12):8343-8359.
- Feng F, Jun YB and. Zhao XZ, 2008. Soft semirings. *Comput. Math. Appl*, 56:2621-2628.
- Gau WL and Buehrer DJ, 1993. Vague sets. *IEEE Trans. System Man Cybernet*, 23(2):610-614.
- Gorzalzano MB, 1987. A method of inference in approximate reasoning based on interval valued fuzzy sets. *Fuzzy Sets and Systems*, 21:1-17.
- Göçür O, 2017. Soft single point space and soft metrizable. *Ann. Fuzzy Math. Inform*, 13(4):499-507.
- Göçür O, Kopuzlu A, 2015a. On soft separation axioms. *Ann. Fuzzy Math. Inform*, 9(5):817-822.
- Göçür O, Kopuzlu A, 2015b. Some new properties on soft separation axioms. *Ann. Fuzzy Math. Inform*, 9(3):421-429.
- Maji PK, Biswas R and Roy R, 2003. Soft set theory, *Comput. Math. Appl*, 45:555-562.
- Min WK, 2011. A note on soft topological spaces. *Comput. Math. Appl*, 62:3524-3528.
- Molodtsov D, 1999. Soft set theory first results. *Comput. Math. Appl*, 37:19-31.
- Pawlak Z, 1982. Rough sets. *Int. J. Comp. Inf. Sci*, 11:341-356.
- Shabir M, Naz M, 2011. On soft topological spaces. *Comput. Math. Appl*, 61:1786-1799.
- Zadeh LA, 1965. Fuzzy sets, *Information and Control*, 8:338-353.
- Zhang X, 2013. Further Study on Soft Separation Axioms. *Computer Engineering and Applications*, 49(5):48-50.

n -kere Türevlenebilen h -konveks ve h -konkav fonksiyonlar için İntegral Eşitsizlikler

Huriye KADAKAL^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, hem Hölder hem de Power-Mean integral eşitsizliği ile birlikte bir integral eşitliği kullanılarak n -kere türevlenebilen h -konveks ve h -konkav fonksiyonlar için bir kaç yeni eşitsizlik bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: h -konveks ve h -konkav fonksiyon, Hölder ve Hermite-Hadamard eşitsizliği

Integral Inequalities for n -Times Differentiable h -Convex and h -Concave Functions

ABSTRACT: In this study, we get several new inequalities for n -times differentiable h -convex and h -concave functions by applying an integral identity together with both the Hölder and the Power-Mean integral inequality.

Keywords: h -convex and h -concave function, Hölder and Hermite-Hadamard inequality

¹ Huriye KADAKAL (Orcid ID: 0000-0002-0304-7192), Milli Eğitim Bakanlığı, Bulancak Bahçelievler Anadolu Lisesi Bulancak, Giresun, Türkiye

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Huriye KADAKAL, e-mail: huriyekadakil@hotmail.com

Geliş tarihi / Received: 16.10.2018
Kabul tarihi / Accepted: 19.11.2018

GİRİŞ

Tanım 1.1 Her $u, v \in I$ ve $t \in [0,1]$ için aşağıdaki eşitsizlik sağlanırsa $f: I \subseteq \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu konveks fonksiyon olarak adlandırılır:

$$f(tu + (1-t)v) \leq tf(u) + (1-t)f(v).$$

Eğer eşitsizlik tersine ise o zaman f fonksiyonu $I \neq \emptyset$ aralığı üzerinde konkav olarak adlandırılır. Literatürde konveks fonksiyonlar için birçok eşitsizlik verilmiştir. Fakat Hermite-Hadamard integral eşitsizliği bu eşitsizlikler içerisinde geometrik önemi ve uygulamalarıyla oldukça ön plana çıkmıştır. Bu eşitsizlik aşağıdaki gibi ifade edilir.

Tanım 1.2 $f: I \subseteq \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu konveks ise $a, b \in I$ ($a \leq b$) için

$$f\left(\frac{a+b}{2}\right) \leq \int_a^b f(x)dx \leq \frac{f(a)+f(b)}{2}$$

eşitsizliği geçerlidir. Bu eşitsizlik literatürde Hermite-Hadamard eşitsizliği olarak iyi bilinmektedir.

Tanım 1.3 $s \in (0,1]$ bir reel sayı olsun. Eğer her $u, v \in [0, \infty)$ ve $t \in [0,1]$ için

$$f(tu + (1-t)v) \leq t^s f(u) + (1-t)^s f(v)$$

eşitsizliği sağlanıyorsa $f: [0, \infty) \rightarrow [0, \infty)$ fonksiyonuna s -konveks (ikinci anlamda) fonksiyon denir. Bu fonksiyonların sınıfı K_s^2 ile gösterilir (**Breckner, 1978**).

Tanım 1.4 $f: I \subset \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ bir fonksiyon olsun. Eğer f negatif olmayan bir fonksiyon ve her $u, v \in I$ ve $t \in (0,1)$ için

$$f(tu + (1-t)v) \leq \frac{f(u)}{t} + \frac{f(v)}{1-t}.$$

eşitsizliği sağlanıyorsa o zaman f fonksiyonuna bir Godunova-Levin fonksiyonu denir. Bu tip fonksiyonların sınıfı $Q(I)$ ile gösterilir (Godunova ve Levin, 1985).

Tanım 1.5 Eğer $f: I \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu negatif olmayan bir fonksiyon ve her $u, v \in I$ ve $t \in (0,1)$ için

$$f(tu + (1-t)v) \leq f(u) + f(v).$$

eşitsizliği sağlanırsa o zaman f fonksiyonuna bir P -function denir. Bu durumda f fonksiyonuna $P(I)$ sınıfına aittir denir (Dragomir ve ark., 1995).

Tanım 1.6 $h: J \subset \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ negatif olmayan bir fonksiyon olsun. Eğer $f: I \subset \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ negatif olmayan bir fonksiyon ve her $u, v \in I$ ve $t \in (0,1)$ için

$$f(tu + (1-t)v) \leq h(t)f(u) + h(1-t)f(v)$$

eşitsizliği sağlanırsa f fonksiyonuna h -konveks veya f 'ye $SX(h, I)$ sınıfına aittir denir.

Eğer yukarıdaki eşitsizlik tersine ise o zaman f fonksiyonu h -konkav olarak adlandırılır, yani $f \in SV(h, I)$ 'dir. Eğer $h(t) = t$ ise bu durumda negatif olmayan konveks fonksiyonların $SX(h, I)$ sınıfına ait olduğu ve her negatif olmayan konkav fonksiyonun $SV(h, I)$ sınıfına ait olduğu; eğer $h(t) = \frac{1}{t}$ ise bu durumda $SX(h, I) = Q(I)$ olduğu; eğer $h(t) = 1$ ise bu durumda $SX(h, I) \supseteq P(I)$ olduğu ve eğer $s \in (0,1)$ olmak üzere $h(t) = t^s$ ise bu durumda $SX(h, I) \supseteq K_s^2$ olduğu açıktır (Varošanec, 2007). Son zamanlarda literatürde, h -konveks fonksiyonlar, h -konkav fonksiyonlar, konvekslik ve konvekslik çeşitleri üzerine çeşitli uygulamalar, genelleştirmeler ve bunlarla ilgili bazı eşitsizlikleri içeren çok sayıda çalışmalar için Pečarić ve ark., 1992; Cerone ve ark., 2000; Dragomir ve Pearce, 2000; Hwang, 2003; Özdemir ve Kırmacı, 2003; Varošanec 2007; Sarıkaya ve ark., 2008; Set ve ark., 2010; Bai ve ark., 2012; Jiang ve ark., 2012; Özdemir ve Yıldız, 2013; Tunç, 2013; Xi ve Qi, 2013; Maden ve ark., 2017 kaynaklarına bakılabilir.

h -konveks fonksiyonlar için yazılmış olan Hermite-Hadamard eşitsizliği aşağıdaki teorem ile verilir:

Teorem 1.1 $\alpha < \beta$ olmak üzere $f \in SX(h, I)$, $\alpha, \beta \in I$ ve $f \in L_1([\alpha, \beta])$ olsun. O zaman

$$\frac{1}{2h\left(\frac{1}{2}\right)} f\left(\frac{\alpha + \beta}{2}\right) \leq \frac{1}{\beta - \alpha} \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \leq [f(\alpha) + f(\beta)] \int_0^1 h(\alpha) d\alpha.$$

eşitsizliği geçerlidir. Eğer bu eşitsizlikler tersine ise o zaman f fonksiyonu h -konkav olarak adlandırılır (Sarıkaya ve ark., 2008).

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu bölümde, esas sonuçları elde etmek için Maden ve ark., (2017) tarafından verilen aşağıdaki Lemma ile birlikte Hölder integral

$$\sum_{r=0}^{n-1} (-1)^r \left(\frac{f^{(r)}(\beta)\beta^{r+1} - f^{(r)}(\alpha)\alpha^{r+1}}{(r+1)!} \right) - \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx = \frac{(-1)^{n+1}}{n!} \int_{\alpha}^{\beta} x^n f^{(n)}(x) dx,$$

elde edilir.

Tanım 2.1 (Hölder İntegral Eşitsizliği) $p > 1$ ve $\frac{1}{p} + \frac{1}{q} = 1$ olsun. Eğer f ve g fonksiyonları $[\alpha, \beta]$ kapalı aralığında tanımlı reel değerli fonksiyonlar, $|f(x)|^p$ ve $|g(x)|^q$ fonksiyonları

$$\int_{\alpha}^{\beta} |f(x)g(x)| dx \leq \left(\int_{\alpha}^{\beta} |f(x)|^p dx \right)^{\frac{1}{p}} \left(\int_{\alpha}^{\beta} |g(x)|^q dx \right)^{\frac{1}{q}}$$

integral eşitsizliği geçerlidir (Mitrinović, 1970).

Tanım 2.2 (Power-Mean İntegral Eşitsizliği) $q \geq 1$ olsun. f ve g fonksiyonları $[\alpha, \beta]$ aralığında tanımlı ve integrallenebilir iki fonksiyon olsun. $|f(x)|$ ve $|g(x)|^q$ fonksiyonları

$$\int_{\alpha}^{\beta} |f(x)g(x)| dx \leq \left(\int_{\alpha}^{\beta} |f(x)| dx \right)^{1-\frac{1}{q}} \left(\int_{\alpha}^{\beta} |f(x)||g(x)|^q dx \right)^{\frac{1}{q}}$$

integral eşitsizliği geçerlidir (Mitrinović, ve ark., 1993).

Bu çalışmada bundan sonra kolaylık sağlaması açısından aşağıdaki notasyonları kullanacağız. $J = [0, \infty) \subset \mathbb{R} = (-\infty, +\infty)$ ve $0 < m < n$

eşitsizliği ve Power-mean integral eşitsizliği verilecektir.

Lemma 2.1 $n \in \mathbb{N}$ ve $f: I \subseteq \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu I° üzerinde n -kere diferansiyellenebilir bir fonksiyon ve $\alpha, \beta \in I^\circ$, $\alpha < \beta$ olmak üzere $f^{(n)} \in L[\alpha, \beta]$ olsun. Bu durumda

$[\alpha, \beta]$ aralığında integrallenebilen fonksiyonlar ise bu durumda

$[\alpha, \beta]$ aralığında integrallenebilen fonksiyonlar ise

olmak üzere $m, n \in J$ ve $f' \in L[m, n]$ ve $m, n > 0$ için

Aritmetik ortalama: $A(m, n) = \frac{m+n}{2}$,

Genelleştirilmiş Logaritmik Ortalama: $L_p(m, n) = \left(\frac{n^{p+1} - m^{p+1}}{(p+1)(n-m)} \right)^{\frac{1}{p}}$, $m \neq n, p \in \mathbb{R}, p \neq -1, 0$.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, I ve J 'nin \mathbb{R} üzerinde aralıklar, $(0,1) \subseteq J$ ve h ve f fonksiyonlarının sırasıyla I ve J aralıkları üzerinde tanımlı negatif olmayan fonksiyonlar, $h\left(\frac{1}{2}\right) \neq 0$ olduğu varsayılacaktır.

Özellikle belirtmek gerekir ki, özel durumlarda elde edilen sonuçlar aşağıdaki sonuçlara indirgenir:

i. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, $h(t) = t$ olması durumunda (Maden ve ark., 2017)'nin sonuçlarına indirgenir.

ii. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, $h(t) = 1$ olması durumunda (Kadalkal ve ark., 2017a)'nin sonuçlarına indirgenir.

iii. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, $h(t) = t^s$ olması durumunda (Kadalkal ve ark., 2017b)'nin sonuçlarına indirgenir.

iv. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, $h(t) = \frac{1}{t}$ olması durumunda (Kadalkal ve ark., 2017c)'nin sonuçlarına indirgenir.

Teorem 3.1 $n \in \mathbb{N}$ ve $f: I \subset [0, \infty) \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu I° üzerinde n -kere diferansiyellenebilir bir fonksiyon ve $\alpha, \beta \in I^\circ$, $\alpha < \beta$ olsun. Eğer $f^{(n)} \in L[\alpha, \beta]$ ve $q > 1$ için $|f^{(n)}|^q$ fonksiyonu $[\alpha, \beta]$ aralığı üzerinde h -konveks fonksiyon ise bu durumda

$$\left| \sum_{r=0}^{n-1} (-1)^r \left(\frac{f^{(r)}(\beta)\beta^{r+1} - f^{(r)}(\alpha)\alpha^{r+1}}{(r+1)!} \right) - \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \leq \frac{1}{n!} (2H)^{\frac{1}{q}} (\beta - \alpha) L_{np}^n(\alpha, \beta) A^{\frac{1}{q}} \left(|f^{(n)}(\alpha)|^q, |f^{(n)}(\beta)|^q \right)$$

eşitsizliği geçerlidir, burada, $H = \int_0^1 h(u) du$ dir.

İspat. Eğer $q > 1$ için $|f^{(n)}|^q$ fonksiyonu $[\alpha, \beta]$ aralığı üzerinde h -konveks fonksiyon ise Lemma 2.1, Hölder integral eşitsizliği ve

$$|f^{(n)}(x)|^q = \left| f^{(n)} \left(\frac{x-\alpha}{\beta-\alpha} \beta + \frac{\beta-x}{\beta-\alpha} \alpha \right) \right|^q \leq h \left(\frac{x-\alpha}{\beta-\alpha} \right) |f^{(n)}(\beta)|^q + h \left(\frac{\beta-x}{\beta-\alpha} \right) |f^{(n)}(\alpha)|^q,$$

eşitsizliği kullanılarak

$$\begin{aligned} & \left| \sum_{r=0}^{n-1} (-1)^r \left(\frac{f^{(r)}(\beta)\beta^{r+1} - f^{(r)}(\alpha)\alpha^{r+1}}{(r+1)!} \right) - \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \\ & \leq \frac{1}{n!} \int_{\alpha}^{\beta} x^n |f^{(n)}(x)| dx \\ & \leq \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^{np} dx \right)^{\frac{1}{p}} \left(\int_{\alpha}^{\beta} |f^{(n)}(x)|^q dx \right)^{\frac{1}{q}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&\leq \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^{np} dx \right)^{\frac{1}{p}} \left(\int_{\alpha}^{\beta} \left[h \left(\frac{x-\alpha}{\beta-\alpha} \right) |f^{(n)}(\beta)|^q + h \left(\frac{\beta-x}{\beta-\alpha} \right) |f^{(n)}(\alpha)|^q \right] dx \right)^{\frac{1}{q}} \\
&= \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^{np} dx \right)^{\frac{1}{p}} \left((\beta-\alpha) |f^{(n)}(\beta)|^q \int_0^1 h(t) dt + (\beta-\alpha) |f^{(n)}(\alpha)|^q \int_0^1 h(t) dt \right)^{\frac{1}{q}} \\
&= \frac{1}{n!} (\beta-\alpha)^{\frac{1}{p}} \left[\frac{\beta^{np+1} - \alpha^{np+1}}{(np+1)(\beta-\alpha)} \right]^{\frac{1}{p}} \left[2(\beta-\alpha) A(|f^{(n)}(\alpha)|^q, |f^{(n)}(\beta)|^q) H \right]^{\frac{1}{q}} \\
&= \frac{\beta-\alpha}{n!} (2H)^{\frac{1}{q}} L_{np}^n(\alpha, \beta) A^{\frac{1}{q}}(|f^{(n)}(\alpha)|^q, |f^{(n)}(\beta)|^q)
\end{aligned}$$

elde edilir.

Sonuç 3.1 $n = 1$ için Teorem 3.1'in şartlarını dikkate alarak aşağıdaki eşitsizlik elde edilir:

$$\left| \frac{f(\beta)\beta - f(\alpha)\alpha}{\beta - \alpha} - \frac{1}{\beta - \alpha} \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \leq (2H)^{\frac{1}{q}} L_p(\alpha, \beta) A^{\frac{1}{q}}(|f'(\alpha)|^q, |f'(\beta)|^q)$$

Teorem 3.2 $n \in \mathbb{N}$ ve $f: I \subset [0, \infty) \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu I° üzerinde n -kere diferansiyellenebilir bir fonksiyon ve $\alpha, \beta \in I^{\circ}$, $\alpha < \beta$ olsun. Eğer $f^{(n)} \in L[\alpha, \beta]$ ve $q \geq 1$ için

$|f^{(n)}|^q$ fonksiyonu $[\alpha, \beta]$ aralığı üzerinde h -konveks fonksiyon ise bu durumda aşağıdaki eşitsizlik geçerlidir:

$$\begin{aligned}
&\left| \sum_{r=0}^{n-1} (-1)^r \left(\frac{f^{(r)}(\beta)\beta^{r+1} - f^{(r)}(\alpha)\alpha^{r+1}}{(r+1)!} \right) - \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \\
&\leq \frac{1}{n!} (\beta-\alpha) L_n^{\frac{nq-1}{q}}(\alpha, \beta) \left[|f^{(n)}(\beta)|^q H_1(\alpha, \beta, n) + |f^{(n)}(\alpha)|^q H_2(\alpha, \beta, n) \right]^{\frac{1}{q}}.
\end{aligned}$$

Burada $p = 1 - \frac{1}{q}$ ve $p > 1$

$$\begin{aligned}
H_1(\alpha, \beta, n) &= \int_0^1 [t(\beta - \alpha) + \alpha]^n h(t) dt \\
H_2(\alpha, \beta, n) &= \int_0^1 [\beta - t(\beta - \alpha)]^n h(t) dt
\end{aligned}$$

dir.

İspat. Lemma 2.1 ve iyi bilinen Power mean integral eşitsizliğinden,

$$\begin{aligned}
 & \left| \sum_{r=0}^{n-1} (-1)^r \left(\frac{f^{(r)}(\beta)\beta^{r+1} - f^{(r)}(\alpha)\alpha^{r+1}}{(r+1)!} \right) - \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \\
 & \leq \frac{1}{n!} \int_{\alpha}^{\beta} x^n |f^{(n)}(x)| dx \\
 & \leq \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^n dx \right)^{1-\frac{1}{q}} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^n \left[h\left(\frac{x-\alpha}{\beta-\alpha}\right) |f^{(n)}(\beta)|^q + h\left(\frac{\beta-x}{\beta-\alpha}\right) |f^{(n)}(\alpha)|^q \right] dx \right)^{\frac{1}{q}} \\
 & = \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^n dx \right)^{1-\frac{1}{q}} \left(|f^{(n)}(\beta)|^q \int_{\alpha}^{\beta} x^n h\left(\frac{x-\alpha}{\beta-\alpha}\right) dx + |f^{(n)}(\alpha)|^q \int_{\alpha}^{\beta} x^n h\left(\frac{\beta-x}{\beta-\alpha}\right) dx \right)^{\frac{1}{q}} \\
 & = \frac{1}{n!} \left(\frac{\beta^{n+1} - \alpha^{n+1}}{n+1} \right)^{1-\frac{1}{q}} \left[(\beta-\alpha) |f^{(n)}(\beta)|^q H_1(\alpha, \beta, n) + (\beta-\alpha) |f^{(n)}(\alpha)|^q H_2(\alpha, \beta, n) \right]^{\frac{1}{q}} \\
 & = \frac{1}{n!} (\beta-\alpha) \left[\frac{\beta^{n+1} - \alpha^{n+1}}{(n+1)(\beta-\alpha)} \right]^{1-\frac{1}{q}} \left[|f^{(n)}(\beta)|^q H_1(\alpha, \beta, n) + |f^{(n)}(\alpha)|^q H_2(\alpha, \beta, n) \right]^{\frac{1}{q}} \\
 & = \frac{1}{n!} (\beta-\alpha) L_n^{\frac{q-1}{q}}(\alpha, \beta) \left[|f^{(n)}(\beta)|^q H_1(\alpha, \beta, n) + |f^{(n)}(\alpha)|^q H_2(\alpha, \beta, n) \right]^{\frac{1}{q}}
 \end{aligned}$$

elde edilir.

Sonuç 3.2 $n = 1$ için Teorem 3.2'in şartlarını dikkate alarak aşağıdaki eşitsizlik elde edilir:

$$\left| \frac{f(\beta)\beta - f(\alpha)\alpha}{\beta - \alpha} - \frac{1}{\beta - \alpha} \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \leq A^{\frac{q-1}{q}}(\alpha, \beta) \left[|f'(\beta)|^q H_1(\alpha, \beta, 1) + |f'(\alpha)|^q H_2(\alpha, \beta, 1) \right]^{\frac{1}{q}}$$

Sonuç 3.3 $q = 1$ için Sonuç 3.2'nin şartlarını dikkate alarak aşağıdaki eşitsizlik elde edilir:

$$\left| \frac{f(\beta)\beta - f(\alpha)\alpha}{\beta - \alpha} - \frac{1}{\beta - \alpha} \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \leq |f'(\beta)| H_1(\alpha, \beta, 1) + |f'(\alpha)| H_2(\alpha, \beta, 1).$$

Teorem 3.3 $n \in \mathbb{N}$ ve $f: I \subset [0, \infty) \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu I° üzerinde n -kere diferansiyellenebilir bir fonksiyon ve $\alpha, \beta \in I^\circ$, $\alpha < \beta$ olsun. Eğer $f^{(n)} \in L[\alpha, \beta]$ ve $q > 1$ için $|f^{(n)}|^q$ fonksiyonu $[\alpha, \beta]$ aralığı üzerinde *h*-konveks fonksiyon ise bu durumda aşağıdaki eşitsizlik geçerlidir:

$$\left| \sum_{r=0}^{n-1} (-1)^r \left(\frac{f^{(r)}(\beta)\beta^{r+1} - f^{(r)}(\alpha)\alpha^{r+1}}{(r+1)!} \right) - \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \leq \frac{\beta - \alpha}{n!} \left[|f^{(n)}(\beta)|^q H_3(\alpha, \beta, n, q) + |f^{(n)}(\alpha)|^q H_4(\alpha, \beta, n, q) \right]^{\frac{1}{q}}.$$

Burada,

$$H_3(\alpha, \beta, n, q) = \int_0^1 [t(\beta - \alpha) + \alpha]^{nq} h(t) dt,$$

$$H_4(\alpha, \beta, n, q) = \int_0^1 [\beta - t(\beta - \alpha)]^{nq} h(t) dt$$

gösterimleri kullanılmıştır.

İspat. Eğer $q > 1$ olmak üzere $|f^{(n)}|^q$ fonksiyonu $[\alpha, \beta]$ aralığı üzerinde *h*-konveks fonksiyon ise o zaman Lemma 2.1’i ve iyi bilinen Hölder integral eşitsizliğini uygulayarak aşağıdaki eşitsizlik elde edilir:

$$\left| \frac{(-1)^{n+1}}{n!} \int_{\alpha}^{\beta} x^n f^{(n)}(x) dx \right| \leq \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} 1^p dx \right)^{\frac{1}{p}} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^{nq} |f^{(n)}(x)|^q dx \right)^{\frac{1}{q}}$$

$$\leq \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} 1. dx \right)^{\frac{1}{p}} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^{nq} \left[h\left(\frac{x - \alpha}{\beta - \alpha}\right) |f^{(n)}(\beta)|^q + h\left(\frac{\beta - x}{\beta - \alpha}\right) |f^{(n)}(\alpha)|^q \right] dx \right)^{\frac{1}{q}}$$

$$= \frac{1}{n!} (\beta - \alpha)^{1 - \frac{1}{q}} \left[(\beta - \alpha) |f^{(n)}(\beta)|^q H_3(\alpha, \beta, n, q) + (\beta - \alpha) |f^{(n)}(\alpha)|^q H_4(\alpha, \beta, n, q) \right]^{\frac{1}{q}}$$

$$= \frac{1}{n!} (\beta - \alpha) \left[|f^{(n)}(\beta)|^q H_3(\alpha, \beta, n, q) + |f^{(n)}(\alpha)|^q H_4(\alpha, \beta, n, q) \right]^{\frac{1}{q}}.$$

Sonuç 3.4 $n = 1$ için Teorem 3.3’ün şartlarını dikkate alarak aşağıdaki eşitsizlik elde edilir:

$$\left| \frac{f(\beta)\beta - f(\alpha)\alpha}{\beta - \alpha} - \frac{1}{\beta - \alpha} \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \leq [|f'(\beta)|^q H_3(\alpha, \beta, 1, q) + |f'(\alpha)|^q H_4(\alpha, \beta, 1, q)]^{\frac{1}{q}}$$

Teorem 3.4 $n \in \mathbb{N}$ ve $f: (0, \infty) \subset \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ fonksiyonu n -kere diferansiyellenebilir bir fonksiyon ve $0 \leq \alpha < \beta$ olsun. Eğer $f^{(n)} \in L[\alpha, \beta]$ ve $q > 1$ için $|f^{(n)}|^q$ fonksiyonu $[\alpha, \beta]$ aralığı üzerinde *h*-konkav fonksiyon ise bu durumda aşağıdaki eşitsizlik geçerlidir:

$$\left| \sum_{r=0}^{n-1} (-1)^r \left(\frac{f^{(r)}(\beta)\beta^{r+1} - f^{(r)}(\alpha)\alpha^{r+1}}{(r+1)!} \right) - \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \\ \leq \frac{1}{n!} 2^{-\frac{1}{q}} (\beta - \alpha) \left[h\left(\frac{1}{2}\right) \right]^{-\frac{1}{q}} L_{np}^n(\alpha, \beta) \left| f^{(n)}\left(\frac{\alpha + \beta}{2}\right) \right|.$$

İspat. Eğer $q > 1$ için $|f^{(n)}|^q$ fonksiyonu $[\alpha, \beta]$ aralığında *h*-konkav fonksiyon ise bu durumda Lemma 2.1, *h*-konveks fonksiyonlar için yazılmış olan Hermite-Hadamard eşitsizliği ve

Hölder eşitsizliğini uygulayarak aşağıdaki eşitsizlik elde edilir:

$$\left| \sum_{r=0}^{n-1} (-1)^r \left(\frac{f^{(r)}(\beta)\beta^{r+1} - f^{(r)}(\alpha)\alpha^{r+1}}{(r+1)!} \right) - \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \\ \leq \frac{1}{n!} \int_{\alpha}^{\beta} x^n |f^{(n)}(x)| dx \\ \leq \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^{np} dx \right)^{\frac{1}{p}} \left(\int_{\alpha}^{\beta} |f^{(n)}(x)|^q dx \right)^{\frac{1}{q}} \\ \leq \frac{1}{n!} \left(\int_{\alpha}^{\beta} x^{np} dx \right)^{\frac{1}{p}} \left((\beta - \alpha) \frac{1}{2h\left(\frac{1}{2}\right)} \left| f^{(n)}\left(\frac{\alpha + \beta}{2}\right) \right|^q \right)^{\frac{1}{q}} \\ = \frac{2^{-\frac{1}{q}}}{n!} L_{np}^n(\alpha, \beta) (\beta - \alpha) \left[h\left(\frac{1}{2}\right) \right]^{-\frac{1}{q}} \left| f^{(n)}\left(\frac{\alpha + \beta}{2}\right) \right|.$$

Sonuç 3.5 $n = 1$ için Teorem 3.4'ün sonuçlarını dikkate alarak

$$\left| \frac{f(\beta)\beta - f(\alpha)\alpha}{\beta - \alpha} - \frac{1}{\beta - \alpha} \int_{\alpha}^{\beta} f(x) dx \right| \leq 2^{-\frac{1}{q}} \left[h\left(\frac{1}{2}\right) \right]^{-\frac{1}{q}} L_p(\alpha, \beta) \left| f'\left(\frac{\alpha + \beta}{2}\right) \right|.$$

eşitsizliği elde edilir.

SONUÇ

Bu çalışmada, *n*-kere türevlenebilen *h*-konveks ve *h*-konkav fonksiyonlar için integral eşitsizlikler elde edilmiştir. Benzer yöntem ve lemmalar kullanılarak, diğer konvekslik çeşitleri için de benzer çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Bai SP, Wang SH, Qi F, 2012. Some Hermite-Hadamard type inequalities for *n*-time differentiable (α, m) -convex functions. *Journal of Inequalities and Applications*, 2012:267.
- Breckner WW, 1978. Stetigkeitsaussagen für eine Klasse verallgemeinerter konvexer funktionen in topologischen linearen Raumen. *Publications de L'Institut Mathématique*, 23: 13-20.
- Cerone P, Dragomir SS, Roumeliotis J, Şunde J, 2000. A new generalization of the trapezoid formula for *n*-time differentiable mappings and applications. *Demonstratio Mathematica*, 33 (4): 719–736.
- Dragomir SS, Pečarić J, Persson LE, 1995. Some inequalities of Hadamard type. *Soochow Journal of Mathematics*, 21: 335-241.
- Dragomir SS, Pearce CEM, 2000. *Selected Topics on Hermite-Hadamard Inequalities and Applications*. RGMIA Monographs, Victoria University.
- Godunova EK, Levin VI, 1985. Neravenstva dlja funkcii širokogo klassa, soderzascego vypuklye, monotonnye i nekotorye drugie vidy funkii in: *Vycislitel. Mat. i. Fiz. Mezvuzov. Sb. Nauc. Trudov*, MGPI, Moskva, 138-142.
- Hwang DY, 2003. Some Inequalities for *n*-time Differentiable Mappings and Applications. *Kyungpook Mathematical Journal*, 43: 335–343.
- Jiang WD, Niu DW, Hua Y, Qi F, 2012. Generalizations of Hermite-Hadamard inequality to *n*-time differentiable function which are *s*-convex in the second sense. *Analysis (Munich)*, 32: 209–220.
- Kadakal H, Maden S, Kadakal M, İşcan İ, 2017. Some New Integral Inequalities for *n*-Times Differentiable *p*-Functions. 2nd International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences, 18-21 April 2017, Antalya.
- Kadakal H, Kadakal M, İşcan İ, 2017. Some new integral inequalities for *n*-times differentiable *s*-convex and *s*-concave functions in the second sense. *Mathematics and Statistic*, 5(2): 94-98.
- Kadakal H, Kadakal M, İşcan İ, 2017. Some New Integral Inequalities for *n*-Times Differentiable Godunova-Levin Functions. *Cumhuriyet Üniversitesi Sciences*, 38(4): Supplement 1-5.
- Maden S, Kadakal H, Kadakal M, İşcan İ, 2017. Some new integral inequalities for *n*-times differentiable convex and concave functions. *Journal of Nonlinear Sciences and Applications*, 10(2017): 6141–6148.
- Mitrinović DS, 1970. *Analytic Inequalities*, Springer-Verlag, Berlin, 404, New York.
- Mitrinović DS, Pečarić JE, Fink AM. 1993. *Classical and New Inequalities in Analysis*. Kluwer Academic Publishers, 740, UK.
- Özdemir ME, Kırmacı US, 2003. Two new theorem on mappings uniformly continuous and convex with applications to quadrature rules and means. *Applied Mathematics and Computation*, 143: 269–274.
- Özdemir ME, Yıldız Ç, 2013. New Inequalities for Hermite-Hadamard and Simpson Type with Applications. *Tamkang Journal of Mathematics*, 44(2): 209–216.
- Pečarić JE, Porschan F, Tong YL, 1992. *Convex Functions, Partial Orderings, and Statistical Applications*. Academic Press Inc.
- Sarıkaya MZ, Sağlam A, Yıldırım H, 2008. On Some Hadamard-Type Inequalities for *h*-Convex Functions. *Journal of Mathematical Inequalities*. Volume 2(3): 335–341.
- Set E, Özdemir ME, Dragomir SS, 2010. On Hadamard-Type Inequalities Involving Several Kinds of Convexity. *Journal of Inequalities and Applications*, 286845.
- Tunç M, 2013. Ostrowski-Type Inequalities via *h*-Convex Functions with Applications to Special Means. *Journal of Inequalities and Applications*, 2013:326.
- Varošanec S, 2007. On *h*-convexity. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 326: 303–311.
- Xi BY, Qi F, 2013. Some Inequalities of Hermite-Hadamard Type for *h*-Convex Functions. *Advances in Inequalities and Applications*, 2(1): 1-15

3-Boyutlu Minkowski Uzayında Timelike Binormalı Spacelike Eğrinin Tabii Liftini Asimptotik Kabul Eden Yüzey Ailesi

Evren ERGÜN¹

Ergin BAYRAM^{2*}

ÖZET: γ timelike binormalı spacelike bir eğri, $\bar{\gamma}$ ise γ nin tabii lifti olsun. Bu çalışmada, 3 boyutlu Minkowski uzayında $\bar{\gamma}$ yi ortak asimptotik eğri kabul eden yüzey ailesi elde edildi. $\bar{\gamma}$ nin oluşturulan yüzeyler üzerinde asimptotik eğri olması için gerekli şartlar bulundu. Bazı örnekler verildi.

Anahtar Kelimeler: Yüzey Ailesi, Tabii Lift, Asimptotik Eğri, 3-Boyutlu Minkowski Uzayı

Surface Family With a Common Natural Asymptotic Lift of a Spacelike Curve with Timelike Binormal in Minkowski 3-Space

ABSTRACT: Let γ be a spacelike curve with timelike binormal and $\bar{\gamma}$ be its natural lift. In this work, we find surfaces accepting $\bar{\gamma}$ as an asymptotic curve in \mathbb{R}_1^3 . We obtain sufficient constraints such that $\bar{\gamma}$ is an asymptotic curve on the constructed surface. We present some illustrative examples.

Keywords: Surface Family, Natural Lift, Asymptotic Curve, Minkowski 3-Space

¹ Evren ERGÜN (Orcid ID: 0000-0002-3831-5310), Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Çarşamba Ticaret Borsası Meslek Yüksekokulu, Samsun, Türkiye

² Ergin BAYRAM (Orcid ID: 0000-0003-2633-0991), Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Samsun, Türkiye

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ergin BAYRAM, e-mail: erginbayram@yahoo.com

GİRİŞ

Eğriler ve yüzeyler diferansiyel geometride uzun yıllardır çalışılan konulardır. Eğri ve yüzeyler birçok endüstriyel uygulamada kullanılmaktadır. Bu nedenle yüzey oluşturma problemleri, özel olarak, verilen bir eğriden geçen ve bu eğriyi özel eğri kabul eden yüzey bulma problemleri birçok bilim insanının ilgisini çekmektedir. Wang ve ark., (2004) bu tür problemi ilk olarak 2004 yılında ortaya atmıştır. Verilen bir eğriden geçen ve bu eğriyi ortak geodezik kabul eden yüzeyleri elde etmişlerdir. Kasap ve ark., (2008) ise Wang ve ark., tarafından kullanılan sapma fonksiyonlarını genelleştirerek daha genel bir ortak geodezikli yüzey ailesi elde etmiştir. 2011 yılında ise Li ve ark., (2011) ortak eğrilik çizgili yüzey ailesi için yeterli şartları sunmuştur. Ergün ve ark., (2014) ise Li ve ark., tarafından yapılan çalışmayı 3 boyutlu Minkowski uzayına taşımıştır. Ortak asimptotik eğrili yüzey ailesi Bayram ve ark., (2012) tarafından tanımlanmıştır. Ergün ve Bayram (2015) verilen

bir eğrinin tabii liftini ortak eğrilik çizgisi kabul eden yüzeyleri elde etmiştir. Ergün ve Bayram (2016) tabii liftin geodezik olması için yeterli koşulları elde etmiştir. Timelike eğrinin tabii liftini asimptotik eğri kabul eden yüzey ailesi ise Bayram ve Ergün (2016) tarafından tanımlanmıştır. Bu çalışmada ise yukarıdaki makaleler ışığında timelike binormalı spacelike eğrinin tabii liftini asimptotik eğri kabul eden yüzey ailesi için gerekli şartlar elde edildi.

MATERYAL VE YÖNTEM

Öncelikle, kullanılacak olan kavramlar tanıtılacaktır.

$U = (u_1, u_2, u_3) \in \mathbb{R}^3$ olmak üzere
 $\langle U, U \rangle = -u_1^2 + u_2^2 + u_3^2,$

Lorentz iç çarpımı ile donatılmış \mathbb{R}^3 vektör uzayına 3 boyutlu Minkowski uzayı denir ve \mathbb{R}_1^3 ile gösterilir.

$U = (u_1, u_2, u_3) \in \mathbb{R}_1^3$ vektörüne

$\langle U, U \rangle < 0$ ise timelike, $\langle U, U \rangle > 0$ veya $U = 0$ ise spacelike, $\langle U, U \rangle = 0$ ve $U \neq 0$ ise null denir (O'Neill, 1983). $U = (u_1, u_2, u_3)$, $V = (v_1, v_2, v_3) \in \mathbb{R}_1^3$ vektörleri için $\langle U, V \rangle = 0$ ise bu vektörlere ortogonal vektörler denir (Ratcliffe, 1994). U, V vektörlerinin Lorentz vektörel çarpımı

$$U \times V = \begin{vmatrix} \vec{e}_1 & \vec{e}_2 & \vec{e}_3 \\ u_1 & u_2 & u_3 \\ v_1 & v_2 & v_3 \end{vmatrix} = (u_2 v_3 - u_3 v_2, u_1 v_3 - u_3 v_1, u_2 v_1 - u_1 v_2)$$

şeklinde tanımlıdır (Önder ve Uğurlu, 2013). γ eğrisinin tanjant, asli normal ve binormal vektör alanı, sırasıyla, t, n, b olmak üzere $\{t(u), n(u), b(u)\}$ kümesine eğrinin Frenet çatısı denir. Eğrinin eğrilik ve burulması, sırasıyla, κ ve τ olmak üzere birim hızlı timelike bir eğri için

$$t \times n = -b, \quad n \times b = t, \quad b \times t = -n, \quad t' = \kappa n, \quad n' = \kappa t + \tau b, \quad b' = -\tau n,$$

spacelike binormalı spacelike bir eğri için

$$t \times n = -b, \quad n \times b = -t, \quad b \times t = n, \quad t' = \kappa n, \quad n' = \kappa t + \tau b, \quad b' = \tau n$$

timelike binormalı spacelike bir eğri için

$$t \times n = b, \quad n \times b = -t, \quad b \times t = -n, \quad t' = \kappa n, \quad n' = -\kappa t + \tau b, \quad b' = \tau n \text{ dir (Walrave, 1995).}$$

$R \subset \mathbb{R}_1^3$ bir yüzey ve $\gamma : I \rightarrow R$ bir eğri, U ise R üzerinde diferansiyellenebilir bir vektör alanı olmak üzere $\frac{d}{du}(\gamma(u)) = U(\gamma(u))$, ($\forall u \in I$), oluyorsa γ ya U vektör alanının bir integral eğrisi denir (O’neill, 1983). R nin p noktasındaki tanjant uzay $T_p R$ ve R nin tanjant vektör alanları uzayı $\chi(R)$ olmak üzere $TR = \bigcup_{p \in R} T_p R = \chi(R)$ dir. $\gamma : I \rightarrow R$ eğrisi için $\bar{\gamma}(u) = (\gamma(u), \gamma'(u)) = \gamma'(u)|_{\gamma(u)}$ şeklinde tanımlanan eğriye γ eğrisinin tabii lifti denir (Ergün ve Çalışkan, 2011).

$\gamma(u)$, $L_1 \leq u \leq L_2$, timelike binormalı spacelike eğri olsun. Bu durumda $\bar{\gamma}$ timelike veya spacelike binormalı spacelike eğri olur. γ nın $\{t(u), n(u), b(u)\}$ Frenet çatısı ile $\bar{\gamma}$ nin $\{\bar{t}(u), \bar{n}(u), \bar{b}(u)\}$ Frenet çatısı arasında aşağıdaki ilişki vardır

a) $\bar{\gamma}$ nin timelike binormalı spacelike eğri olması durumu;

i) γ nın Darboux vektörü timelike ise

$$\begin{pmatrix} \bar{t}(u) \\ \bar{n}(u) \\ \bar{b}(u) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 \\ -\cosh \theta & 0 & \sinh \theta \\ -\sinh \theta & 0 & \cosh \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} t(u) \\ n(u) \\ b(u) \end{pmatrix}. \quad (1)$$

ii) γ nın Darboux vektörü spacelike vektör ise

$$\begin{pmatrix} \bar{t}(u) \\ \bar{n}(u) \\ \bar{b}(u) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 \\ -\sinh \theta & 0 & \cosh \theta \\ -\cosh \theta & 0 & \sinh \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} t(u) \\ n(u) \\ b(u) \end{pmatrix}. \quad (2)$$

b) $\bar{\gamma}$ nin spacelike binormalı spacelike eğri olması durumu;

i) γ nın Darboux vektörü timelike vektör ise

$$\begin{pmatrix} \bar{t}(u) \\ \bar{n}(u) \\ \bar{b}(u) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 \\ -\cosh \theta & 0 & \sinh \theta \\ \sinh \theta & 0 & -\cosh \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} t(u) \\ n(u) \\ b(u) \end{pmatrix}. \quad (3)$$

ii) γ nın Darboux vektörü spacelike vektör ise

$$\begin{pmatrix} \bar{t}(u) \\ \bar{n}(u) \\ \bar{b}(u) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 \\ -\sinh \theta & 0 & \cosh \theta \\ \cosh \theta & 0 & -\sinh \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} t(u) \\ n(u) \\ b(u) \end{pmatrix}. \quad (4)$$

BULGULAR VE TARTIŞMA

$\gamma(u)$, $L_1 \leq u \leq L_2$, birim hızlı, $\|\gamma''(u)\| \neq 0$, $L_1 \leq u \leq L_2$, olan timelike binormalı spacelike bir eğri, $\bar{\gamma}(u)$, $L_1 \leq u \leq L_2$, ise $\gamma(u)$ nun tabii lifti olsun. Bu durumda $\bar{\gamma}$ spacelike bir eğridir. $\bar{\gamma}(u)$ den geçen yüzey ailesi

$$R(u, v) = \bar{\gamma}(u) + f(u, v)\bar{t}(u) + g(u, v)\bar{n}(u) + h(u, v)\bar{b}(u), \quad (5)$$

denklemleri ile verilir. $f(u, v)$, $g(u, v)$ ve $h(u, v)$ fonksiyonları C^1 sınıfından fonksiyonlar olup sapma fonksiyonları olarak adlandırılırlar. Ayrıca, $\{\bar{t}(u), \bar{n}(u), \bar{b}(u)\}$ $\bar{\gamma}$ tabii liftinin Frenet çatısıdır. Amacımız $R(u, v)$ yüzeyi üzerinde yer alan $\bar{\gamma}(u)$ tabii liftinin asimptotik ve parametrik eğri olması için şartları elde etmektir. $\bar{\gamma}(u)$ eğrisinin parametre eğrisi olması için yeterli koşul $v_0 \in [T_1, T_2]$ olmak üzere

$$f(u, v_0) = g(u, v_0) = h(u, v_0) \equiv 0, \quad L_1 \leq u \leq L_2, \quad T_1 \leq v_0 \leq T_2 \quad (6)$$

olmasıdır. Diğer taraftan bu eğrinin $R(u, v)$ yüzeyi üzerinde asimptotik eğri olması için yeterli şart yüzeyin normal vektör alanı $\hat{n}(u, v_0)$ ile eğrinin binormal vektör alanı $\bar{b}(u)$ nun paralel olmasıdır.

$$R(u, v) \text{ yüzeyinin normal vektör alanı } \hat{n}(u, v) = \frac{\partial R(u, v)}{\partial u} \times \frac{\partial R(u, v)}{\partial v} \text{ dir.} \quad (1-4)$$

denklemlerinden uygun olanları (5, 6) denklemlerinde yerine yazılırsa $\bar{\gamma}$ eğrisi boyunca $\hat{n}(u, v_0)$ vektör alanı aşağıdaki gibi elde edilir:

i) Timelike binormalı spacelike $\bar{\gamma}$ eğrisi ve spacelike veya timelike Darboux vektörü için

$$\hat{n}(u, v_0) = \kappa \left[\frac{\partial h}{\partial v}(u, v_0)\bar{n}(u) + \frac{\partial g}{\partial v}(u, v_0)\bar{b}(u) \right], \quad (7)$$

ii) Spacelike binormalı spacelike $\bar{\gamma}$ eğrisi ve spacelike veya timelike Darboux vektörü için

$$\hat{n}(u, v_0) = -\kappa \left[\frac{\partial h}{\partial v}(u, v_0)\bar{n}(u) + \frac{\partial g}{\partial v}(u, v_0)\bar{b}(u) \right] \quad (8)$$

dir. Burada κ, γ eğrisinin eğriliğidir. $\kappa(u) \neq 0$, $L_1 \leq u \leq L_2$, olduğundan $\bar{\gamma}$ eğrisinin $R(u, v)$ yüzeyi üzerinde asimptotik eğri olması için yeterli şart $\frac{\partial h}{\partial v}(u, v_0) \equiv 0$, $\frac{\partial g}{\partial v}(u, v_0) \neq 0$ olmasıdır. Böylece şu teorem ifade edilebilir:

Teorem : $\gamma(u)$, $L_1 \leq u \leq L_2$, birim hızlı, $\kappa \neq 0$ olan, timelike binormalı spacelike bir eğri ve $\bar{\gamma}(u)$, $L_1 \leq u \leq L_2$, ise bu eğrinin tabii lifti olsun. $\bar{\gamma}$ tabii liftinin (5) denklemi ile verilen yüzey üzerinde hem parametre eğrisi hem de asimptotik eğri olması için yeterli koşul $L_1 \leq u \leq L_2$, $T_1 \leq v$, $v_0 \leq T_2$ (v_0 sabit) olmak üzere

$$\begin{cases} f(u, v_0) = g(u, v_0) = h(u, v_0) = \frac{\partial h}{\partial v}(u, v_0) \equiv 0, \\ \frac{\partial g}{\partial v}(u, v_0) \neq 0, \end{cases} \quad (9)$$

olmasıdır.

Önerme : $\gamma(u)$, $L_1 \leq u \leq L_2$, birim hızlı, $\kappa \neq 0$ olan, timelike binormalı spacelike bir eğri ve $\bar{\gamma}(u)$, $L_1 \leq u \leq L_2$, ise bu eğrinin tabii lifti olsun. $L_1 \leq u \leq L_2$, $T_1 \leq v$, $v_0 \leq T_2$ (v_0 sabit) olmak üzere

eğer $f(u, v) = g(u, v) = v - v_0$, $h(u, v) \equiv 0$ veya $f(u, v) = h(u, v) \equiv 0$, $g(u, v) = v - v_0$, ise

(5) denklemi ile verilen yüzey $\bar{\gamma}$ tabii liftini asimptotik ve parametre eğrisi kabul eden regle yüzeydir.

İspat : Sapma fonksiyonları $f(u, v) = g(u, v) = v - v_0$, $h(u, v) \equiv 0$ veya $f(u, v) = h(u, v) \equiv 0$, $g(u, v) = v - v_0$ şeklinde alınırsa (5) denklemi ile verilen yüzey $R(u, v) = \bar{\gamma}(u) + (v - v_0)[\bar{t}(u) + \bar{n}(u)]$ veya $R(u, v) = \bar{\gamma}(u) + (v - v_0)\bar{n}(u)$ regle yüzeyine dönüşür.

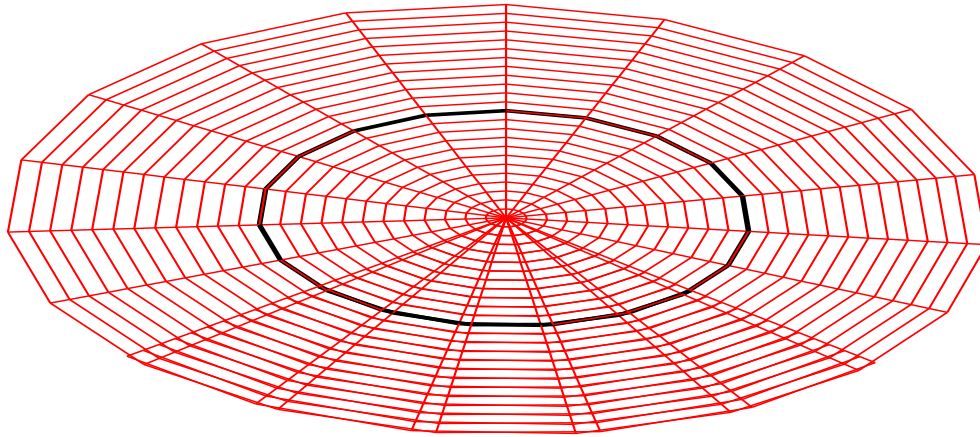
3 boyutlu Minkowski uzayında verilen timelike binormalı spacelike eğrinin tabii liftini asimptotik eğri kabul eden yüzeyler her zaman bulunabilir. (5) denkleminde yer alan Frenet vektörlerinin katsayı fonksiyonlarının her farklı seçilişinde aynı eğriden geçen ve bu eğriyi asimptotik eğri kabul eden farklı yüzeyler elde edilir. Bu çalışmanın, literatürde yer almayan bu tip eğri ve yüzeylerle ilgili yapılacak yeni çalışmalara yön göstermesi beklenmektedir.

Örnek 1

Timelike binormalı spacelike $\gamma(u) = (0, \cos u, \sin u)$ eğrisi verilsin. Eğrinin Frenet vektörleri $t(u) = (0, -\sin u, \cos u)$, $n(u) = (0, -\cos u, -\sin u)$, $b(u) = (1, 0, 0)$ dir.

γ nın tabii lifti $\bar{\gamma}(u) = (0, -\sin u, \cos u)$ timelike binormalı spacelike eğri olup Frenet vektörleri $\bar{t}(u) = (0, -\cos u, -\sin u)$, $\bar{n}(u) = (0, \sin u, -\cos u)$, $\bar{b}(u) = (1, 0, 0)$ dir. Sapma fonksiyonları

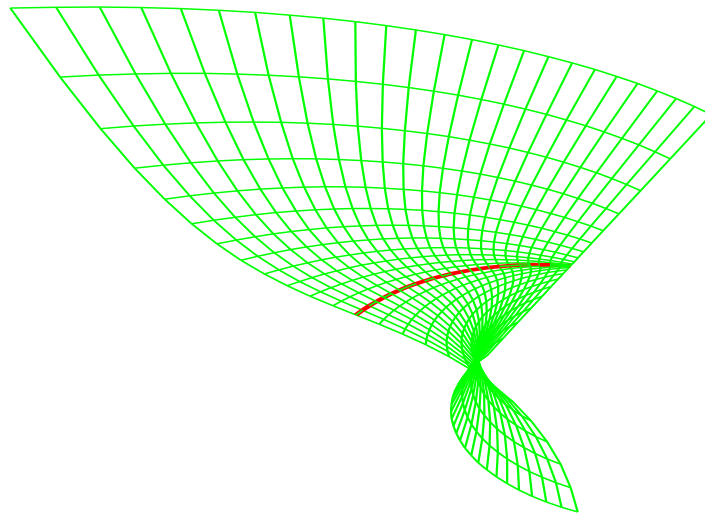
$f(u, v) = h(u, v) \equiv 0$, $g(u, v) = v$, şeklinde seçilirse önermede verilen şart sağlanır ve $\bar{\gamma}$ tabii liftini asimptotik eğri kabul eden $R_1(u, v) = (0, (1-v)\sin u, (1-v)\cos u)$, $-4 \leq u \leq 4$, $-1 \leq v \leq 1$, regle yüzeyi elde edilir (Şekil 1).



Şekil 1

Aynı eğri için sapma fonksiyonları $f(u, v) \equiv 0$, $g(u, v) = (\sinh u) \sinh v$, $h(u, v) = v - \sinh v$ şeklinde alınırsa teoremin şartları sağlanır ve $\bar{\gamma}$ tabii liftini asimptotik eğri kabul eden

$R_2(u, v) = (v - \sinh v, ((\sinh v)(\sinh u) - 1) \sin u, ((\sinh v)(\sinh u) - 1) \cos u)$, $0 < u \leq 1$, $-1 \leq v \leq 1$, yüzeyi elde edilir (Şekil 2).



Şekil 2

Örnek 2

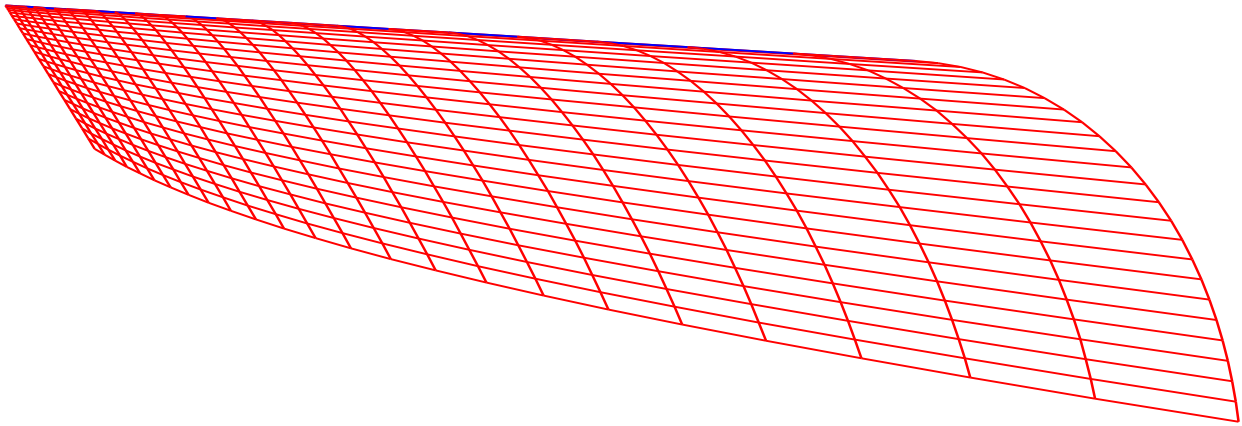
Timelike binormalı spacelike $\gamma(u) = \left(\frac{4}{9} \sinh 3u, \frac{4}{9} \cosh 3u, \frac{5}{3} u \right)$ eğrisi veriliyor. Eğrinin Frenet vektörleri

$$t(u) = \left(\frac{4}{3} \cosh 3u, \frac{4}{3} \sinh 3u, \frac{5}{3} \right), n(u) = (\sinh 3u, \cosh 3u, 0), b(u) = \left(-\frac{5}{3} \cosh 3u, \frac{5}{3} \sinh 3u, -\frac{4}{3} \right)$$

dir. Bu eğrinin tabii lifti $\bar{\gamma}(u) = \left(\frac{4}{3} \cosh 3u, \frac{4}{3} \sinh 3u, \frac{5}{3} \right)$ ve Frenet vektörleri

$$\bar{t}(u) = (\sinh 3u, \cosh 3u, 0), \bar{n}(u) = (\cosh 3u, \sinh 3u, 0), \bar{b}(u) = (0, 0, -1)$$

şeklindedir. Sapma fonksiyonları $f(u, v) \equiv 0$, $g(u, v) = v \ln u$, $h(u, v) = v^2 e^u$ olarak seçilirse önermede verilen şart sağlanır ve $\bar{\gamma}$ yi asimptotik eğri kabul eden $R_3(u, v) = \left(\left(\frac{4}{3} + v \ln u \right) \cosh 3u, \left(\frac{4}{3} + v \ln u \right) \sinh 3u, \frac{5}{3} - v^2 e^u \right)$, $1 < u \leq 2$, $0 \leq v \leq 1$ regle yüzeyi elde edilir (Şekil 3).



Şekil 3

SONUÇ

Bu çalışmada, 3 boyutlu Minkowski uzayında verilen timelike binormalı spacelike bir eğrinin tabii liftini asimptotik eğri kabul eden yüzey ailesi için şartlar elde edildi. İlk olarak, verilen herhangi bir timelike binormalı spacelike eğrinin tabii liftinin Frenet çatısı yardımıyla yüzey ailesi parametrik olarak ifade edildi. Daha sonra, tabii liftin elde edilen yüzeyler üzerinde asimptotik eğri olması için yeterli şartlar verildi. Son olarak, bu tip bir yüzeyin regle yüzey olması koşulu incelenerek örnekler verildi.

KAYNAKLAR

Bayram E, Güler F, Kasap E, 2012. Parametric representation of a surface pencil with a common asymptotic curve. *Comput. Aided Des.*, 44: 637-643.

Ergün E, Bayram E, Kasap E, 2014. Surface pencil with a common line of curvature in Minkowski 3-space. *Acta Math. Sin. (Engl. Ser.)*, 30 (12): 2103-2118.

Ergün E, Çalışkan M, 2011. On geodesic sprays In Minkowski 3-space. *Int. J. Contem. Math. Sci.*, 6, (39): 1929-1933.

Ergün E, Bayram E, Kasap E, 2015. Surface Pencil with a Common Natural Line of Curvature Lift. *Journal of Science and Arts*, 4 (33): 321-328.

Ergün E, Bayram E, 2016. Surface Family with a Common Natural Geodesic Lift. *International J.Math. Combin.*, 1: 34-41.

Bayram E, Ergün E, 2016. Surface Family with a Common Natural Asymptotic Lift of a Timelike Curve in Minkowski 3-space. *CBU Journal of Science*, 12 (2): 209-214.

- Kasap E, Akyıldız FT, Orbay K, 2008. A generalization of surfaces family with commonspatial geodesic. *Appl. Math. Comput.*, 201: 781-789.
- Li CY, Wang RH, Zhu CG, 2011. Parametric representation of a surface pencil with a common line of curvature. *Comput. Aided Des.*, 43 (9): 1110-1117.
- O'Neill B, 1983. *Semi-Riemannian Geometry With Applications to Relativity*. Academic Press, New York.
- Önder M, Uğurlu HH, 2013. Frenet frames and invariants of timelike ruled surfaces. *Ain Shams Engineering Journal*, 4: 502-513.
- Ratcliffe JG, 1994. *Foundations of Hyperbolic Manifolds*. Springer-Verlag, New York.
- Walrave J, 1995. *Curves and surfaces in Minkowski space*. PhD. Thesis, K. U. Leuven Faculteit Der Wetenschappen.
- Wang GJ, Tang K, Tai CL, 2004. Parametric representation of a surface pencil with a common spatial geodesic. *Comput. Aided Des.*, 36 (5): 447-59.

$QC(X)$ Üzerinde Yarı Kompakt-Açık Topoloji

İsmail OSMANOĞLU^{1*}

ÖZET: Bu makalede, Tychonoff X uzayının yarı kompakt alt kümeleri üzerinde sürekli olan tüm reel değerli fonksiyonların kümesi $QC(X)$ üzerindeki yarı kompakt-açık topoloji tanıtıldı. Daha sonra bu topolojinin metriklenebilirliği, tam metriklenebilirliği, ayrılabilirliği ve ikinci sayılabilirliği ayrıntılı olarak incelendi.

Anahtar Kelimeler: Fonksiyon uzayı, Metriklenebilirlik, Tam metriklenebilirlik, Ayrılabilirlik, İkinci sayılabilirlik

The Quasicompact-Open Topology on $QC(X)$

ABSTRACT: This paper introduces the quasicompact-open topology on the set $QC(X)$ of all realvalued functions defined on a Tychonoff space, which are continuous on quasicompact subsets of X . Then metrizable, complete metrizable, separability and second countability of this topology are studied in detail.

Keywords: *Function space, Metrizable, Completely metrizable, Separability, Second countable*

¹ İsmail OSMANOĞLU (**Orcid ID:** 0000-0002-1005-4075), Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü, Nevşehir, Türkiye

*Sorumlu Yazar: İsmail OSMANOĞLU, e-mail: ismailosmanoglu@yahoo.com

GİRİŞ

$C(X)$ kümesi üzerinde birçok topolojinin bulunduğu bilinen bir gerçektir. $C(X)$ üzerindeki topolojilerin başlıca sınıfları, küme-açık topolojiler ve düzgün topolojilerdir. Küme-açık topolojilerin en bilindikleri ise nokta-açık topoloji ve kompakt-açık topolojidir. Kompakt-açık topoloji ilk olarak Fox (1945) tarafından tanımlanmış, Arens ve Dugundji (Arens, 1946; Arens and Dugundji, 1951) tarafından geliştirilmiştir. Jackson (1952) bu topolojiyi kompakt kümeler üzerinde düzgün yakınsak fonksiyon dizileri tarafından elde etmiştir. Bu yüzden kompakt-açık topoloji, kompakt kümeler üzerinde düzgün yakınsaklık topolojisi olarak da bilinir. Ayrıca kompakt-açık topolojinin, düzgün yakınsaklık topolojisine denk olabilmesi için gerek ve yeter şartın uzayın kompakt olması gerektiğini göstermiştir. Kompaktlık güçlü bir koşul olduğundan bu iki topoloji arasında kayda değer bir araştırma alanı vardır. Son elli yıl içinde bu iki topoloji arasında pek çok topoloji tanımlanmıştır. Bazılarını σ -kompakt-açık (Gulick, 1992), sözde kompakt-açık (Kundu and Garg, 2016), C-kompakt-açık (Osipov, 2012), sınırlı-açık (Kundu and Raha, 1995) ve açık-açık topoloji (Porter, 1993) şeklinde sıralanabilir.

Bu çalışmada, bir Tychonoff X uzayının yarı kompakt alt kümeleri üzerinde sürekli olan tüm reel değerli fonksiyonların kümesi $QC(X)$ üzerindeki yarı kompakt-açık topoloji tanımlandı ve bu topolojinin metriklenebilirlik, tam metriklenebilirlik, ayrılabilirlik ve ikinci sayılabilirlik özellikleri incelendi.

Herhangi bir karışıklığa neden olmadığı sürece (X, τ) topolojik uzayını, X uzayı olarak ifade edeceğiz. Aksi açıkça belirtilmedikçe makale boyunca, tüm uzaylar Tychonoff (tam regüler Hausdorff) olduğu kabul edilecektir. X üzerinde tanımlı tüm reel değerli sürekli fonksiyonların kümesini $C(X)$ ile göstereceğiz. \mathbb{R} , üzerinde standart (alışılmış) topoloji ile ele

alınacaktır. X uzayının topolojisini $\tau(X)$ ile göstereceğiz. $\tau(Y)$ topolojisi $\tau(X)$ topolojisinden ince ise $\tau(X) \subset \tau(Y)$ gösterimi yerine $X < Y$ gösterimi kullanılacaktır. Son olarak, $C(X)$ deki sabit sıfır fonksiyonu f_0 ile gösterilecektir.

QUASİKOMPAKT-AÇIK TOPOLOJİ

Bu bölümde, $QC(X)$ üzerindeki yarı kompakt-açık topoloji tanımlanacak ve bazı eşdeğer tanımları verilecektir.

Tanım 2.1. X uzayında $A = \{x \in X : f(x) = 0\}$ olacak biçimde reel değerli sürekli f fonksiyonu varsa A kümesine sıfır küme denir. Sıfır kümenin tümleyenine tümleyeni sıfır küme (cozero-küme) denir.

Tanım 2.2. X uzayının her tümleyeni sıfır küme örtüsünün sonlu bir alt örtüsü varsa, X uzayına yarı kompakt uzay denir (Frolik, 1959).

Tanım 2.3. Her $f \in C(X)$ için $f(X)$ kümesi \mathbb{R} nin sınırlı bir alt kümesi ise X uzayına sözde kompakt uzay denir.

Herhangi bir kompakt uzay yarı kompakt, yarı kompakt uzay ise sözde kompaktır. Ayrıca yarı kompakt uzayın sürekli fonksiyon altındaki görüntüsü de yarı kompaktır (D'Aristotle, 1973).

Tanım 2.4. \mathbb{R}^X , X üzerinde tanımlı tüm reel değerli fonksiyonların kümesi olmak üzere, her $A \subseteq X$ yarı kompakt kümesi için $f|_A$ fonksiyonu sürekli ise $f \in \mathbb{R}^X$ fonksiyonuna q -sürekli fonksiyon denir. X üzerinde tanımlı tüm reel değerli q -sürekli fonksiyonların kümesini $QC(X)$ ile göstereceğiz.

Tanım 2.5. Her q -sürekli fonksiyonun sürekli olduğu uzaya q_f -uzay denir.

Teorem 2.6. $QC(X) = C(X)$ dır ancak ve ancak X uzayı q_f -uzaydır.

İspat. $QC(X) = C(X)$ ise X üzerinde tanımlı tüm reel değerli q -süreklili fonksiyonlar sürekli olacağından X uzayı q_f -uzaydır.

X uzayı q_f -uzay ise X üzerinde tanımlı tüm reel değerli q -süreklili fonksiyonlar süreklidir. Yani, $QC(X) \subseteq C(X)$ dir. Tersine sürekli bir fonksiyonun kısıtlama fonksiyonu da sürekli olacağından her sürekli fonksiyon q -süreklidir. Yani, $C(X) \subseteq QC(X)$ dir. Dolayısıyla $QC(X) = C(X)$ dir.

Önerme 2.7. α, X uzayının tüm yarı kompakt alt kümelerinin boştan farklı bir ailesi olsun. Her $A \in \alpha$ ve $V \in \tau(\mathbb{R})$ için,

$$S(A, V) = \{f \in QC(X) : f(A) \subseteq V\}$$

kümelerinin sınıfını $QC(X)$ üzerinde bir alt bazdır.

İspat. $\mathcal{A} = \{S(A, V) : A \in \alpha \text{ ve } V \in \tau(\mathbb{R})\}$ olsun. $A_1, A_2 \in \alpha$ ve $V_1, V_2 \in \tau(\mathbb{R})$ için \mathcal{A} sınıfının $S(A_1, V_1)$ ve $S(A_2, V_2)$ kümelerini göz önüne alalım.

$$S(A_1 \cup A_2, V_1 \cap V_2) = S(A_1, V_1 \cap V_2) \cap S(A_2, V_1 \cap V_2) \subseteq S(A_1, V_1) \cap S(A_2, V_2)$$

ve $A_1 \cup A_2 \in \alpha$ ve $V_1 \cap V_2 \in \tau(\mathbb{R})$ olduğundan $S(A_1 \cup A_2, V_1 \cap V_2) \in \mathcal{A}$ elde edilir. O halde \mathcal{A} sınıfı $QC(X)$ üzerinde bir topoloji için alt bazdır.

Tanım 2.8. Her $A \in \alpha$ ve $V \in \tau(\mathbb{R})$ için,

$$S(A, V) = \{f \in QC(X) : f(A) \subseteq V\}$$

kümelerinin sınıfını $QC(X)$ üzerinde bir alt baz kabul eden topolojiye yarı kompakt-açık topoloji denir ve bu uzay $QC_q(X)$ ile gösterilir.

Önerme 2.9. Her $A \in \alpha, f \in QC(X)$ ve $\varepsilon > 0$ için,

$$B_A(f, \varepsilon) = \{g \in QC(X) : \forall x \in X, |f(x) - g(x)| < \varepsilon\}$$

kümelerinin sınıfı $QC(X)$ üzerinde bir topoloji için bazdır.

İspat. $\mathfrak{B} = \{B_A(f, \varepsilon) : A \in \alpha, f \in QC(X) \text{ ve } \varepsilon > 0\}$ olsun. $f_1, f_2 \in QC(X)$ ve $\varepsilon_1, \varepsilon_2 > 0$ için \mathfrak{B} sınıfının $B_A(f_1, \varepsilon_1)$ ve $B_A(f_2, \varepsilon_2)$ kümelerini göz önüne alalım. $h \in B_A(f_1, \varepsilon_1) \cap B_A(f_2, \varepsilon_2)$ ise $x \in A$ için $|f_1(x) - h(x)| < \varepsilon_1$ ve $|f_2(x) - h(x)| < \varepsilon_2$ dir. Buradan $\varepsilon = \min\{\varepsilon_1, \varepsilon_2\}$ alırsak $B_A\left(h, \frac{\varepsilon}{2}\right) \subseteq B_A(f_1, \varepsilon_1) \cap B_A(f_2, \varepsilon_2)$ olduğu kolayca görülür. O halde \mathfrak{B} sınıfı $QC(X)$ üzerinde bir topoloji için bir bazdır.

Tanım 2.10. Her $A \in \alpha, f \in QC(X)$ ve $\varepsilon > 0$ için,

$$B_A(f, \varepsilon) = \{g \in QC(X) : \forall x \in X, |f(x) - g(x)| < \varepsilon\}$$

kümelerinin sınıfı $QC(X)$ üzerinde baz kabul eden topolojiye yarı kompakt kümeler üzerinde düzgün yakınsaklık topolojisi denir ve bu uzay $QC_{q,u}(X)$ ile gösterilir.

$QC(X)$ üzerindeki düzgün yakınsaklık topolojisini, metriği norma indirgeyerek de elde edebiliriz. Her $A \in \alpha$ ve $\varepsilon > 0$ için, $QC(X)$ üzerinde $p_A = \sup\{f(x): x \in X\}$ yarı normunu ve $V_{A,\varepsilon} = \{f \in QC(X): p_A(f) < \varepsilon\}$ kümesini tanımlayalım. $\mathcal{V} = \{V_{A,\varepsilon}: A \in \alpha \text{ ve } \varepsilon > 0\}$ olmak üzere, her $f \in QC(X)$ için $f + \mathcal{V} = \{f + V: V \in \mathcal{V}\}$ sınıfı f notasında yerel bazdır. Bu topoloji yarı normların sınıfı tarafından üretildiğinden yerel konvektir ve ayrıca $QC(X)$ üzerindeki yarı kompakt-açık topolojiyi ile aynıdır. Bu topolojinin Hausdorff olduğu kolayca gösterilebileceğinden $QC_q(X)$ yerel konveks Hausdorff'tur.

Teorem 2.11. Herhangi X uzayı için, $QC_q(X) = QC_{q,u}(X)$ dir.

İspat. $S(A, V)$, $QC_q(X)$ uzayında temel açık küme ve $f \in S(A, V)$ olsun. $f(A)$ yarı kompakt kümesi \mathbb{R} de kompakt ve $f(A) \subseteq V$ olduğundan $(f(A) - \varepsilon, f(A) + \varepsilon) \subseteq V$ olacak biçimde $\varepsilon > 0$ vardır (bkz. (Engelking, 1989) de Corollary 4.1.14). $g \in B_A(f, \varepsilon)$ ve $x \in A$ alırsak $g(x) \in (f(x) - \varepsilon, f(x) + \varepsilon)$ olur. O halde $g(A) \subseteq V$, yani $g \in S(A, V)$ dir. Dolayısıyla $B_A(f, \varepsilon) \subseteq S(A, V)$ elde edilir. Buradan $QC_q(X) \subseteq QC_{q,u}(X)$ olduğu görülür.

Tersine, $QC_{q,u}(X)$ uzayında f noktasının açık bir komşuluğu $B_A(f, \varepsilon)$ olsun. $f(A)$ kompakt olduğundan $f(A) \subseteq \bigcup_{i=1}^n (f(x_i) - \frac{\varepsilon}{3}, f(x_i) + \frac{\varepsilon}{3})$ olacak biçimde $f(A)$ kümesinde $f(x_1), f(x_2), \dots, f(x_n)$ noktaları vardır. $V_i = (f(x_i) - \frac{\varepsilon}{3}, f(x_i) + \frac{\varepsilon}{3})$ ve $W_i = (f(x_i) - \frac{\varepsilon}{3}, f(x_i) + \frac{2\varepsilon}{3})$ alalım. Burada $\bar{V}_i \subseteq W_i$ dir. Ayrıca $f(A) \subseteq \bigcup_{i=1}^n \bar{V}_i \subseteq \bigcup_{i=1}^n W_i$ dir. $A_i = A \cap f^{-1}(\bar{V}_i)$ alırsak A_i yarı kompakt ve $A = \bigcup_{i=1}^n A_i$ olduğu kolayca görülür. Buradan $f(A_i) \subseteq \bar{V}_i \subseteq W_i$ ve $f \in \bigcap_{i=1}^n S(A_i, W_i)$ dir. Şimdi $\bigcap_{i=1}^n S(A_i, W_i) \subseteq B_A(f, \varepsilon)$ olduğunu gösterelim. $g \in \bigcap_{i=1}^n S(A_i, W_i)$ ve $x \in A$ olsun. O halde $x \in A_i$ olacak biçimde bir i vardır ve sonuç olarak $f(x) \in \bar{V}_i$ ve $g(x) \in W_i$ dir. $|f(x) - g(x)| \leq |f(x) - f(x_i)| + |f(x_i) - g(x)| < \frac{\varepsilon}{3} + \frac{2\varepsilon}{3} = \varepsilon$ olduğundan $g \in B_A(f, \varepsilon)$ dir. Buradan $QC_{q,u}(X) \subseteq QC_q(X)$ olduğu görülür.

$C_q(X)$ ile gösterilen $C(X)$ üzerinde yarı kompakt-açık topoloji (Tokat and Osmanoglu, 2016) de tanımlanmıştır. $C(X) \subseteq QC(X)$ olduğundan $C_q(X)$ uzayı $QC_q(X)$ uzayının alt uzayıdır.

QC_q(X) UZAYININ METRİKLENEBİLİRLİĞİ VE TAM METRİKLENEBİLİRLİĞİ

Bu bölümde, $QC_q(X)$ uzayının metriklenebilirliği ve tam metriklenebilirliği incelenecektir. q-uzay ve hemiyarı kompakt uzay kavramlarını hatırlatmakla başlayalım.

Tanım 3.1. $x_n \in U_n$ için $\{x_n: n \in \mathbb{N}\}$ sınıfı bir yığılma noktasına sahip olacak biçimde x noktasının açık komşuluklarının $\{U_n: n \in \mathbb{N}\}$ sınıfı varsa X uzayına q-uzay denir (Siwec, 1975).

Tanım 3.2. X uzayının herhangi yarı kompakt A alt kümesi için $A \subseteq A_n$ olacak biçimde X uzayının yarı kompakt alt kümelerinin bir $\{A_n\}$ dizisi varsa X uzayına hemiyarı kompakt uzay denir (Tokat and Osmanoglu, 2016).

Teorem 3.3. Herhangi X uzayı için aşağıdaki ifadeler denktir.

1. $QCq(X)$ uzayı metriklenebilirdir.
2. $QCq(X)$ uzayı birinci sayılabilirdir.
3. $QCq(X)$ uzayı bir q-uzaydır.
4. X uzayı hemiyarı kompakttır.
5. $Cq(X)$ uzayı metriklenebilirdir.

İspat. (1) \Rightarrow (2) Herhangi bir metrik uzay birinci sayılabilir olduğundan kolayca görülür.

(2) \Rightarrow (3) Birinci sayılabilir uzay q-uzay (Siwiec, 1975) olduğundan kolayca görülür.

(3) \Rightarrow (4) $QCq(X)$ uzayı bir q-uzay olsun. O halde her n için $g_n \in U_n$ ise $\{g_n: n \in \mathbb{N}\}$ sınıfı $QCq(X)$ uzayında bir yığılma noktasına sahip olacak biçimde $QCq(X)$ uzayında f_0 sabit sıfır fonksiyonunun açık komşuluklarının $\{U_n: n \in \mathbb{N}\}$ sınıfı vardır. O zaman $f_0 \in B_{A_n}(f_0, \varepsilon_n) \subseteq U_n$ olacak biçimde her n için X uzayının yarı kompakt A_n alt kümesi ve $\varepsilon_n > 0$ mevcuttur. X uzayının herhangi yarı kompakt A alt kümesini alalım. A kümesi A_n kümesinin alt kümesi olmasın. O halde $a_n \in A \setminus A_n$ vardır. Buradan her $n \in \mathbb{N}$ için $g_n(a_n) = n$ ve $g_n(A_n) = \{0\}$ olacak biçimde $g_n: X \rightarrow \mathbb{R}$ sürekli fonksiyonu vardır. Buradan $g_n \in B_{A_n}(f_0, \varepsilon_n)$ dir. Ancak (g_n) dizisi $QCq(X)$ uzayında bir yığılma noktasına sahip değildir. Eğer bu dizini bir g yığılma noktası olduğunu kabul edersek her $k \in \mathbb{N}$ için $g_{n_k} \in B_A(g, 1)$ olacak biçimde $n_k > k$ pozitif tam sayısı vardır. Bu yüzden her $k \in \mathbb{N}$ için $g(a_{n_k}) > g_{n_k}(a_{n_k}) - 1 = n_k - 1 \geq k$ dir. Bu ise g fonksiyonun yarı kompakt A kümesi üzerinde sınırlı olmadığını gösterir. O halde (g_n) dizisi $QCq(X)$ uzayında bir yığılma noktasına sahip değildir. Bu durum $QCq(X)$ uzayının bir q-uzay olmasıyla çelişir. Dolayısıyla $A \subseteq A_n$ olmalıdır. Yani X uzayı hemiyarı kompakttır.

(4) \Leftrightarrow (5) $Cq(X)$ uzayı metriklenebilirdir ancak ve ancak X uzayı hemiyarı kompakttır (Tokat and Osmanoglu, 2016).

(5) \Rightarrow (1) X uzayı hemiyarı kompakt olsun. O halde X uzayındaki her yarı kompakt A kümesi için $A \subseteq A_n$ olacak biçimde bir yarı kompakt A_n kümesi vardır. Buradan $\{p_A: A \in QC(X)\}$ yarı normların sınıfı tarafından üretilen topoloji, $\{p_{A_n}: n \in \mathbb{N}\}$ yarı normların sayılabilir sınıfı tarafından üretilen topolojiden kabadır. Ayrıca biz biliyoruz ki yarı normların sayılabilir bir sınıfı tarafından üretilen yerel konveks Hausdorff topoloji metriklenebilirdir. (bk. (Taylor and Lay, 1980)). Dolayısıyla $QCq(X)$ uzayı metriklenebilirdir. ■

$QCq(X)$ uzayının tamlığını karakterize etmek için, aşağıdaki teoreme ihtiyacımız var.

Teorem 3.4. $QCq(X)$ uzayı tamdır ancak ve ancak X , q_f -uzaydır.

İspat. Herhangi yarı kompakt A alt kümesi ve $f \in C(X)$ için $f(A)$ kümesi \mathbb{R} nin sınırlı bir alt kümesidir. (Kundu and Raha, 1995) de Theorem 4.6 den dolayı $Cq(X)$ tamdır.

Teorem 3.5. Herhangi X uzayı için, $QCq(X)$ uzayı tamdır.

İspat. $QCq(X)$ uzayında bir Cauchy dizisi (f_n) olsun. X uzayının yarı kompakt A alt kümesi için $(f_n|_A)$ dizisi $QCq(A) = Cq(A)$ uzayında bir Cauchy dizisidir. Teorem 3.4 den $Cq(A)$ tam olduğundan $(f_n|_A)$ dizisi $Cq(A)$ uzayında f_A noktasına yakınsar. $x \in A$ için $f : X \rightarrow \mathbb{R}$, $f(x) = f_A(x)$ fonksiyonunu tanımlayalım. Burada f iyi tanımlı ve X uzayının her yarı kompakt A alt kümesi için $f|_A = f_A$ dır. O halde $f \in QC(X)$ olur. Buradan (f_n) Cauchy dizisinin f noktasına yakınsak olduğu görülür.

Tanım 3.6. Bir uzay tam ve metriklenebilir ise bu uzaya tam metriklenebilir uzay denir.

Sonuç 3.7. Herhangi bir X uzayı için, $QCq(X)$ uzayı tam metriklenebilirdir ancak ve ancak $QCq(X)$ uzayı metriklenebilirdir.

Sonuç 3.8. Herhangi X uzayı için aşağıdaki ifadeler denktir.

1. $QCq(X)$ uzayı tam metriklenebilirdir.
2. $QCq(X)$ uzayı metriklenebilirdir.
3. X uzayı hemiyarı kompaktır.

Sonuç 3.9. Herhangi X uzayı için aşağıdaki ifadeler denktir.

1. $Cq(X)$ uzayı tam metriklenebilirdir.
2. $Cq(X)$ uzayı metriklenebilirdir.
3. X uzayı hemiyarı kompakt q_f -uzaydır.

QCq(X) UZAYININ AYRILABİLİRLİĞİ VE İKİNCİ SAYILABİLİRLİĞİ

Bu bölümde, $QCq(X)$ uzayının ayrılabilirliği ve ikincisayılabilirliği incelenecektir. Öncesinde kozmik uzay, altmetriklenebilir uzay ve σ -yarı kompakt uzay kavramlarını hatırlatalım.

Tanım 4.1. X uzayının boştan farklı alt kümelerinin bir ailesi \mathcal{F} olmak üzere, her $x \in X$ ve x in her açık U komşuluğu için, $x \subseteq F \subseteq U$ olacak şekilde $F \in \mathcal{F}$ varsa \mathcal{F} ailesine ağ denir.

Tanım 4.2. Sayılabilir ağa sahip bir uzaya kozmik uzay denir.

Tanım 4.3. X uzayından bir metrik uzaya sürekli, birebir ve içine bir fonksiyon varsa X uzayına altmetriklenebilir denir. Yani, X uzayı bir metrik uzaya gömülebilir ise X uzayına altmetriklenebilir denir.

Tanım 4.4. $X = \bigcup_{n=1}^{\infty} A_n$ olacak biçimde X uzayının yarı kompakt alt kümelerinin bir $\{A_n\}$ dizisi varsa X uzayına σ -yarı kompakt uzay denir.

Önerme 4.5. Herhangi X uzayı için, $Cq(X)$ uzayı ayrılabilir ise X uzayı q_f -uzaydır.

İspat. $Cq(X)$ uzayı ayrılabilir ise (Tokat and Osmanoglu, 2016) de Theorem 3.10 den X uzayı altmetriklenebilirdir. O halde X uzayının her yarı kompakt A alt kümesi için $f|_A$ kısıtlama fonksiyonu sürekli dir. X uzayı tam regüler ve altmetriklenebilir olduğundan her yarı kompakt A alt kümesi kompaktır. O halde $f|_A$ nin $f : X \rightarrow \mathbb{R}$ genişleme fonksiyonu sürekli dir (Husain, 1977). Dolayısıyla X uzayı q_f -uzaydır.

Sonuç 4.6. X uzayı altmetriklenebilir ise X uzayı q_f -uzaydır.

Teorem 4.7. σ -yarı kompakt X uzayı için aşağıdaki ifadeler denktir

1. $Cq(X)$ uzayı ayrılabilirdir.
2. $QCq(X)$ uzayı ayrılabilirdir.
3. X uzayının her yarı kompakt alt uzayı metriklenebilirdir
4. X uzayı kozmiktir.
5. X uzayı altmetriklenebilirdir.

İspat. (1) \Rightarrow (2) $Cq(X)$ uzayı ayrılabilir ise Önerme 4.5 den X uzayı q_f -uzaydır. Yani, $C(X) = QC(X)$ dir. O halde $Cq(X)$ uzayı ayrılabilir ise $QCq(X)$ uzayı ayrılabilirdir.

(2) \Rightarrow (3) X uzayının A yarı kompakt alt kümesi için $QCq(A) = Cq(A)$ dir. Ayrıca $QCq(X)$ uzayı ayrılabilir olduğundan $Cq(X)$ uzayı ayrılabilirdir. O halde (Tokat and Osmanoglu, 2016) de Theorem 3.10 dan X uzayı altmetriklenebilirdir. Tam regüler, yarı kompakt ve altmetriklenebilir bir uzay metriklenebilir (McArthur, 1973) olacağından A metriklenebilirdir.

(3) \Rightarrow (4) X uzayı σ -yarı kompakt uzay olduğundan $X = \bigcup_{n=1}^{\infty} A_n$ olacak biçimde X uzayının yarı kompakt alt kümelerinin bir $\{A_n\}$ dizisi vardır. Her A_n metriklenebilir olduğundan kompaktır. Dolayısıyla her A_n ikinci sayılabilirdir. O halde her A_n , \mathfrak{B}_n sayılabilir ağma sahiptir. Buradan $\mathfrak{B} = \bigcup_{n=1}^{\infty} \mathfrak{B}_n$, X uzayı için sayılabilir ağdır. Dolayısıyla X uzayı kozmik uzaydır.

(4) \Rightarrow (5) (McCoy and Ntantu, 1988) de Theorem 4.3.4 den açıktır.

(5) \Rightarrow (1) (Engelking, 1989) de Example 3.8.C den X uzayı σ -yarı kompakt ve altmetriklenebilir uzaydır ancak ve ancak X uzayı ayrılabilir ve altmetriklenebilirdir. O halde (Tokat and Osmanoglu, 2016) de Theorem 3.10 den $Cq(X)$ uzayı ayrılabilirdir.

Teorem 4.8. Herhangi X uzayı için aşağıdaki ifadeler denktir.

1. $Cq(X)$ uzayı ikinci sayılabilirdir.
2. $QCq(X)$ uzayı ikinci sayılabilirdir.
3. X uzayı hemiyarı kompakt ve altmetriklenebilirdir.

İspat. (1) \Rightarrow (2) $Cq(X)$ uzayı ikinci sayılabilir ve ikinci sayılabilir uzay ayrılabilir olduğundan (Tokat and Osmanoglu, 2016) de Theorem 3.10 den X uzayı altmetriklenebilirdir. Sonuç 4.6 dan X uzayı q_f -uzaydır. Yani, $C(X) = QC(X)$ dir. O halde $Cq(X)$ uzayı ikinci sayılabilir ise $QCq(X)$ uzayı ikinci sayılabilirdir.

(2) \Rightarrow (3) $QCq(X)$ uzayı ikinci sayılabilir ise metriklenebilir ve dolayısıyla ayrılabilirdir. Teorem 3.3 den X uzayı hemiyarı kompakt ve Teorem 4.7 den X uzayı altmetriklenebilirdir.

(3) \Rightarrow (1) X uzayı hemiyarı kompakt ise (Tokat and Osmanoglu, 2016) de Theorem 3.8 den $Cq(X)$ uzayı metriklenebilirdir. Buradan X uzayı hemiyarı kompakt ve altmetriklenebilir ise X uzayı ayrılabilir ve altmetriklenebilir. (Tokat and Osmanoglu, 2016) de Theorem 3.10 den $Cq(X)$ uzayı ayrılabilirdir. Bu yüzden $Cq(X)$ uzayı ikinci sayılabilirdir.

KAYNAKLAR

- Arens R F, 1946. A topology for spaces of transformations. *Annals of Mathematics*. 47: 480–495.
- Arens R, Dugundji J, 1951. Topologies for function spaces. *Pacific Journal of Mathematics*. 1: 5–31.
- D'Aristotle A J, 1973. Quasicompactness and functionally Hausdorff spaces. *Journal of the Australian Mathematical Society*. 15(3): 319–324.
- Engelking R, 1989. *General Topology*, revised and completed ed. Heldermann Verlag, Berlin.
- Fox, R H, 1945. On topologies for function spaces. *Bulletin of the American Mathematical Society*. 51: 429–432.
- Frolik, Z, 1959. Generalization of compact and Lindelöf spaces. *Czechoslovak Mathematical Journal*. 13(84): 172–217 (Russian).
- Gulick, D, 1992. The σ -compact-open topology and its relatives. *Mathematica Scandinavica*. 30: 159–176.
- Husain T, 1977. *Topology and Maps*. Plenum Press, New York.
- Jackson J R, 1952. Comparison of topologies on function spaces. *Proc. Amer. Math. Soc.* 3: 156–158.
- Kundu S, Garg P, 2016. The pseudocompact-open topology on $C(X)$. *Topology Proceedings*. 30(1): 279–299.
- Kundu S, Raha A B, 1995. The bounded-open topology and its relatives. *Rendiconti dell'Istituto di Matematica dell'Università di Trieste*. 27: 61–77.
- McArthur W. G, 1973. G_δ -diagonals and metrization theorems. *Pacific Journal of Mathematics*. 44(2): 613-617.
- McCoy R A, Ntantu I, 1988. *Topological Properties of Spaces of Continuous Functions*. Springer-Verlag, Berlin.
- Osipov A V, 2012. The C-compact-open topology on function spaces. *Topology and its Applications*. 159: 3059–3066.
- Porter K F, 1993. The open-open topology for function spaces. *International Journal of Mathematics and Mathematical Sciences*. 16 (1): 111–116.
- Siwec F, 1975. Generalizations of the first axiom of countability. *Rocky Mountain J. Math.* 5(1): 1-60.
- Taylor A. E, Lay D. C, 1980. *Introduction to Functional Analysis*, 2nd ed.. John Wiley and Sons, New York.
- Tokat D, Osmanoglu I, 2016. Some properties of the quasicompact-open topology on $C(X)$. *Journal of Nonlinear Sciences and Applications*. 9: 3511–3518.

Determination of Genetic Diversity in *Apodemus mystacinus* (Mammalia: Rodentia) based on SSRs

Gül OLGUN KARACAN^{1*}, Dilek BETEŞ²

ABSTRACT: The aim of this study is to determine the genetic diversity of species in Rocky mouse, *Apodemus mystacinus*, using SSR (the simple sequence repeat) loci and to reveal the reasons of this variations, if any. In this study, 69 *A. mystacinus* samples were studied collected from 18 localities in Turkey. 7 SSR loci were used to determine the genetic diversity of *A. mystacinus*. As a result of this study, *A. mystacinus* includes 2 genetic groups that indicate the presence of two subspecies as *A. m. mystacinus* that is distributed in western Anatolia and *A. m. euxinus* in eastern Anatolia. This result also supports that one of the micro refugium areas is eastern Turkey and the other western and southern Turkey.

Keywords: *Apodemus mystacinus*, microsatellite, Turkey

Apodemus mystacinus'un (Mammalia: Rodentia) Genetik Çeşitliliğinin SSR ile Belirlenmesi

ÖZET: Bu çalışmanın amacı, SSR (basit dizi tekrarları) lokuslarını kullanarak kayalık faresinin, *Apodemus mystacinus*, genetik çeşitliliğini belirlemek ve varsa bu çeşitliliğin nedenleri ortaya koymaktır. Bu çalışmada, Türkiye'deki 18 lokaliteden toplanan 69 *A. mystacinus* örneği çalışılmıştır. *A. mystacinus*'un genetik çeşitliliğini belirlemek için 7 SSR lokusu kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonucuna göre *A. mystacinus*, iki alttürün varlığını gösteren 2 genetik grup içermektedir; Anadolu'nun batısında *A. m. mystacinus* ve Anadolu'nun doğusunda *A. m. euxinus*. Bu sonuç aynı zamanda mikro sığınak alanlarından birinin Türkiye'nin doğusunda, diğerinin ise batısında ve güneyinde olduğunu desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: *Apodemus mystacinus*, mikrosatellit, Türkiye

¹Gül OLGUN KARACAN (Orcid ID: 0000-0002-7160-5766), Aksaray Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Yüksekokulu, 68000, Aksaray, Türkiye

²Dilek Beteş (Orcid ID: 0000-0002-3380-5804), Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06000, Ankara, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Gül Olgun Karacan, e-mail: glogun@gmail.com

Bu çalışma Ankara üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü Birimi tarafından (BAP: 14B0430001) desteklenmiş olup, 5-8 Temmuz 2017 tarihleri arasında Belarus'ta düzenlenmiş olan SEAB2017 isimli kongrede sözlü sunum olarak sunulmuştur. Ayrıca 21-23 Ekim 2016 tarihinde Konya'da düzenlenmiş olan International conference on Biological Sciences isimli kongrede poster olarak tebliğ edilmiştir.

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makale yer alan hayvan deneyi için "Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu"nun Tarih: 30.10.2013 Toplantı No 2013-19, Dosya No: 2013-117 ve Karar No:2013-19-142 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

Geliş tarihi / Received:26.03.2018
Kabul tarihi / Accepted:22.12.2018

INTRODUCTION

The rocky mouse, *Apodemus mystacinus*, is one of the rodent species widely distributed in Turkey. This species lives in rocky areas covered with forests reaching up to a height of 2700 m (Çolak et al., 2004). *A. mystacinus* can be easily separated from the other European *Apodemus* by different characters such as its larger body size and dark grey fur coloration (Michaux et al., 2005).

Although four subspecies were described as *A. m. mystacinus* Danford and Alston (1877) from Sebil, Turkey; *A. m. smyrnensis* Thomas (1903) from western Turkey; *A. m. rhodius* Festa (1914) from Rhodes and Crete; and *A. m. euxinus* Allen (1915) from Altindere, Turkey, the distribution areas and the validities of these subspecies are controversial.

According to some authors, *A. m. smyrnensis* is one of the subspecies that lives in western Anatolia (Çolak et al., 2007; Olgun et al., 2009; Olgun Karacan et al., 2015). Neuhauser (1936) reported that *A. m. smyrnensis* was distributed in western Turkey and in the Taurus mountains using morphological data. Çolak et al. (2007) suggested that İzmir, Aydın and Bursa specimens of *A. mystacinus* were different from the other specimens collected from Anatolia based on esterase variations and researchers claimed that these western specimens might be *A. m. smyrnensis*. The differentiation of the specimens that was distributed in western Turkey was supported using RAPD (Olgun et al., 2009) and mtDNA-RFLP (Olgun Karacan et al., 2015) variations. On the other hand, some researchers have claimed that *A. m. smyrnensis* is synonymous with *A. m. mystacinus* based on morphological, biometrical, karyological, studies and bacular, phallic differentiations (Ellerman, 1948; Ellerman and Morrison-Scott, 1951; Çolak et al., 2004).

The other controversial subspecies is *A. m. euxinus* (Allen, 1915), and while some studies

indicated that northern or northeastern Anatolia is the distribution area of this subspecies using morphological data (Neuhauser, 1936) and esterase variations (Çolak et al., 2007), others claimed the homogeneity of northeastern and eastern Anatolian populations depend on biometric measurements (Çolak et al., 2004) and genetic data Olgun et al., 2009; Olgun Karacan et al., 2015).

Michaux et al. (2005) has revealed that there is a different lineage that is distributed in southwestern Turkey and Crete using molecular data, and researchers has called these specimens as *A. m. rhodius*. Similarly, Olgun et al. (2009) has showed two different lineages in western Turkey based on RAPD markers, and one of them has included Muğla specimens in the southwestern part. However, the validity of *A. m. rhodius* hasn't been supported by morphological (Ellerman, 1948; Vohralik et al., 2002; Çolak et al., 2004) and mtDNA-RFLP studies (Olgun Karacan et al., 2015).

Major fluctuations in the climate during late Pliocene and Pleistocene have affected populations (Hewitt, 1996). Also, the formation of biodiversity is directly related to climate change (Ficetola et al., 2017). Jandzik et al. (2018) have claimed that the climatic changes that occurred during the Pleistocene played important roles in shaping the diversity of Western Palaearctic biota and its present distribution. The refuges of the glacial periods during Pleistocene are the most important factors that clarify the biogeographic patterns in present day in Europe (Schmitt, 2007; Svenning and Skov, 2007). Turkey is one of the refugia including mountain ranges such as Anatolian Diagonal, and Taurus and Black Sea mountains and many seaways (Black, Aegean, and Mediterranean seas) that inhibited gene flow between populations (Bilgin, 2011). Especially, Anatolian Diagonal has acted as an important biogeographical barrier by dividing the lines or species into eastern and western parts (Hewitt,

1999, 2000; Veith et al., 2003; Çıplak, 2003, 2004; Mutun, 2010; Bilgin, 2011; Plötnner et al., 2010; Kapli et al., 2013; Özdemir et al., 2014; Allegrucci et al., 2017; Riemsdijk et al., 2017; Yiğit et al., 2017).

DNA phylogenies may particularly be useful to present lineages, subspecies, and species (Hewitt, 1996). Animal mtDNA and nuclear genes are useful tools to understand the evolutionary history of these lineages, especially in Pleistocene (Avise et al., 1998; Michaux et al., 2002, 2003, 2004; Jaarola et al., 2004; Suzuki et al., 2003, 2004, 2008; Hewitt 2004; Deffontaine et al., 2005, 2009; Macholan et al., 2007; Hürner et al., 2010; Avise and Tatarenkov, 2012; Çolak et al., 2016). Microsatellite has high polymorphism, high and rapid mutation rate ($10^{-3} - 10^{-4}$) and small repetitive regions in genome and they are preferred to reveal differentiations between closer populations (Chiappero et al., 2011; Burgos-Pas et al., 2011; Gortat et al., 2013). Thus, in the present study we used

microsatellites: (1) to determine the relationships among *A. mystacinus* specimens in Turkey, (2) to define the validity of the subspecies, (3) to explain the reasons of the speciation in *A. mystacinus*.

MATERIAL AND METHODS

A total of 69 specimens were collected from 18 different Turkish localities (Figure 1). Total DNA was extracted from kidneys by CTAB method (Doyle and Doyle 1991). The 7 microsatellites primers (GTTD8S, GTTF9A, GACAA12A, GACAD1A, GATAE10A, GTTD9A, MSAF-8) were chosen to amplify (Gockel et al., 1997; Makova et al., 1998). Primers were labelled by using 2 different fluorescent dyes, HEX and 6-FAM. Polymerase chain reaction (PCR) were carried out in final volumes of 25ul with 80 ng of the DNA samples (Çolak et al., 2016).

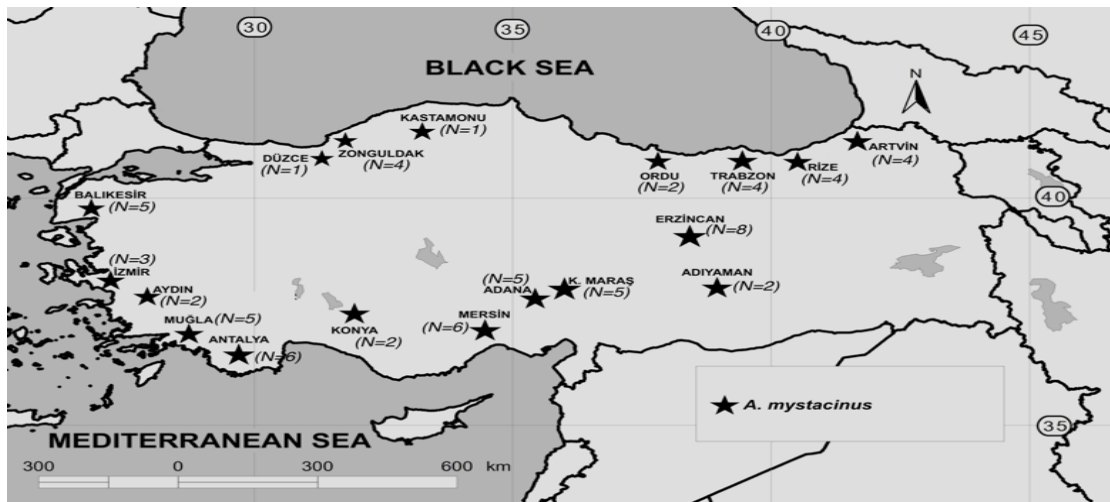


Figure 1. Collected areas and the number of specimens (N)

Amplification of microsatellite loci was performed as: an initial denaturation step at 94 °C for 3 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 1 min, annealing at 55-60 °C for 30-45 s, and extension at 72 °C for 45 s-1 min. After PCR, products were visualized on 2% agarose gel and analysed on an ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Electropherograms were evaluated using the Applied Biosystems Peak Scanner program (<http://www.appliedbiosystems.com>).

Firstly, microsatellite profiles were tested for the presence of null alleles to eliminate the scoring errors with FreeNA software (Chapuis and Estoup, 2007). Genetic polymorphism within specimens was determined as the mean

number of alleles per locus (A), polymorphic loci (P%), and observed (H_o) and expected heterozygosity (H_e) using GENETIX software version 4.05.2 (Belkhir et al., 2004). This program was also used to calculate allelic richness (AR). In addition, genetic structure was examined using the factorial correspondence analyses (FCA) of individual differentiation in GENETIX software. Private alleles and frequencies are calculated with GenAlex 6.5 (Peakal and Smouse, 2012). The degrees of genetic differentiation (F_{ST}) values and genetic distance (D_C) (Cavalli-Sforza and Edwards, 1967) among groups were analysed using FreeNA software. Neighbour-Joining (NJ) tree was constructed by MEGA 6.06 software using genetic distance data (D_C) (Tamura et al., 2013). The Analysis of Molecular Variance (AMOVA) test was executed for 2 different groupings on phylogenetic tree using ARLEQUIN v. 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010). Bayesian structure analysis was run using STRUCTURE 2.1 (Pritchard et al., 2000; Falush et al., 2007). The result of STRUCTURE software was K that was indicated the number of populations calculated by allele frequencies.

RESULTS AND DISCUSSION

Initially, to determine the reliability of the microsatellite data set, the null (silent) allele frequencies for each population and locus were calculated. 0.2 and above are considered as invalid since the frequency values (r) will create

problems for statistical analysis. Therefore, we didn't use the 4.7% of the performed tests (six out of 126) for the analysis.

The analysis of 7 microsatellite loci in 69 *A. mystacinus*, from 18 locations showed low levels of variability. The mean number of alleles (A) ranged from 1.00 (Kastamonu) to 2.8571 (Erzincan) and allelic richness (AR) from 7.00 (Kastamonu) to 9.78 (Erzincan) (Table 1).

H_o and H_e values were almost the same at different localities. The observed and expected heterozygosity values varied from 0.00 (Kastamonu) to 0.2857 (Ordu) and 0.00 (Kastamonu) to 0.3713 (Erzincan) (Table 1). The mean number of polymorphic loci (P%), and observed (H_o) and expected heterozygosity (H_e) were found to be significantly different between two groups. Besides, heterozygosity was higher than expected, that we might suspect an isolate-breaking effect (the mixing of two previously isolated populations) between the eastern and western groups of *A. mystacinus*.

Genetic relationships among populations were calculated by pairwise F_{ST} . The F_{ST} values ranged from -0.1185 (between Düzce and İzmir) to 0.7261 (between Konya and Kastamonu). F_{ST} values were indicated the possibility of 2 subpopulations among all samples. The number of clusters (K) varied from K= 1 to 7, the highest number of clusters supporting these two subpopulations was 2 (Figure 2).

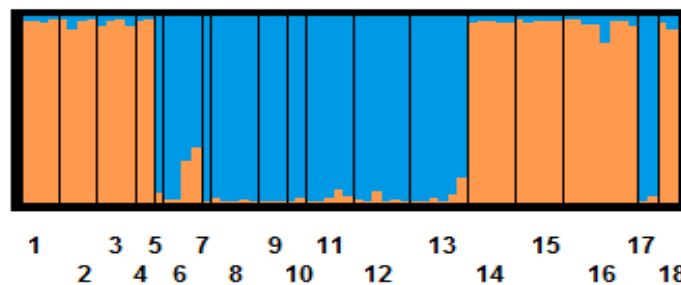


Figure 2. Bayesian structure analysis of individual genotypes in *A. mystacinus* samples* *1: Artvin. 2: Rize. 3: Trabzon. 4: Ordu. 5: Kastamonu. 6: Zonguldak. 7: Düzce. 8: Balıkesir. 9: İzmir. 10: Aydın. 11: Muğla. 12: Antalya. 13: Mersin. 14: Adana. 15: Maraş. 16: Erzincan. 17: Konya. 18: Adıyaman

Table 1. The overall level of variability in the 18 localities.

Group	Location	He	H	Ho	P	A	np	AR
1 East	Ardanuç-Artvin	0.2659	0.3088	0.381	0.5714	1.8571	0	8.465
	Çamlıhemşin-Rize	0.2679	0.3061	0.4286	0.5714	1.7143	0	9.000
	Altındere-Trabzon	0.2589	0.2959	0.3214	0.5714	1.7143	0	8.467
	Gürgentepe-Ordu	0.2857	0.381	0.5	0.5714	1.7143	0	9.032
	Feke-Adana	0.3571	0.3968	0.4286	0.5714	2.5714	0	9.500
	Püren Geçidi-Kahramanmaraş	0.3057	0.3397	0.4	0.5714	2.1429	0.1	9.756
	Kemaliye-Erzincan	0.3713	0.3971	0.3699	0.8571	2.8571	0	9.780
	Nemrut-Adıyaman	0.2857	0.381	0.4286	0.5714	1.7143	0	9.697
	Kastamonu	0	0	0	0	1	0	7
Mean		0.266	0.311	0.362	0.540	1.80	0.011	9.182
2 West	Zonguldak	0.183	0.2092	0.1786	0.4286	1.7143	0	9.000
	Akçakoca-Düzce	0.1429	0.2857	0.2857	0.2857	1.2857	0	8.467
	Kaz Dağı-Balıkesir	0.1886	0.2095	0.2571	0.2857	1.8571	0	9.032
	Kemalpaşa-İzmir	0.2361	0.2905	0.2143	0.7143	1.7143	0	9.500
	Buharkent-Aydın	0.2679	0.3571	0.2857	0.5714	1.7143	0	9.756
	Köyceğiz-Muğla	0.3543	0.3937	0.3714	0.7143	2.7143	0.1	8.000
	Beyşehir-Konya	0.1071	0.1429	0.1429	0.2857	1.2857	0	9.697
	Çığılıkara Milli Parkı-Antalya	0.3532	0.3853	0.2619	0.7143	2.4286	0	9.531
	Sebil-Mersin	0.3313	0.3615	0.2143	0.7143	2.5714	0.083	9.049
Mean		0.270	0.327	0.285	0.583	2.232	0.021	9.115

The phylogenetic analyses and the FCA indicate the existence of two lineages of rocky mouse in Turkey (Figure 3 and 4). The first lineage (the western Turkey) includes the specimens from Kastamonu, Zonguldak, Düzce, Balıkesir, İzmir, Aydın, Muğla, Konya, Antalya and Mersin. The second one (the eastern Turkey) comprises the specimens of Artvin, Rize,

Trabzon, Ordu, Adana, Kahramanmaraş, Erzincan and Adıyaman. These lineages indicate two subspecies of *A. mystacinus* in the literature as: *A. m. mystacinus* (western Turkey) and *A. m. euxinus* (eastern Turkey). The SSR loci weren't useful to support the validity of *A. m. smyrnensis* that was claimed to live in western Turkey.

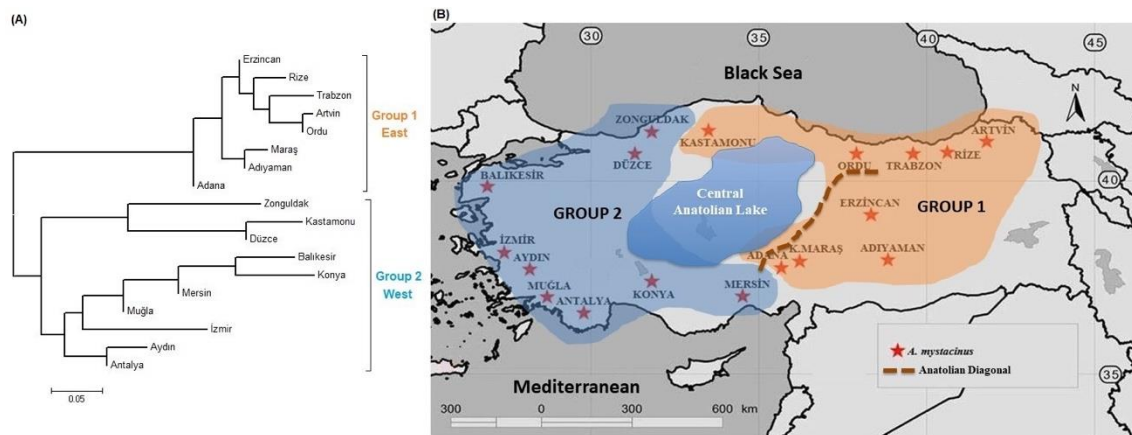


Figure 3. The unrooted Neighbour-Joining tree (A), and the distribution patterns and the isolation barriers of the groups in Anatolia (B)

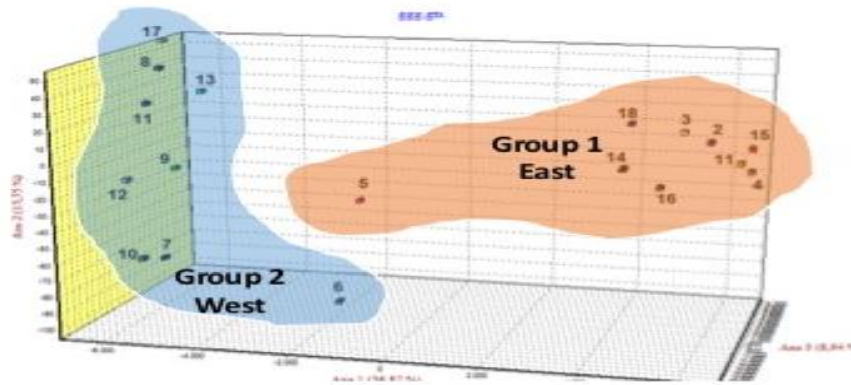


Figure 4. The Factorial Correspondence Analysis of *A. mystacinus* indicated two Turkish groups

Two of 4 new private alleles were determined in the Group 2 (western turkey) (Table 2). The less frequency of private alleles in *A. mystacinus* groups ($5\% <$) indicate the high level of gene flow. Besides, AMOVA displayed these two major groups of *A. mystacinus* namely the most

percentage of variations were shared among groups (29.63%) while it was low within groups (10.16%) (Table 3). This result also indicate that the ongoing gene flow between two *A. mystacinus* subpopulations.

Table 2. Distribution and the frequencies of the private alleles

Population	Loci	Allele	Frequency
Muğla	GTTD9A	201	0.100
Mersin	GTTD9A	205	0.083
Kahramanmaraş	GTTF9A	102	0.100
Kahramanmaraş	GACAD1A	150	0.100

Table 3. Analysis of molecular variance between *A. mystacinus* subpopulations

Source of variation	DF*	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation (%)
Among groups	1	41.178	0.55442 Va	29.63
Among populations within groups	16	40.649	0.19011 Vb	10.16
Within groups	120	135.158	1.12632 Vc	60.2
Total	137	216.986	1.87085	

Fixation index

F_{ST} 0.39796 V_c (P = 0.00000+-0.00000)

F_{SC} 0.14441 V_b (P = 0.00000+-0.00000)

F_{CT} 0.29635 V_a (P = 0.00000+-0.00000)

In this study, we exhibit that the rocky mouse has two lineages and also support the existence of regional variations or refuge areas as western and eastern in Anatolia. Two possible reason could cause this genetic differentiation: the central Anatolian Lake and the Anatolian Diagonal. One of the reasons of these regional variations could be the existence of the central

Anatolian lake during the Pliocene (Figure 3). This lake system partitioned Anatolia and this might have interrupted the gene flow among populations around. Additionally, the effect of the Kızılırmak Delta, that was connected with central Anatolian lake system in Pliocene (5.3-2.6 Mya), on gene flow among *A. mystacinus* specimens was presented using *Cytb* gene and

RFLP markers (Olgun Karacan PhD thesis, 2013; Olgun Karacan et al., 2015).

The other potential reason is the Anatolian Diagonal extends from northeastern Turkey (Bayburt, Gumushane close) to southwestward and is divided into two branches toward the Mediterranean: Central Taurus Mountains and the Nur Mountains (Gür, 2017). This mountain range is a physical and an ecological barrier between populations in East-West side of it (Gündüz et al., 2007; Mutun, 2010, 2016; Mutun and Atay, 2015; Gür, 2016). Furthermore, Gündüz et al., (2007), found that the two phlogroups of the Anatolian squirrel were located on the Anatolian Diagonal, and that these two phylogroups were likely to have occupied the LGM refuges around the Anatolian Diagonal. Similarly, Mutun (2016) revealed that there were glacial refuges on both sides of the Anatolian Diagonal. In this study, it has been shown that the Anatolian Diagonal serves as a barrier in separating the two lineages of *A. mystacinus* (Figure 3). Regions where genetic diversity is high could be considered as a refuge area that the populations could survive during glacial periods in Pleistocene (Hewitt, 1996; Michaux et al., 2005). Climate and vegetation changes during Plio-Pleistocene caused cooling down and drought in the Mediterranean. Different habitats in low places functioned as glacial refuges and populations in these refuges were differentiated into new lineages during interglacial period. (Hewitt, 1996). Kosswigg (1955), suggested two Anatolian glacial refugia, one in western Anatolia and one in eastern Anatolia, based on non-genetic data. These regional variations was also supported by the genetic and morphometric studies on some animals distributed in Turkey like small mammals and amphibians (Çıplak, 2004; Fritz et al., 2009; Gvozdik et al., 2010; Çolak et al., 2016; İbiş et al., 2017; Gür et al., 2017; Şeker et al., 2018). Gvozdik et al. (2010) revealed that the Anatolian and Caucasus–Caspian were an

important Pleistocene refuge for *H. orientalis*. Also, phylogeographic and demographic data suggest Anatolia as an ancient glacial refuge for turtles (Fritz et al. 2009). Furthermore, the existence of different micro refugium areas especially in the Black Sea region were also demonstrated (Fritz et al., 2009). Çıplak (2004), indicated that southern Anatolia was a refuge for *Anterastes* populations. Çolak et al. (2016) presented the regional refuges in northern Anatolia. Gür et al. (2017) showed that the Taurus Mountains served as a refuge where the grand squirrels of the inhabitants moved to the higher latitudes in warm periods since the Last Glacial Maxima. Moreover, Şeker et al. (2018) has considered Anatolia as a potential glacial refuge in Pleistocene because of the high genetic variability in Turkish water vole populations. In this context, Adana and Erzincan specimens from the eastern side of diagonal and Antalya and Muğla specimens from the western side of the diagonal show higher genetic variability than from the other specimens indicate that these regions might be the potential refuge areas (Table 1).

CONCLUSION

Thus, we achieved two important results in this study: One is the subspeciation of *A. mystacinus*: the SSR loci show the validity of only two subspecies distribute in Turkey: *A. m. mystacinus* and *A. m. euxinus*. The other important result is the supporting the presence of glacial refugium areas in Turkey using SSR loci. More information about the central Anatolian specimens will also help us to clarify rocky mouse distribution and subspeciation process or the hybrid zones where the refugium specimens make contact refugium in Anatolia in future.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Ankara University, Scientific Research Projects Coordination Unit (BAPRO: 14B0430001). We

would like to thank to Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK and Prof. Dr. Ercüment ÇOLAK for sharing their valuable contributions, equipments and collecting specimens in this study.

REFERENCES

- Allegrucci G, Ketmaier V, Di Russo C, Rampini M, Sbordoni V, Cobolli M, 2017. Molecular phylogeography of *Troglophilus cave* crickets (Orthoptera, Rhabdophoridae): A combination of vicariance and dispersal drove diversification in the East Mediterranean region. *Journal of Zoological Systematic and Evolutionary Research*, 55: 310–325.
- Avise JC, Tatarenkov A, 2012. Allard's argument versus Baker's contention for the adaptive significance of selfing in a hermaphroditic fish. *Proceedings of the National Academics and Science*, 109: 18862-18867.
- Avise JC, Walker D, Johns GC, 1998. Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings Biological Science*, 265: 1707–1712.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, et Bonhomme F, 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la genetique des populations. Universite de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bilgin R, 2011. Back to the Suture: The distribution of genetic diversity in and around Anatolia. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 4080-4103.
- Burgos-Paz W, Ceron-Munoz M, SolartePortilla C, 2011. Genetic diversity and population structure of the Guinea pig (*Cavia porcellus*, Rodentia, Caviidae) in Colombia. *Genetics and Molecular Biology*, 34: 711-718.
- Cavalli-Sforza LL, Edwards AWF, 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, 21: 550-570.
- Chapuis MP, Estoup A, 2007. Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24(3): 621-631.
- Chiappero MB, Panzetta-Dutari GM, Gómez D, Castillo E, Polop JJ, Gardenal CN, 2011. Contrasting genetic structure of urban and rural populations of the wild rodent *Calomys musculus* (Cricetidae, Sigmodontinae). *Mammalian Biology*, 76: 41–50.
- Çıplak B, 2003. Distribution of Tettigoniinae (Orthoptera, Tettigoniidae) bushcrickets in Turkey: the importance of the Anatolian Taurus Mountains in biodiversity and implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*, 12: 47–64.
- Çıplak B, 2004. Biogeography of anatolia: the marker group orthoptera. *Memorie della Societa Entomologica Italiana*, 82: 357–372.
- Çolak E, Yiğit N, Çolak R, Sözen M, Özkurt Ş, Kankılıç T, 2004. Taxonomic Status and Distribution of *Apodemus mystacinus* (Danford and Alston, 1877) (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 28: 285-294.
- Çolak R, Kandemir İ, Çolak E, Yiğit N, 2007. Esterase Variation in Rocky Mouse, *Apodemus mystacinus* (Danford and alston, 1877) (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Acta Zoologica Bulgarica*, 59 (1): 47-52.
- Çolak R, Olgun Karacan G, Kandemir İ, Çolak E, Kankılıç T, Yiğit N, Michaux J, 2016. Genetic variations of Turkish bank vole, *Myodes glareolus* (Mammalia: Rodentia) inferred from mtDNA. *Mitochondrial DNA*, 27(6): 4372-4379.
- Deffontaine V, Ledevin R, Fontaine MC, Quéré J-, Renaud S, Libois R, Michaux JR, 2009. Relict bank vole lineage highlights the biogeographic history of the Pyrenean region in Europe. *Molecular Ecology*, 18: 2489–2502.
- Deffontaine V, Libois R, Kotlik P, 2005. Beyond the Mediterranean peninsulas: Evidence of Central European glacial refugia for a temperate forest mammal species, the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Molecular Ecology*, 14: 1727–1739.
- Doyle JJ, Doyle JL, 1991. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12 (1): 13-15.
- Ellerman JR, 1948. Key to The Rodents of Southwest Asia in the British Museum Collection. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 118: 765-816.
- Ellerman, JR, Morrison-Scott TCS, 1951. Checklist of Palearctic and Indian Mammals. London: British Museum of National History.
- Excoffier L, Lischer H EL, 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.

- Falush D, Stephens M, Pritchard JK, 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, 7(4): 574-578.
- Ficetola GF, Mazel F, Thuiller W, 2017. Global determinants of zoogeographical boundaries. *Nature Ecology and Evolution*, 1: 0089.
- Fritz U, Ayaz D, Hundsdoerfer AK, Kotenko T, Guicking D, Wink M, Tok V, Çiçek K, Buschbom J, 2009. Mitochondrial diversity of European pond turtles (*Emys orbicularis*) in Anatolia and Ponto-Caspian Region: Multiple old refuges, hotspot of extant diversification and critically endangered endemics. *Organisms Diversity and Evolution*, 9: 100-114.
- Gockel J, Harr B, Schlötterer C, Arnold W, Gerlach G, Tautz D, 1997. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Apodemus flavicollis* (rodentia, muridae) and *Clethrionomys glareolus* (Rodentia, Cricetidae). *Molecular Ecology*, 6: 597-599.
- Gortat T, Rutkowski R, Gryczynska-Siemiatkowska A, Kozakiewicz A, Kozakiewicz M, 2013. Genetic structure in urban and rural populations of *Apodemus agrarius* in Poland. *Mammalian Biology*, 78: 171-177.
- Gündüz I, Jaarola M, Tez C, Yenyurt C, Polly PD, Searle JB, 2007. Multigenic and morphometric differentiation of ground squirrels (*Spermophilus*, *Sciuridae*, *Rodentia*) in Turkey, with a description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43: 3-6.
- Gür H, 2016. The Anatolian diagonal revisited: Testing the ecological basis of a biogeographic boundary. *Zoology in the Middle East*, 62:189-199.
- Gür H, 2017. Anadolu diyagonalı: Bir biyocoğrafi sınırın anatomisi. *Kebikeç, İnsan Bilimleri İçin Kaynak Araştırmaları Dergisi*, 43: 177-187.
- Gür H, Perktas U, Gür MK, 2017. Do climate-driven altitudinal range shifts explain the intraspecific diversification of a narrow ranging montane mammal, Taurus ground squirrels? *Mammal Research*, 63:1-15.
- Gvozdik V, Moravec, Klütsch C, Kotlik P, 2010. Phylogeography of the Middle Eastern tree frogs (*Hyla*, *Hylidae*, *Amphibia*) as inferred from nuclear and mitochondrial DNA variation, with a description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 1146-1166.
- Hewitt G, 1996. Some genetic consequence of ice ages, and their role in diverging and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58: 247-276.
- Hewitt GM, 1999. Post-glacial recolonisation of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58: 87-112.
- Hewitt GM, 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405: 907-913.
- Hewitt GM, 2004. The structure of biodiversity – insights from molecular phylogeography. *Frontiers in Zoology*, 1: 4.
- Hurner H, Krystufek B, Sara M, Ribas A, Ruc T., Sommer R, 2010. Mitochondrial phylogeography of the edible dormouse (*Glis glis*) in the western Palearctic region. *Journal of Mammalogy*, 91(1): 233-242.
- İbiş O, Koepfli K-P, Özcan S, Tez C, 2018. Genetic analysis of Turkish martens: Do two species of the genus *Martes* occur in Anatolia? *Zoologica Scripta*, 47: 390-403.
- Jaarola M, Martinkova N, Gündüz İ, Brunhoff C, Zima J, Nadachowski A. et al., 2004. Molecular phylogeny of the speciose vole genus *Microtus* (*Arvicolinae*, *Rodentia*) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33: 647-663.
- Jandzik D, Jablonski D, Zinenko O, Kukushkin OV, Moravec J, Gvozdik V, 2018. Pleistocene extinctions and recent expansions in an anguid lizard of the genus *Pseudopus*. *Zoologica Scripta*, 47:21-32.
- Kapli K, Botoni D, Ilgaz Ç, Kumlutaş Y, Avc A, Rastegar-Pouyani N, Fathinia B, Lymberakis P, Ahmadzadeh F, Poulakakis N, 2013. Molecular phylogeny and historical biogeography of the Anatolian lizard *Apathya* (*Squamata*, *Lacertidae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 66: 992-1001.

- Kosswig C, 1955. Zoogeography of the Near East. *Systematical Zoology*, 4: 49–73.
- Macholan M, Munclinger P, Sugerkova M, Dufkova P, Bimova B, Bozikova E, Zima J, Pialek J, 2007. Genetic Analysis Of Autosomal And X-Linked Markers Across A Mouse Hybrid Zone. *Evolution*, 61(4): 746–771.
- Makova KD, Patton JC, Chesser RK, Krysanov EYu, Baker RJ, 1998. Microsatellite markers in wood mouse and striped field mouse (genus *Apodemus*). *Molecular Ecology*, 7: 247-248.
- Michaux J, Bellinva E, Lymberakis P, 2005. Taxonomy, evolutionary history and biogeography of the broad-toothed field mouse (*Apodemus mystacinus*) in the eastern Mediterranean area based on mitochondrial and nuclear genes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85: 53–63.
- Michaux JR, Chevret P, Filippucci MG, Macholan M, 2002. Phylogeny of the genus *Apodemus* with a special emphasis on the subgenus *Sylvaemus* using the nuclear IRBP gene and two mitochondrial markers: cytochrome b and 12S rRNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23: 123–136.
- Michaux JR, Filippucci M-G, Libois R, 2004. Phylogeographic history of the yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) in Europe and in the Near and Middle East. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32: 188–198.
- Michaux JR, Magnanou E, Paradis E, Nieberding C, Libois RM, 2003. Mitochondrial phylogeography of the woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region. *Molecular Ecology*, 12: 685–697.
- Mutun S, 2010. Intraspecific Genetic Variation and Phylogeography of the Oak Gallwasp *Andricus caputmedusae* (Hymenoptera: Cynipidae): Effects of the Anatolian Diagonal. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 56: 153–172.
- Mutun S, 2016. Molecular diversity and phylogeography of *Andricus curtisii* (Hymenoptera, Cynipidae) in Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 67: 74-85.
- Mutun S, Gamze A, 2015. Phylogeography of *Trigonaspis synaspis* (Hymenoptera: Cynipidae) from Anatolia based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *European Journal of Entomology*, 112: 259–269.
- Neuhauser G, 1936. Die Muriden von Kleinasien. *Zeitschrift für Säugetierkd*, 11: 161-236.
- Olgun G, Çolak R, Kandemir İ, Çolak E, Yiğit N, 2009. Genetic variation in Rocky Mouse, *Apodemus mystacinus* (Danford & Alston 1877) (Mammalia: Rodentia) in Turkey. *Acta Zoologica Bulgarica*, 61(2): 123-129.
- Olgun Karacan G, 2013. Türkiye’deki *Apodemus mystacinus* (Mammalia: Rodentia)’un Mtdna (sitokrom b ve kontrol bölgesi) RFLP ve DNA dizi analizi. Ankara University Institute of Science and Technology, PhD Thesis (Unpublished).
- Olgun Karacan G, Çolak R, Çolak E, 2015. Determination of genetic variations between *Apodemus mystacinus* populations distributed in Turkey inferred from mtDNA PCR–RFLP. *Turkish Journal of Zoology*, 39: 630-642.
- Özdemir N, Gül S, Poyarkov NA, Kutrup B, Tosunoğlu M, Doglio S, 2014. Molecular systematics and phylogeography of *Bufotes variabilis*(syn. *Pseudepidalea variabilis*) (Pallas, 1769) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38: 412-420.
- Peakall R, Smouse PE, 2012. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.
- Plötner J, Uzzell T, Beerli P, Akın Ç, Bilgin CC, Haefeli C, Ohst T, Köhler F, Schreiber R, Guex G-D, Litvinchuk AN, Westaway R, Reyer H-U, Hotz H, 2010. Genetic divergence and evolution of reproductive isolation in eastern Mediterranean water frogs, pp. 372-403. In M. Glaubrecht & H. Schneider (eds.), *Evolution in action. Case studies in adaptive radiation and the origin of biodiversity. Special volume from the SPP 1127 “Radiations – Genesis of Biological Diversity”* of the DFG. Heidelberg, Berlin: Springer.

- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P, 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155(2): 945-959.
- Riemsdijk I, Arntzen JW, Bogaerts S, Franzen M, Litvinchuk SN, Kurtuluş O, Wielstra B, 2017. The Near East as a cradle of biodiversity: A phylogeography of banded newts (genus *Ommatotriton*) reveals extensive inter- and intraspecific genetic differentiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 114: 73–81.
- Schmitt T, 2007. Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in Zoology*, 4:11.
- Suzuki H, Filippucci MG, Chelomina GN, Sato JJ, Serizawa K, Nevo E, 2008. A biogeographic view of *Apodemus* in Asia and Europe inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *Biochemical Genetics*, 46: 329–346.
- Suzuki H, Sato JJ, Tsuchiya K, Luo J, Zhang Y-P, Wang Y-X, Jiang X-L, 2003. Molecular phylogeny of wood mice (*Apodemus*, Muridae) in East Asia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 80: 469–481.
- Suzuki H, Shimada T, Terashima M, Tsuchiya K, Aplin K, 2004. Temporal, spatial, and ecological modes of evolution of Eurasian *Mus* based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics of Evolution*, 33: 626–646.
- Svenning J, Skov F, 2007. Could the tree diversity pattern in Europe be generated by postglacial dispersal limitation? *Ecological Letters*, 10:453–60.
- Şeker PS, Selvi E, Kankılıç T, Çolak E, 2018. Geographical Distribution Pattern of Mitochondrial DNACytochrome b Diversity in Populations of *Arvicola amphibius*(Linnaeus, 1758) (Mammalia: Rodentia) in Turkey as Determined by PCR-RFLP. *Acta Zoologica Bulgarica*, 70:19-30.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- Veith M, Schmidtler JF, Kosuch J, Baran İ, Seitz A, 2003. Palaeoclimatic changes explain Anatolian mountain frog evolution: a test for alternating vicariance and dispersal events. *Molecular Ecology*, 12: 185-199.
- Vohralik V, Frynta D, Mikulova P, Benda P, Nova P, 2002. Multivariate morphometrics of *Apodemus mystacinus* in the Near east and its divergence from European *A. m. epimelas* (Mammalia: Rodentia). *Israel Journal of Zoology*, 48: 135-148.
- Yiğit N, Çetintürk D, Çolak E, 2017. Phylogenetic assessment of voles of the Guentheri Group (Mammalia: Microtus) in Turkish Thrace and Western Anatolia. *The European Zoological Journal*, DOI: 10.1080/24750263.2017.1317041.

Tec1 Proteininin *NTH1* Promotoruna Bağlanması Moleküler Modellemesi

Tülay TURGUT GENÇ^{1*}

Selen ÇAKAS²

ÖZET: *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinde trehaloz molekülü enerji kaynağı ve stres metaboliti olarak görev yapmaktadır. Trehalozun sentezinde ve yıkımında görevli proteinlerin ve ilgili genlerinin ekspresyonları sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Stres koşullarında sentezlenen trehalozun yıkımında görev alan *NTH1* geni transkripsiyonel ve post-translasyonel olarak regüle edilmektedir. Özellikle transkripsiyonel regülasyonda rol alan transkripsiyon faktörlerinin tümü henüz bilinmemektedir. Bu nedenle çalışmada öncelikle *NTH1* promotor bölgesinin biyoinformatik analizi yapıldı ve bağlanma olasılığı bulunan transkripsiyon faktörleri belirlendi. Bu faktörlerden Tec1 transkripsiyon faktörünün *NTH1* promotoruna potansiyel üç boyutlu *NTH1* promotor-Tec1p bağlanma modeli farklı veri tabanları ve DNA-protein docking programları kullanılarak oluşturuldu. Elde edilen modelleme üzerinde yapılan ölçümlerde Tec1 proteininin *NTH1* promotoruna bağlanma olasılığının kuvvetli olduğu belirlendi. Ayrıca Tec1 proteininin TEA-DNA bağlanma bölgesinin *S. cerevisiae* ve diğer canlılarda yapılan BLAST analizi sonucunda TEA-DNA bağlanma bölgesinde bulunan 22 amino asitin tüm canlılarda % 100 korunduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *NTH1*, Tec1p, DNA-Protein 3D modelleme, *Saccharomyces cerevisiae*

The Molecular Modelling of Tec1 Protein Binding to *NTH1* Promoter

ABSTRACT: The trehalose molecule acts as an energy source and stress metabolite in *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells. The proteins and their encoded genes involved in the synthesis and breakdown of trehalose are tightly controlled. *NTH1* gene that is responsible from the degradation of stress accumulated-trehalose, is regulated transcriptionally and post-translationally. Not all of the transcription factors involved in transcriptional regulation are yet to be known. For this reasons, in this study the bioinformatic analysis of *NTH1* promoter region was performed and transcription factors that are likely to bind were identified. Of these factors, Tec1 transcription factor was used to construct the potential three-dimensional *NTH1* promoter-Tec1p binding model by using different databases and DNA-protein docking programs. The measurements in the obtained three dimensional model revealed that the probability of Tec1 protein binding to the *NTH1* promoter was too high. In addition, BLAST analysis of the TEA-DNA binding site in *S. cerevisiae* and other organisms revealed that 22 amino acids in the TEA-DNA binding region were 100% conserved in all living organisms.

Keywords: *NTH1*, Tec1p, DNA-Protein 3D modelling, *Saccharomyces cerevisiae*

¹ Tülay TURGUT GENÇ (Orcid ID: 0000-0001-5074-3572), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çanakkale, Türkiye

² Selen ÇAKAS (Orcid ID: 0000-0002-1494-4083), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Tülay TURGUT GENÇ, e-mail: tturgutgenc@comu.edu.tr

* Bu çalışma Selen ÇAKAS'ın Yüksek Lisans tezinin bir bölümüdür.

GİRİŞ

Saccharomyces cerevisiae maya hücrelerinde, karbon ve enerji kısıtlamasına bağlı olarak sentezlenen trehaloz molekülü ortam koşullarının normale dönmesiyle birlikte hızlıca yıkılır [Lillie ve Pringle, 1980]. Stres koşullarında biriktirilen trehalozun hidrolizinden sorumlu olan nötral trehalaz enzimi *NTH1* geni tarafından kodlanır [Nwaka ve Holzer, 1998]. TPS kompleksini oluşturan genlerin promotor bölgelerinde bulunan STRE elementleri *NTH1* promotor bölgesinde de bulunmaktadır [Ruis ve Schüller, 1995; Nwaka ve ark., 1995a, 1995b]. Msn2 ve Msn4 transkripsiyon faktörleri ilgili genlerin promotor bölgelerinde bulunan STRE dizilerine bağlanarak stres koşullarında bu genlerin transkripsiyonlarını aktive etmektedir [Martinez Pastor ve ark., 1996].

NTH1 gen ekspresyonu farklı sinyal yolları ile regüle edildiği gibi, Msn2/4 aracılığıyla TOR sinyal sistemi üzerinden de düzenlenmektedir. TOR (Target of Rapamycine) sinyal yolağı azot açlığına karşı oluşturulan cevapta önemli rol oynamaktadır. *S. cerevisiae* maya türü tarafından tercih edilen azot kaynakları amonyum tuzları ve glutamin olup, bu azot kaynaklarının olmadığı durumlarda hücreler farklı azot kaynaklarını kullanmaktadır [Cooper, 2002]. *NTH1* promotor bölgesinde (-1000bç) yapılan analiz sonucunda *NTH1* promotorunda yirmi beşe yakın transkripsiyon faktörünün fiziksel bağlanma dizilerinin bulunduğu belirlendi. Bu transkripsiyon faktörlerinden Tec1 transkripsiyon faktörünün beş tane bağlanma bölgesi bulunduğu gözlemlendi.

Tec1 (Transposon Enhancement Control 1) transkripsiyon faktörü pseudohifsel üremeden sorumlu genlerin promotorlarında bulunan TCS (TEA/ATTS Consensus Sequence) elementlerine bağlanarak transkripsiyonlarını aktive etmektedir [Madhani ve Fink, 1997]. Tec1 transkripsiyon faktörü aynı zamanda MAPK ve TOR sinyal yolları arasında bağlantı kurarak maya

hücrelerinin gelişimini etkilemektedir. Ayrıca Tec1 proteininin stabilitesi TOR sinyal sistemi üzerinden pozitif olarak kontrol edilmektedir [Brückner ve ark., 2011].

NTH1 ve *TEC1* genlerinin transkripsiyonel regülasyonu TOR sinyal sistemi üzerinden gerçekleştiğinden ve *NTH1* geninin promotor bölgesinde Tec1p bağlanması için gerekli TEA/ATTS elementlerini içerdiğinden Tec1 proteininin *NTH1* promotoruna bağlanma olasılığı DNA-protein docking çalışması yapılarak belirlenmeye çalışıldı. Farklı veri tabanları ve bilgisayar programları kullanılarak gerçekleştirilen *in silico* DNA-Protein bağlanma modellemesinde, Tec1 proteininin *NTH1* promotoruna bağlanma olasılığının yüksek olduğu görüldü. Ayrıca Tec1 proteininin DNA'ya bağlanabilmesi için gerekli TAE domaininin farklı organizmalarda gerçekleştirilen BLAST analizi sonucunda 22 amino asitin tüm canlılarda tamamen korunduğu ve değişmediği tespit edildi.

MATERYAL VE YÖNTEM

In silico çalışmalar

Çalışmada SGD (*Saccharomyces cerevisiae* Genome Database) veri tabanından alınan 1000 bç uzunluğundaki *NTH1* promotor bölgesi kullanıldı. JASPAR CORE veri tabanı kullanılarak *NTH1* promotoru üzerinde Tec1p TEA/ATTS DNA bağlanma bölgeleri belirlendi. SGD veri tabanından alınan 486 amino asitlik Tec1p dizisi ve Tec1p'nin TEA/ATTS DNA bağlanma bölgesine denk gelen 75 amino asitlik dizisinin I-TASSER programı kullanılarak tahmini üç boyutlu modellemesi yapıldı (<https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/>). *NTH1* promotorunda Tec1p, TEA/ATTS-DNA bağlanma elementleri 3D-DART webserver programına gönderildi ve Pdb formuna dönüştürüldü (<http://dna.ccs.tulane.edu/>). I-TASSER programından gönderilen Pdb dosyaları VMD (Visual Molecular Dynamics) programı kullanılarak hidrojen içermeyen forma

dönüştürüldü ve tekrar Pdb formatına çevrildi (<http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>). I-TASSER ve VMD programı ile elde edilen Pdb dosyaları ile 3D-DART webserver programından gelen Pdb dosyaları NPDock-Genesilico.pl sitesine yüklendi ve olası bağlanma modelleri elde edildi. VMD (Visual Molecular Dynamics) programı ile modeller görselleştirildi.

Biyoinformatik analizler

Tec1 proteinin içerdiği TEA/ATTS DNA bağlanma bölgesi farklı fungus ve canlı türlerinde Uniprot ve NCBI webserver programları kullanılarak tarandı. Tec1p ile homoloji gösteren proteinler ve TEA/ATTS DNA bağlanma bölgesi ile eşleşme gösteren diziler belirlenerek kaydedildi. Daha sonra türlerde ve popülasyonlarda DNA ve protein hizalanması yaparak evrimsel benzerliklerin ve farklılıkların saptanmasında ağırlıklı olarak kullanılan MEGA (www.megasoftware.net) yazılımı kullanılarak Tec1 proteinin TEA/ATTS DNA bağlanma bölgesinde korunmuş olan bölgeler ve içerdikleri amino asitler MEGA 7.0 analiz programı kullanılarak belirlendi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

NTH1-Tec1p 3D bağlanma modeli

Tec1 transkripsiyon faktörü, homeodomain ailesinin bir üyesi olup, Helix-Turn-Helix DNA motifine sahiptir. Tec1 proteini, TEA/ATTS dizisine sahip genlerin promotorlarına bağlanarak ekspresyonlarını düzenlemektedir. Tec1p transkripsiyon faktörünün DNA bağlanma bölgesi

((A(G/C/T)C(G)AT(A)TC(G)C(T)C(T/G/A))

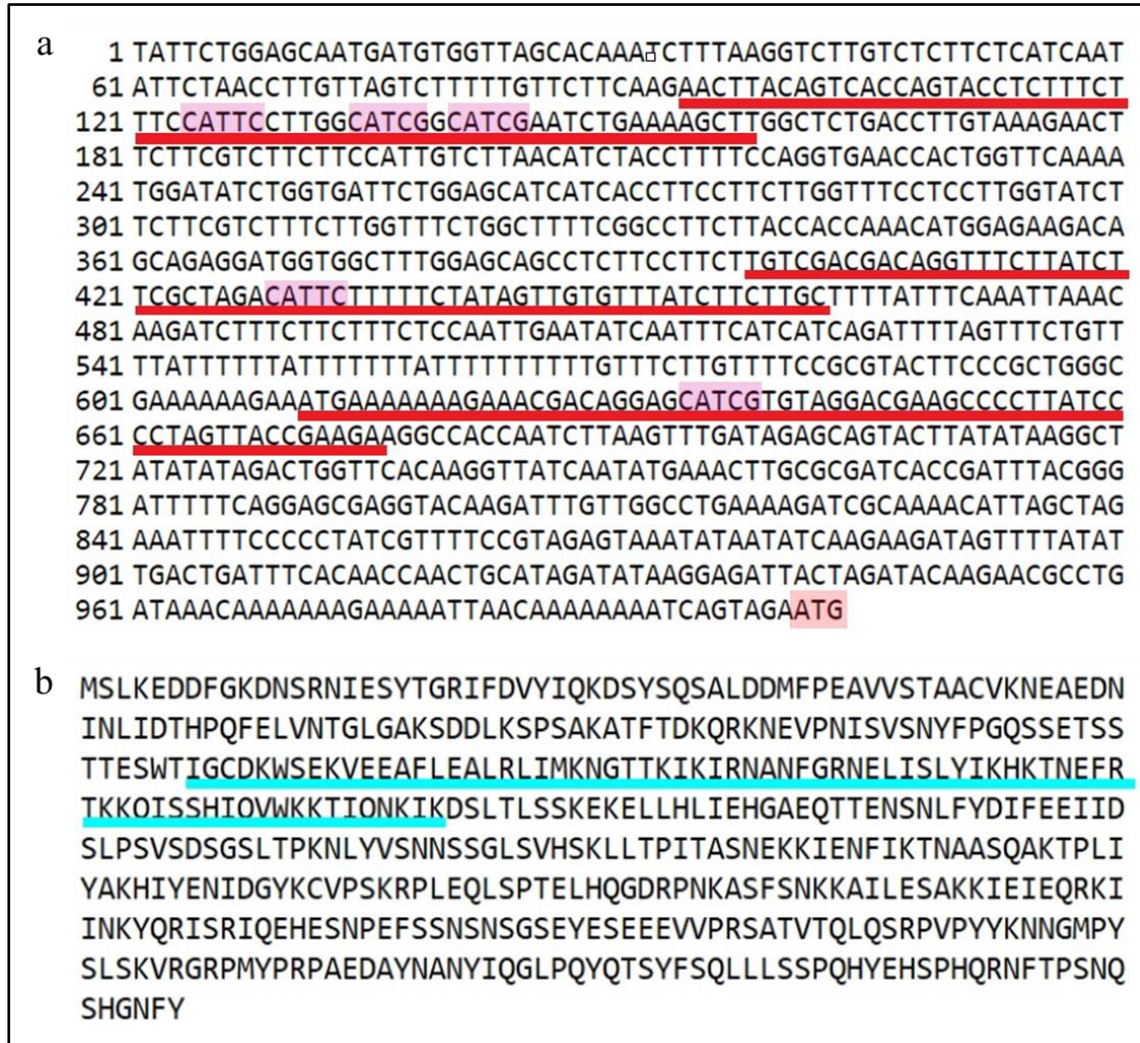
(ID MA0406.1) JASPAR CORE veri tabanı kullanılarak elde edildi. SGD (*Saccharomyces* Genome Database) veri tabanından alınan 1000 bç uzunluğundaki NTH1 promotor bölgesinde Tec1p bağlanma bölgeleri belirlendi (Şekil 1a). NTH1 promotorunda beş adet potansiyel Tec1p bağlanma bölgesi tespit edildi. NTH1 promotoru üzerinde olası Tec1 DNA bağlanma bölgelerini içerecek şekilde 65 bç uzunluğunda DNA

fragmentleri seçilerek 3D-DART programına gönderildi. Bu program aracılığıyla 65 bç uzunluğundaki DNA bölgeleri “tec1p_tea1.pdb”, “tec1p_tea2.pdb” ve “tec1p_tea3.pdb” dosyaları olmak üzere 3 adet pdb uzantılı dosya oluşturuldu.

UniProt veri tabanı kullanılarak SGD veri tabanından elde edilen Tec1 protein dizisindeki 75 amino asit uzunluğundaki DNA bağlanma bölgesi belirlendi (Şekil 1b). Yüksek oranda korunmuş olan bu amino asit dizisi I-TASSER programına gönderilerek 3 boyutlu hale getirildi. I-TASSER programına gönderilen 7686 atomlu Tec1 proteinin 3D yapısı, Visual Molecular Dynamics (VMD) programı ile hidrojen atomları uzaklaştırılarak 3798 atom sayısına düşürüldü ve “tec1_nonH.pdb” şeklinde kaydedildi.

I-TASSER ve VMD programı ile elde ettiğimiz Pdb uzantılı dosyalar (tec1_nonH.pdb) ile 3D-DART webserver programından gelen Pdb uzantılı dosyaları (“tec1p_tea1.pdb”, “tec1p_tea2.pdb” ve “tec1p_tea3.pdb”) NPDock-Genesilico.pl web sitesine gönderilerek Docking çalışması gerçekleştirildi. Bu çalışma sonunda “tec1p_tea2.pdb” ve “tec1p_tea3.pdb” DNA fragmentleri ile yapılan DNA-Protein Docking çalışmaları sonuç vermedi. Diğer DNA fragmenti, “tec1p_tea1.pdb”, (“aactacagtcaccagtcacctttttccattccttGGCA₈₈T₈₉C₉₀G₉₁gcacgaatctgaaaagctt”) ile yapılan çalışma ise olumlu sonuçlandı. Elde edilen potansiyel üç boyutlu NTH1 promotor-Tec1p bağlanma modeli Şekil 2’de verildi.

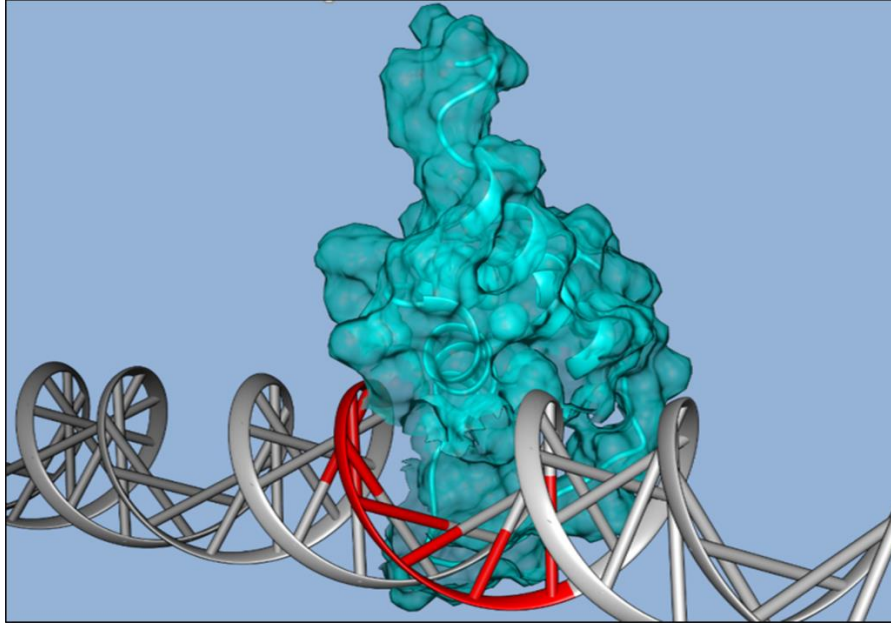
Tec1 proteinin DNA bağlanma bölgesinde bulunan amino asitler ile NTH1 promotorunda Tec1 bağlanma bölgesinde (“tec1p_tea1.pdb”) yer alan nükleotidler arasındaki mesafe VMD programı kullanılarak angström olarak hesaplandı. NTH1 promotoru üzerinde Tec1 proteininin bağlanmasını gösteren 3D model ve amino asit-nükleotid arasındaki yakınlaşmalar Şekil 3’te verildi.



Şekil 1. a) NTH1 promotor bölgesi. DNA-Protein Docking çalışmalarında kullanılan DNA bölgelerinin (“tec1p_tea1.pdb”, “tec1p_tea2.pdb” ve “tec1p_tea3.pdb”) kırmızı renkle işaretlendi. Tec1p bağlanma dizisini içeren bölgeler pembe renkle işaretlendi. **b)** Tec1 proteini amino asit dizisi. DNA-Protein Docking çalışmalarında kullanılan Tec1p DNA bağlanma bölgesi turkuaz renkle işaretlendi.

Tec1 proteininin 29. amino asiti İzolösin (I^{29}) ile *NTH1* promotorundaki 88. Adenin nükleotidinin (A_{88}) atomları arasındaki olası mesafe 10,872 Å olarak, 44. amino asiti olan Lösin (L^{44}) ile *NTH1* promotorundaki 90. Sitozin nükleotidinin (C_{90}) atomları arasındaki olası

mesafe 6,327 Å olarak hesaplandı. *NTH1* promotorundaki 89. Timin (T_{89}) ve 91. Guanin (G_{91}) nükleotidleri, Tec1 proteininin 47. amino asiti Lizin (K^{47}) ile olası etkileşim mesafesi sırasıyla 5,260 Å ve 4,352 Å olarak ölçüldü.



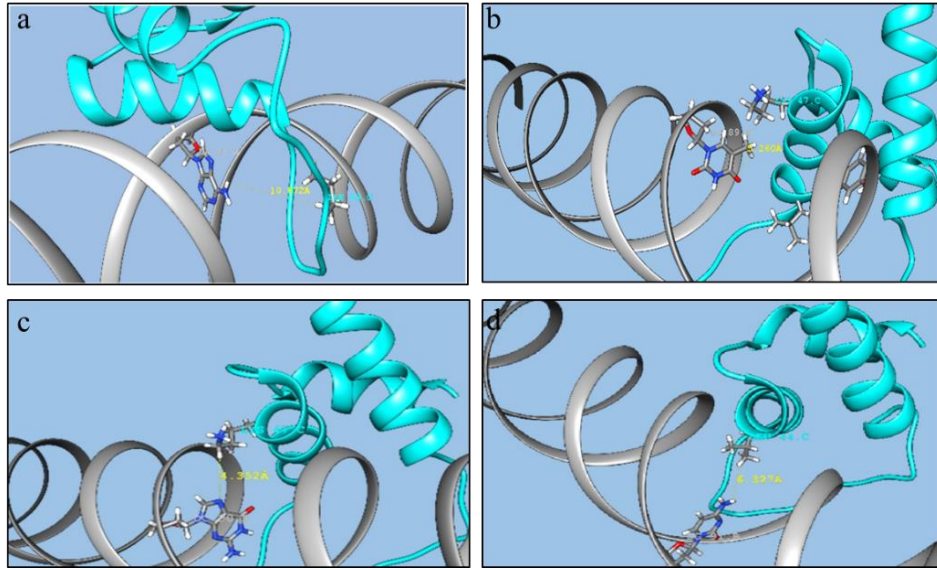
Şekil 2. Potansiyel 3D NTH1 -Tec1p bağlanma modeli

Tec1 TEA DNA bağlanma bölgesinin biyoinformatik analizi

Tec1 transkripsiyon faktörünün içerdiği TEA-DNA bağlanma bölgesi, NCBI web sunucusu kullanılarak diğer canlılarda olup olmadığı araştırıldı. Diğer canlı türlerinde bulunan TEA bölgeleri 'fasta' formatında kaydedildi. MEGA 7.0 programı kullanılarak diğer canlılara ait TEA-DNA bağlanma bölgelerinin BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analizleri yapıldı (Şekil 4). TEA-DNA bağlanma bölgesinde bulunan heliks bölgeleri ve bu bölgelerde bulunan korunmuş amino asitler belirlenerek Şekil 5'te sunuldu.

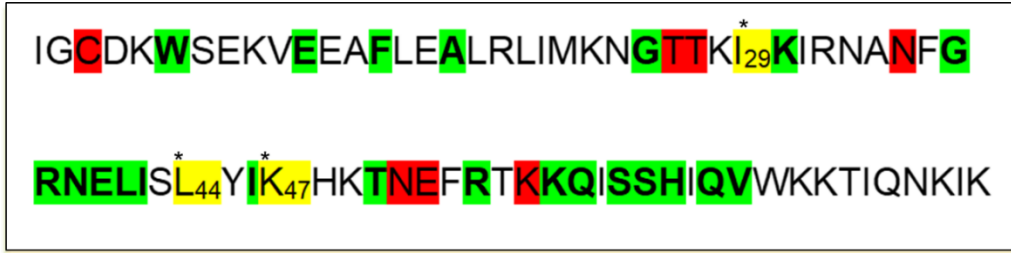
NTH1 promotorunda bulunan Tec1 bağlanma bölgesi ile Tec1 proteinin üç boyutlu bağlanma modellemesinde görev alan İzolösin (I29), Lösin (L44) ve Lizin (K47) amino

asitlerinin (sarı renkle işaretlenen) korunmuş bölgede bulunmasına rağmen tüm canlılarda % 100 korunan amino asitler olmadığı görüldü. Ayrıca *S. cerevisiae* maya türünde Tec1 transkripsiyon faktörünün TEA-DNA bağlanma bölgesi içinde yer alan Sistein (C3), Treonin (T26), Treonin (T27), Asparajin (N37), Asparajin (N57), Glutamik asit (E58) ve Lizin (K62) amino asitlerinin (kırmızı renkle işaretlenen) yerine diğer canlılarda sırasıyla Valin (V3), Arjinin (R26), Arjinin (R27), Lizin (K35), Glisin (G51), Lizin (K52) ve Arjinin (R55) amino asitlerinin geldiği belirlendi. TEA-DNA bağlanma bölgesinde bulunan 22 amino asitin (yeşil renkle işaretlenen) ise hizalama için kullanılan tüm canlılarda % 100 korunduğu tespit edildi.



Şekil 3. Tec1 proteinindeki amino asitlerin (I^{29} , L^{44} ve K^{47}) atomları ile *NTH1* promotorundaki nükleotidlerin (A_{88} , C_{90} , T_{89} ve G_{91}) atomları arasındaki olası yakınlaşmalar. a) I^{29} - A_{88} ; b) L^{44} - C_{90} ; c) K^{47} - T_{89} ; d) K^{47} - G_{91} . (Gri sarmal: *NTH1* promotoru; Turkuaz sarmal: Tec1 proteinini)

Species/Abbr	HELİX 1												HELİX 2												HELİX 3																																														
1. Tec1p_Saccharomyces_cerevisiae	I	D	C	K	S	E	K	V	E	E	A	F	L	E	A	L	R	L	I	M	K	N	T	I	X	I	K	I	R	N	A	N	F	G	R	N	E	L	I	S	L	I	I	K	H	K	T	N	E	F	T	K	K	O	I	S	S	H	I	D	V	K									
2. A04177TLH4_Tillaea_indica	S	G	N	V	-	W	P	N	D	V	E	V	A	F	E	A	L	R	L	I	P	K	L	G	R	R	K	V	L	V	G	C	K	A	C	G	R	N	E	L	I	A	D	I	R	K	T	E	V	K	S	R	K	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K								
3. A7MBZ7_Danio_reio	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
4. A040P5MVC0_Daphnia_magna	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
5. S2JC22_Mucor_crocinellus	-	E	O	G	V	-	W	P	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	E	I	-	P	K	L	G	R	R	K	I	L	V	-	N	-	E	K	P	C	G	R	N	E	L	I	S	D	F	I	F	R	-	K	T	G	-	K	V	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K
6. M5GA73_Dasyopinae_rimogenitus	T	E	E	V	-	W	S	A	D	-	E	E	A	F	H	O	A	I	K	V	I	-	P	K	L	G	R	R	K	I	I	N	-	D	K	L	C	G	R	N	E	L	I	A	E	H	I	K	L	T	G	-	K	R	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K				
7. A04091C22_Calypte_anna	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
8. A040C7CNR1_Rhizopus_microsporus	-	E	O	G	V	-	W	P	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	E	I	-	P	K	L	G	R	R	K	I	L	V	-	N	-	E	K	P	C	G	R	N	E	L	I	S	D	F	I	R	-	K	T	G	-	K	I	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K		
9. A04153K3Q0_Lingula_unguis	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
10. F2U5U8_Salpingoeca_rosea	G	D	G	V	-	W	S	A	D	-	E	E	A	F	E	E	A	L	K	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	M	K	T	G	-	K	V	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K				
11. V5HX8_Ixodes_ricinus	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
12. A041E1XPY4_Amblyomma_sculptum	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
13. A04131XL4_Hyalomma_excavatum	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
14. L7MUJ8_Rhipicephalus_pulchellus	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
15. B4JJP7_Drosophila_grimshawi	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	S	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
16. A04091GHW0_Cuculus_canorus	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	S	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
17. A04091EE93_Conus_brachyrhynchus	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
18. A0415P2U0_Gallus_gallus	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
19. A04093PX85_Manacus_vitellinus	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
20. A04091W600_Nipponia_nippon	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
21. H2VB8_Takifugu_rubripes	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
22. R7V85_Columba_livia	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
23. A04146WTC8_Fundulus_heteroclitus	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
24. A04153LEC8_Salmo_salar	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
25. A04057XAO4_Poecilopsis_prolifica	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
26. ABCSN2_Xenopus_laevis	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
27. I3K8K2_Oreochromis_niloticus	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
28. V8PAU8_Ophiophagus_hannah	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
29. A040V0UU07_Trichinella_sp.	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
30. A0418PA54_Nothingbranchius_pienaari	P	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R	T	R	K	O	V	S	S	H	I	D	V	K	
31. G8KSV3_Mustela_putorius_furo	A	E	G	V	-	W	S	P	D	-	E	O	S	F	D	E	A	L	A	I	Y	P	P	C	G	R	R	K	I	I	L	S	D	E	E	G	K	M	Y	G	R	N	E	L	I	A	R	Y	I	K	L	R	T	G	-	K	T	R													



Şekil 5. TEA-DNA bağlanma bölgesinde yer alan korunmuş amino asitler

(Yeşil: tüm canlılarda aynı olan amino asitler; sarı: değişiklik gösteren amino asitler; kırmızı: *S. cerevisiae* maya türünde farklı olan amino asitler)

SONUÇ

DNA replikasyonu ve transkripsiyon aktivasyonu gibi birçok önemli biyolojik proseslerde DNA-protein interaksyonu önem taşımaktadır. Proteinlerin DNA molekülüne bağlanma modelleri genellikle X-ray kristalografi yöntemiyle belirlenebildiği gibi son zamanlarda bilgisayar tabanlı modellemeler kullanılmaya başlanmıştır. Farklı DNA-protein ve Protein-Protein modellemesi yapabilen bilgisayar programları geliştirilmiştir. Çalışmamızda bu programlardan 3D-DART ve I-TASSER bilgisayar programları kullanıldı.

Tec1 proteini, promotor bölgesinde TEA/ATTS elementlerine sahip genlere bağlanarak, ekspresyonlarını düzenlemektedir [Köhler ve ark., 2002]. *NTH1* geninin transkripsiyonel regülasyonu ve Tec1 proteininin stabilitesi TOR sinyal sistemi üzerinden düzenlenmektedir. *NTH1* promotor bölgesinin analizi sonucunda Tec1 transkripsiyon faktörünün bağlanabileceği beş adet TEA/ATTS elementlerinin varlığı promotor bölgesinde tespit edildi. Bu TEA/ATTS elementlerinden yalnızca bir tanesine Tec1 transkripsiyon faktörünün bağlanma olasılığının olduğu diğerlerine is yaklaşma tespit edilemediği için bağlanma potansiyelinin olmadığı gözlemlendi. Bağlanma olasılığı olan DNA elementi kullanılarak, potansiyel 3D *NTH1*-Tec1p bağlanma modeli oluşturuldu. Tec1p amino asitleri ile *NTH1* promotor bölgesinde ("tec1p_tea1.pdb") yer alan nükleotidler arasındaki mesafeler

hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Tec1 proteininin *NTH1* promotoruna bağlanma olasılığının oldukça yüksek olduğunu gösterdi. Ayrıca Tec1 transkripsiyon faktörünün içerdiği TEA-DNA bağlanma bölgesinin *S. cerevisiae* ve diğer canlılarda olup olmadığı araştırıldı. Diğer canlı türlerinde bulunan TEA bölgelerinin biyoinformatik analizi sonucunda özellikle ikici ve üçüncü heliks bölgesinde yoğun olmak üzere toplam 22 amino asitin tüm canlılarda değişmediği tespit edildi.

KAYNAKLAR

- Brückner S., Kern S., Birke R., Saugar I., Ulrich HD., Mösch HU., 2011. The TEA Transcription Factor Tec1 Links TOR and MAPK Pathways to Coordinate Yeast Development. *Genetics*, 189(2): 479-494.
- Cooper TG., 2002. Transmitting the Signal of Excess Nitrogen in *Saccharomyces cerevisiae* from the Tor Proteins to the GATA Factors: Connecting the Dots. *Federation of European Microbiological Societies (FEMS), Microbiological Reviews*, 26(3): 223-238.
- Köhler T., Wesche S., Taheri N., Braus GH., Mösch HU., 2002. Dual Role of the *Saccharomyces cerevisiae* TEA/ATTS Family Transcription Factor Tec1p in Regulation of Gene Expression and Cellular Development. *Eukaryotic Cell*, 1(5): 673-686.
- Lillie SH., Pringle JR., 1980. Reserve Carbohydrate Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*: Responses to Nutrient Limitation. *Journal of Bacteriology*, 143: 1384-1394.

- Madhani H. D., Fink G. R., 1997. Combinatorial Control Required for the Specificity of Yeast MAPK Signaling. *Science*, 275 (5304): 1314-1317.
- Martinez-Pastor MT., Marchler G., Schuller C., Marchler-Bauer A., Ruis H., Estruch F., 1996. The *Saccharomyces cerevisiae* Zinc Finger Proteins Msn2p And Msn4p are Required for Transcriptional Induction Through the Stress-Response Element (STRE). *The EMBO Journal*, 15: 2227–2235.
- Nwaka S., Kopp M., Holzer H., 1995a. Expression and Function of the Trehalase Genes Nth1 and Ybr0106 in *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Biological Chemistry*, 270: 10193-10198.
- Nwaka S., Mechler B., Destruelle M., Holzer H., 1995b. Phenotypic Features of Trehalase Mutants in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters*, 360(3): 286-290.
- Nwaka S., Holzer H., 1998. Molecular Biology of Trehalose and the Trehalases in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Progress in Nucleic Acid Research Molecular Biology*, 58: 197-237.
- Ruis H., Schüller C., 1995. Stress Signaling in Yeast. *Bioassays*, 17(11): 959-965.

Anadolu Orkidesi'nde (*Orchis anatolica* Boiss.) Ribozomal DNA'nın Transkripsiyonu Yapılan İç Ara Bölgelerinin (ITS) Özellikleri

Kaan HÜRKAN^{1*}

ÖZET: Orkideler (Orchidaceae), yeryüzünün neredeyse tamamında yayılış gösteren ve çiçekli bitkiler içerisinde en çok tür içeren ikinci familyadır. Bu kalabalık bitki grubunun sınıflandırılması ve filogenetiğinin ortaya çıkarılmasında sadece morfolojiye dayalı yöntemler yetersiz kalmaktadır. Bu çalışmada *Orchis anatolica* Boiss. türünün çekirdek DNA'sının ITS bölgesi dizilenecek DNA barkodu ortaya çıkarılmış ve bu veri analiz edilerek *Pseudorchis albida* subsp. *straminea* (Fernald) Á.Löve & D.Löve, *Orchis italica* Poir., *Orchis anthropophora* All., *Orchis simia* Lam., *Orchis purpurea* Huds., *Orchis militaris* Sm., *Orchis adenocheila* Czerniak, *Orchis pallens* L., *Orchis mascula* Crantz, *Orchis mascula* subsp. *pinetorum* Boiss. & Kotschy ve *Orchis spitzelii* Saut. ex W.D.J.Koch türleri ile filogenetik ilişkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda ITS dizisinin tamamının çalışılan *Orchis* türleri arasında yeterli seviyede ayırım yapabildiği ve bu cins içerisinde yapılacak daha detaylı çalışmalar için kullanılmaya elverişli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Orchidaceae, DNA barkodlama, Transkripsiyonu yapılan iç ara bölgeler (ITS), moleküler filogenetik.

Properties of the Internal Transcribed Spacer Region of the Nuclear Ribosomal DNA on *Orchis anatolica* Boiss.

ABSTRACT: Orchid family (Orchidaceae) is the second largest group of flowering plants and it spreads almost every location in the world. Taxonomic and phylogenetic studies depending only on morphologic characters are not sufficient to discriminate the family. Therefore, in this study we sequenced the whole nuclear ribosomal ITS region and evaluated the discrimination performance of the ITS region on the phylogeny within *Pseudorchis albida* subsp. *straminea* (Fernald) Á.Löve & D.Löve, *Orchis italica* Poir., *Orchis anthropophora* All., *Orchis simia* Lam., *Orchis purpurea* Huds., *Orchis militaris* Sm., *Orchis adenocheila* Czerniak, *Orchis pallens* L., *Orchis mascula* Crantz, *Orchis mascula* subsp. *pinetorum* Boiss. & Kotschy and *Orchis spitzelii* Saut. ex W.D.J.Koch species. The results of the study showed that the resolution power of the ITS is enough to discriminate studied *Orchis* spp. at species level.

Keywords: Orchidaceae, DNA Barcoding, Internal Transcribed Spacer (ITS), molecular phylogenetic.

¹ Kaan HÜRKAN (Orcid ID: 0000-0001-5330-7442), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Iğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar: Kaan HÜRKAN, E-posta: kaan.hurkan@igdir.edu.tr, kaanhurkan@hotmail.com

GİRİŞ

Kutup bölgeleri haricinde dünyanın her yerinde yayılış gösteren Salepgiller veya Orkideler (Orchidaceae), Papatyagiller (Asteraceae) familyasından sonra ikinci en çok tür içeren çiçekli bitki ailesidir ve 899 cinsle ait yaklaşık 27801 tür barındırmaktadır (The Plant List, 2013). Türkiye'de yapılan temel orkide florası araştırmalarında bu familyanın 1984 yılında 24 cins ve 90 tür ile (Sezik, 1984), 2009 yılında ise 24 cins ve 170 takson (Kreutz, 2009) ile temsil edildiği belirlenmiştir. Her yeni flora ve sistematik araştırması sonrasında orkidelere yeni üyeler dâhil olmakta, farklı taksonomik görüşlere göre türler bir cinsten farklı bir cins içerisine taşınmakta veya yeni cinsler oluşturulmaktadır. Sürekli bir değişim içinde olan orkide taksonomisini moleküler markörler ile düzenlemek, 1990'lı yılların başından günümüze kadar moleküler taksonomistler için vazgeçilemeyen bir amaç olmuştur ve orkide moleküler filogenetiği üzerindeki çalışmalar her geçen gün artmıştır.

Bilinen birçok DNA barkod bölgesi, orkide sistematini düzenlemek ve filogenetik ilişkileri belirlemek amacıyla onlarca yıldır kullanılmaktadır (Zimmer ve Wen, 2012). Çekirdek ribozomal DNA'nın (Nuclear Ribosomal DNA veya nrDNA), transkripsiyonu yapılan iç aralayıcı bölgeleri (Internal Transcribed Spacer, nrITS veya ITS) rDNA sistronunun parçalarıdır ve 18S, 5.8S, 26S kodlanan bölgeler ile bu bölgeleri bölen ITS1 ve ITS2 bölgelerinden oluşurken çekirdek genomunda yüzlerce kopyası bulunur (Felinier ve Rosselló, 2007). ITS bölgesi, şüphesiz orkide moleküler filogenisinde en çok kullanılan bölgedir (Baldwin ve ark., 1995; Pridgeon ve ark., 1997; Álvarez, 2003; Bateman ve ark., 2003; Shipunov ve ark., 2004; Gulyás ve ark., 2005; Sramko ve ark., 2014; Dizkırıncı ve ark., 2017).

Bu çalışmadaki amacımız; Türkiye'de yaygın olarak bulunan *O. anatolica* türünün ITS bölgesinin nükleotit dizisini ortaya çıkararak türe ait bir moleküler barkod elde etmek, bu barkod bölgesinin özelliklerini detaylı olarak incelemek ve filogenetik açıdan yakın akrabaları ile ilişkisini belirlemektir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki materyali

Çalışmada bitki materyali olarak kullanılan *O. anatolica* türüne ait yeşil yaprak örnekleri 29.04.2010 tarihinde Çanakkale'nin Bayramiç İlçesi'nden, (*Pinus nigra* ormanı, koordinatlar: 39°45'00.5"K 26°50'05.6"D, yükseklik: 615m), toplanmış ve silika jel içeren kilitli poşetlerde oda sıcaklığında saklanmıştır (Şekil 1).

DNA ekstraksiyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

DNA ekstraksiyonu için cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) (Doyle ve Doyle, 1987) yöntemi değiştirilerek kullanılmıştır. Yaklaşık 10 mg yaprak dokusu sıvı azot ile toz haline getirilmiş ve üzerine %2 CTAB, 20 mM EDTA (pH 8.0), 100 mM Tris – HCl (pH 8.0) ve 1.4 mM NaCl içeren parçalama tamponu eklenmiştir. Homojenat 65°C'de 60 dakika boyunca inkübe edilmiş ve 3 dakika boyunca 14000 g'de santrifüj edilmiştir. Oluşan üst faza eşit hacimde kloroform:izoamil alkol (24:1) eklenmiş, 60 dakika boyunca karıştırılmış ve 14000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. DNA -20°C'deki etanol ile çöktürülmüş ve -20°C'de bir gece bekletilmiştir. Örnek 14000 g'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiş, çöken DNA %70'lik etanol ile 2 defa yıkanmış ve kurumaya bırakılmıştır. DNA 50 µl 10 mM Tris (pH 8.0) ile çözdürülmüş ve -20°C'de saklanmıştır.

ITS bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması için ITS1A ve ITS4 primerleri kullanılmıştır (Çizelge 1).



Şekil 1. Çalışmada bitki materyali olarak kullanılan *O. anatolica* (Çanakkale – Bayramiç).

Çizelge 1. ITS bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılabilmesi için kullanılan primerler.

Primer adı	Primer dizisi	Kaynak
ITS1A	5'-GACGTCGCGAGAAGTCCA-3'	(Gulyas ve ark., 2005)
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	(White ve ark., 1990)

25 µl PZR karışımı için 0.1 hacimde 10x Tampon (Fermentas, USA), 0.5 µl 10 mM dNTP (Fermentas, USA), 2 µl 25 mM MgCl₂ (Fermentas, USA), 1.25 µl 20 mg/ml BSA, 0.5 µl 10 µM primer (Thermo Scientific, USA), 0.1 µl 5 Unit High-Fidelity polimeraz (Fermentas, USA), 16.65 µl nükleaz içermeyen ultra saf su ve 1 µl (~5 ng µl⁻¹) genomic DNA kullanılmıştır.

PZR işlemi BIO-RAD PTC-200 model cihazda, 94°C 2 dakika ilk denatürasyonu takiben, 33 döngü 94°C 20 saniye denatürasyon, 51°C 30 saniye bağlanma ve 72°C 1 dakika uzama adımları uygulanmıştır. Reaksiyon 72°C 10 dakika son uzama ile tamamlanmıştır. PZR ürünleri PCR Purification Kit (Fermentas, USA) ile üreticinin sağladığı protokole göre

saflaştırıldıktan sonra dizileme işlemi için Marogen Inc. (Hollanda) firmasına gönderilmiş ve diziler ABI 3100 Genetic Analyzer cihazında, ITS1A ve ITS4 primerleri kullanılarak çift yönlü olarak elde edilmiştir.

Biyoenformatik ve filogenetik çalışmalar

Çalışmada ITS nükleotit dizileri için biyoenformatik çalışmalar Geneious R8 (Kearse ve ark., 2012) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Primer bağlanma bölgeleri kesilmiş, her iki yöndeki okuma birleştirilmiştir ve karar dizisi GenBank veri tabanına HQ657131 erişim numarası ile kaydedilmiştir. NCBI nükleotit veri tabanında Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) yapılmış ve doğru bölgenin çoğaltıldığı ve dizilendiği onaylanmıştır. Aynı yazılım kullanılarak DNA dizisinin ITS1, 5.8s ve ITS2 bölgeleri, homolog diziler ile karşılaştırılarak tespit edilmiş ve etiketlenmiştir. ITS1 dizisinin ikincil yapı tahmini Geneious R8 yazılımı içerisinde gerçekleştirilmiştir. *O. anatolica* ITS dizisinde tekrar dizileri Phobos 3.3 (Mayer, 2010) yazılımı ile hesaplanmıştır.

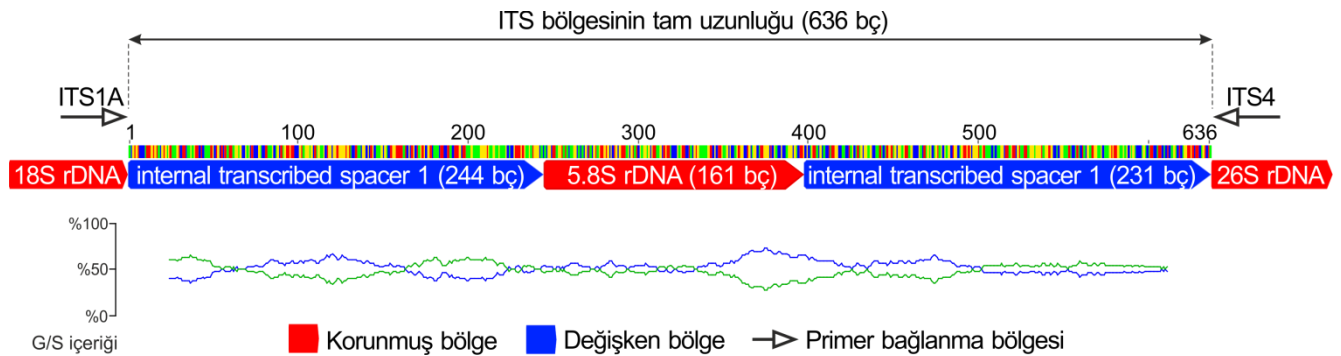
Filogenetik çalışmalar için BLAST sonuçlarında %90 ve üzerinde benzerlik gösteren *Orchis* spp. dizileri (GenBank erişim numaraları: AY704975, KU697373, KU697369, AY364882, KT318277, AY699977, KU931686, KU697371, KF499511, KU931698, AY364869, KU931697)

ve filogenetik çalışmalarda dış grup olarak kullanılmak üzere bir adet dizi (DQ022894) NCBI veri tabanından indirilmiştir. Dizilerin hizalanması ClustalW algoritması (Larkin ve ark., 2007) varsayılan ayarları ile yapılmıştır. Filogenetik ağaçlar PAUP 4.0a164 (Swofford, 2003) yazılımında Maximum Parsimony (MP) sezgisel arama (Heuristic Search: 1000 rastgele tekrar edilerek, her bir adımda bir ağaç tutularak, boşluklar göz ardı edilerek) yöntemi ile elde edilmiştir. Tree-bisection-reconnection (TBR) yöntemi, dalların yeniden düzenlenmesi için kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Biyoenformatik bulgular

O. anatolica türüne ait ITS bölgesi için PZR ürünlerinin boyutunun yaklaşık 820 bp olduğu tespit edilmiştir. Diziler Geneious R8 yazılımı içerisinde alınarak primer bağlanma noktaları kesilmiş, üst üste bindirilmiş ve karar dizisi uzunluğunun 636 bp olduğu belirlenmiştir ve GenBank veri tabanına HQ657131 erişim numarası ile kaydedilmiştir. Aynı veri tabanından alınan diğer diziler ile birlikte yapılan etiketleme işleminden sonra ITS1, 5.8S ve ITS2 bölgelerinin uzunlukları sırasıyla 244 bp, 161 bp, 231 bp olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *O. anatolica* türünde ITS bölgesine ait özelliklerin DNA dizisi üzerinde gösterilmesi. G/S içeriği: Dizi boyunca Guanin (mavi) / Sitozin (yeşil) içeriği oranının değişimi.

Hizalama işleminden sonra tüm dizilerin uzunlukları indel (insersiyon ve delesyon) alanları ile birlikte toplam 645 bç olmuştur. *O. anatolica* ITS dizisinde korunmuş alan sayısı 517, parsimoni bilgilendirici alan sayısı ITS1 için 30, 5.8S için 2 ve ITS2 için 33 olarak MEGA X (Kumar ve ark., 2018) yazılımında belirlenmiştir. ITS bölgesinin grup içi (*Orchis*

spp. içerisinde) ve grup içi – grup dışı (*Orchis* spp. ile dış grup olarak seçilen *Platanthera* sp. arasında) değişkenlik sayısı ve oranları hesaplanmış, grup içi değişimi 103 nükleotit (%16), grup içi – grup dışı değişimi ise 126 nükleotit (%19.5) olarak belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. *O. anatolica* türünde ITS bölgesine ait bazı bilgiler

Uzunluk	Hizalanan Uzunluk	Toplam Korunmuş Alan Sayısı	Parsimoni Alan Sayısı					Değişkenlik	
			ITS1	5.8S	ITS2	Grup İçi – Dışı	Grup İçi		
636 bç	645 bç	517	30	2	33	126 / %19.5	103 / %16.0		

ITS bölgesi orkidelerde tür seviyesinde ayırt edebilme çözünürlüğüne sahiptir (Hollingsworth ve ark., 2009; Hürkan, 2017; Rudall ve Bateman, 2003; Sramko ve ark., 2014). Özellikle ITS1 ve ITS2 bölgeleri genler arası bölge olmasından dolayı hem tek nokta mutasyonları hem de indel mutasyonları açısından yüksek bir değişkenliğe sahiptir (Won ve Renner, 2005). Analizlerde *Orchis* türlerinde ITS1 ve ITS2 bölgelerinin grup içerisinde toplamda 63 parsimoni alana sahip olduğu görülmektedir. Mutasyonların çok az görüldüğü RNA genini kodlayan ve korunmuş bölge olan 5.8S bölgesinde *O. anatolica* ve *O. mascula* türlerinde 371 ve 377. pozisyonlardaki Sitozin, Timin ile *P. chlorantha* türünde ise 378.

pozisyonadaki Adenin, Guanin ile yer değiştirerek birer transisyon mutasyona neden olmuştur (Şekil 3). ITS barkod bölgesinde nükleotit değişimleri ile transisyon durumları ile karşılaştığı bilinmektedir (Alvarez-Molina ve Cameron, 2009). ITS bölgesinin çift ebeveynli (biparental) kalıtım göstermesi, her iki ebeveynden gelen ITS nükleotit dizilerinin de genom boyunca tekrar etmesine neden olmaktadır. Bu nedenle, tek nükleotit değişimleri, diğer ITS kopyalarından gelen sinyal nedeniyle gerçekleşmiş olabilir. Özellikle 5.8S bölgesindeki bu değişimler, ITS bölgesine tür üstü sistematik kategorilerde ayırt edebilme kabiliyetini kazandırmaktadır.

Orchis cf. anatolica AG 2769

A G C T G G C T A A
5.8S rRNA

Orchis anatolica

A G C T G G C T A A
5.8S rRNA

Orchis mascula

A G T T G G C C A A
5.8S rRNA

Orchis mascula subsp. *pinetorum*

A G T T G G C C A A
5.8S rRNA

Platanthera chlorantha

A G C T G G C C G A
5.8S rRNA

Şekil 3. 5.8S bölgesinde transisyon mutasyonları.

Phobos 3.3 ile *O. anatolica* ITS dizisi taranmış ve ITS1 bölgesinde 211-220 pozisyonu arasında 3 defa tekrar eden üçlü nükleotit dizisi GTT bulunmuştur (GTTGTTGTT) (Şekil 4). Tekrar dizilerinin varlığı ITS dizilerinde uzunluk varyasyonlarına yol açmaktadır (Campbell ve

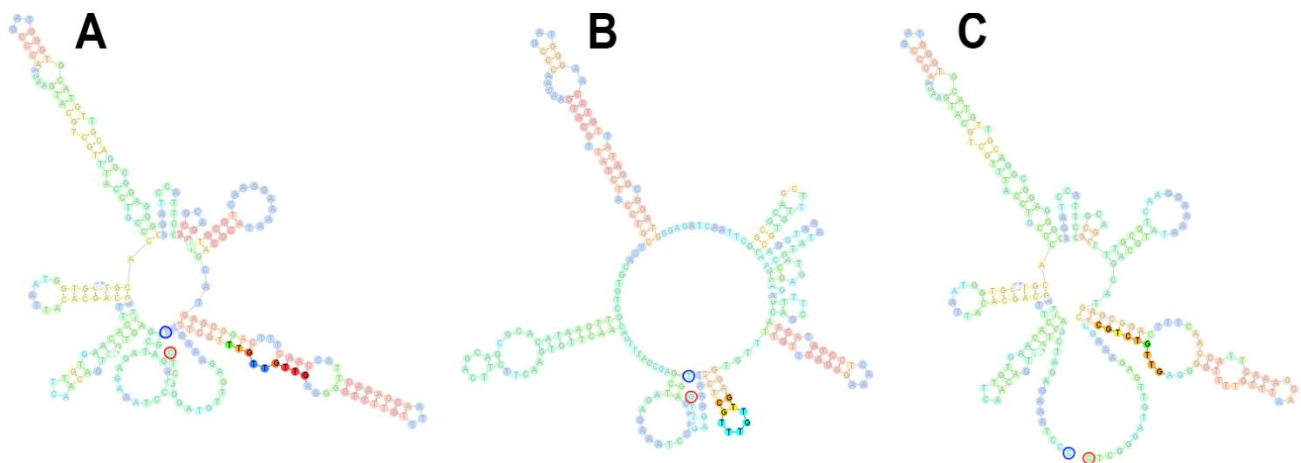
ark., 2005). Analiz ettiğimiz türlerde *O. spitzelii* ve *P. chlorantha* hariç tüm ITS1 dizilerinde bu tekrar dizisi bulunmakta, bu iki türde ise tekrar dizisinde 3 nükleotitlik bir delesyon ve bir transisyon mutasyonu olmuştur (GTTG---TC).

	218		220						226
1. <i>Orchis italica</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
2. <i>Orchis anthropophora</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
3. <i>Orchis cf. anatolica</i> AG 2769	G	T	T	G	T	T	G	T	T
4. <i>Orchis anatolica</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
5. <i>Orchis spitzelii</i>	G	T	T	G	-	-	-	T	C
6. <i>Orchis mascula</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
7. <i>Orchis mascula</i> subsp. <i>pinetorum</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
8. <i>Orchis pallens</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
9. <i>Orchis simia</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
10. <i>Orchis purpurea</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
11. <i>Orchis militaris</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
12. <i>Orchis adenocheila</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
13. <i>Pseudorchis albida</i> subsp. <i>straminea</i>	G	T	T	G	T	T	G	T	T
14. <i>Platanthera chlorantha</i>	G	T	T	G	-	-	-	T	T

Şekil 4. ITS bölgesinde tekrar dizileri, delesyon (kırmızı) ve transisyon (mor) mutasyonları.

O. anatolica, *P. chlorantha* ve *O. spitzelii* türlerine ait ITS1 dizilerinin sekonder yapısı incelendiğinde ITS1 dizisindeki varyasyonlardan kaynaklanan sekonder yapı farklılıkları görülmektedir (Şekil 5). *O. anatolica* dizisinde motif tam olarak mevcutken, *P. chlorantha* dizisindeki delesyon ve *O. spitzelii* dizisindeki

transisyon görülmektedir. ITS1 bölgesi kapalı tohumlularda hem nükleotit hem de uzunluk bakımından oldukça değişken bir bölgedir (Won ve Renner, 2005). Orchidaceae familyası içerisinde bu denli değişimler tür seviyesinde ayırt ediciliğe katkıda bulunmaktadır.



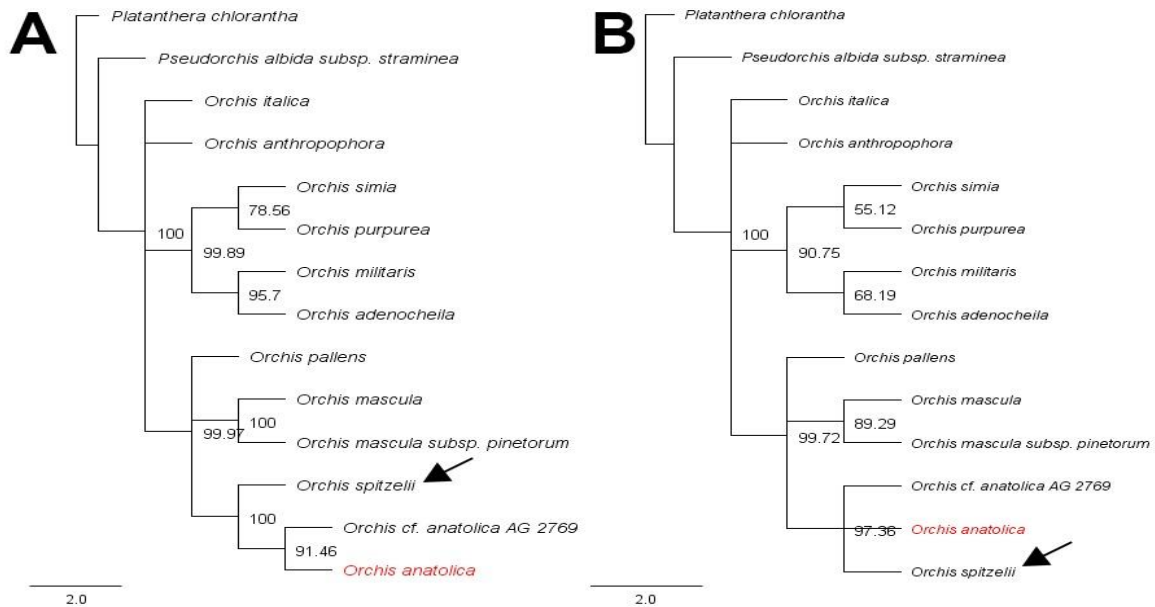
Şekil 5. ITS1 dizilerine ait sekonder yapı tahminleri ve motif farklılıkları. A) *O. anatolica*, B) *P. chlorantha* ve C) *O. spitzelii*. Motifler belirginleştirilmiştir.

Filogenetik bulgular

Çalışmada ITS bölgesi elemanlarının filogenetik açıdan ne derece bilgi verici olduğunu göstermek için ITS bölgesini oluşturan her bir parça için ve ITS bölgesinin tamamı için filogenetik ağaçlar çizilmiş ve karşılaştırılmıştır (Şekil 6-7-8). *P. chlorantha*, ITS'nin tamamı, ITS1 ve ITS2 dizileri kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaçlarda doğal dış grup olarak konumlanırken, 5.8S dizisi kullanılarak çizilen filogenetik ağaçta dış grup olarak konumlanmamıştır (Şekil 8). 5.8S bölgesinin rDNA genini kodlayan korunmuş bir bölge olduğu ve nükleotit değişimlerinin çok daha az olduğu bilinmektedir (Bailey, 2003). Filogeni öncesi yaptığımız biyoenformatik karşılaştırma analizinde de bu bölgenin parsimoni alan sayısının (3) diğer ITS elemanlarına göre çok daha az olduğu (30 ve 33) görülmüştür (Çizelge 2). Bu nedenle bu korunmuş bölgenin *Platanthera*, *Orchis* ve *Pseudorchis* cinsleri için ayırt edici özelliği bulunmamaktadır.

ITS dizisinin tamamı kullanılarak çizilen filogenetik ağaç üç ana kladdan oluşmaktadır

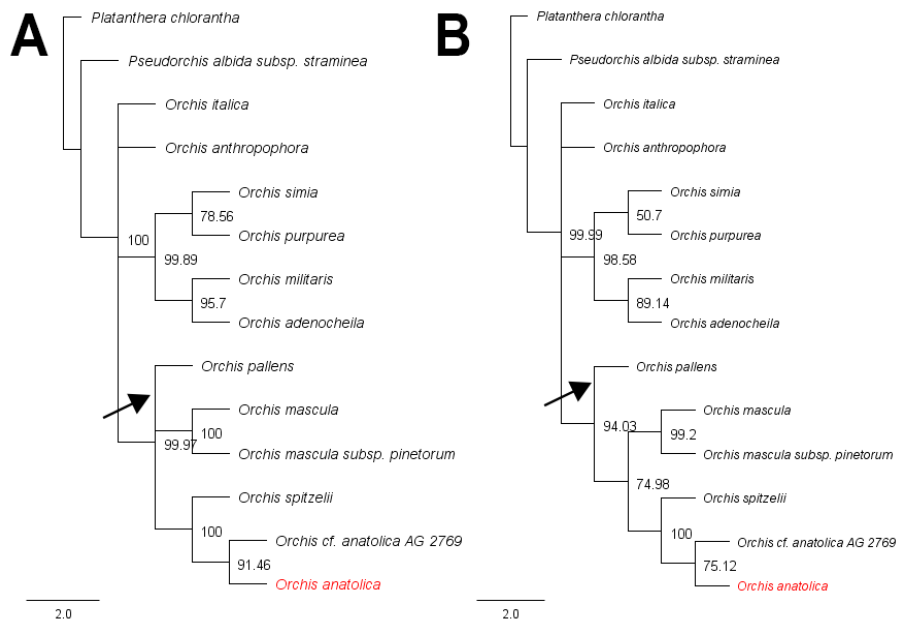
(*Platanthera*, *Pseudorchis* ve *Orchis*) ve ağaç topolojisi Bootstrap istatistik değerleri açısından yüksek oranda desteklenmiştir (Şekil 6). GenBank veri tabanından elde edilen *Orchis* cf. *anatolica* ve tarafımızdan dizilenen *O. anatolica* ağaç üzerinde aynı dal üzerine yerleşmiştir fakat iki örnek arasındaki tek nükleotit polimorfizmleri (SNP) bulunduğundan Bootstrap destek değeri %91.46 olarak hesaplanmıştır. *O. anatolica* türüne kardeş olan *O. spitzelii* ağaç üzerinde kardeş grup olarak doğru bir şekilde konumlanmıştır. Ağaçta ayrıca *Pseudorchis* cinsinin, *Orchis* cinsine kardeş olduğu görülmektedir ve Orchidinae alt oymağı filogenisini desteklemektedir (Jin ve ark., 2017). Sadece ITS1 dizisinin kullanıldığı filogenetik ağacın, ITS dizisinin tamamı kullanılarak çizilen ağaca son derece benzer olduğu görülmüştür (Şekil 6). Her iki ağaç arasında tek fark *O. spitzelii* türünün ITS1 ağacında *O. anatolica* grubunun içine dâhil olmasıdır. ITS1'deki 30 adet parsimoni alanının bu ayrımı yapmaya yeterli olmadığı görülmektedir.



Şekil 6. ITS dizisinin tamamı (A) ve sadece ITS1 dizisi (B) kullanılarak çizilen kladogramların karşılaştırılması. Ağaç topografisi arasındaki farklar ok işaretleri ile belirtilmiştir. Dallar üzerinde Bootstrap destek değerleri yüzde cinsinden verilmiştir.

ITS2 dizisi ile çizilen filogenetik ağacın topolojisi incelendiğinde, yine ITS dizisinin tamamı ile çizilen filogenetik ağaçla çok benzer olduğu görülmüştür (Şekil 7). İki ağaç arasındaki önemli fark ITS2 ile çizilen ağaçta *O. pallens* türünün *O. mascula*, *O. spitzelii* ve *O. anatolica* grubunun ortak ataları olarak görünmesidir. ITS ağacında *O. pallens* kardeş grup olarak görülmektedir. Filogeni açısından *O. pallens*

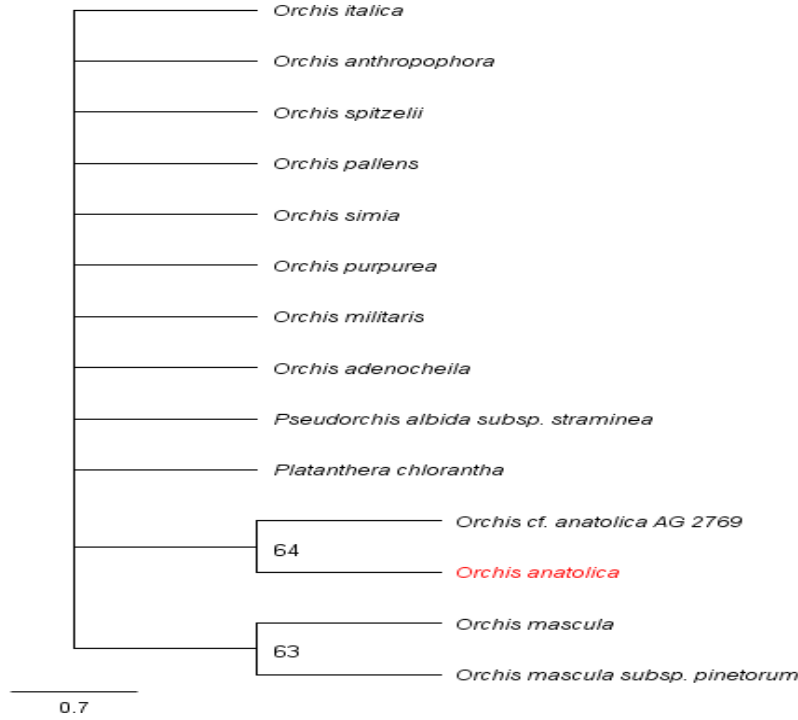
türünün *O. mascula* ile kardeş grup olduğu bilinmektedir (Aceto ve ark., 1999; Bateman, 2009). Bu nedenle ITS ağacının daha doğru bir filogenetik yaklaşım verdiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca ITS2 dizisinde Parsimoni alan sayısının (33) daha az olması *Orchis simia* ve *Orchis purpurea* türleri arasındaki ayrımın Bootstrap tarafından orta derecede (%50.7) desteklenmesine neden olmuştur



Şekil 7. ITS dizisinin tamamı (A) ve sadece ITS2 dizisi (B) kullanılarak çizilen kladogramların karşılaştırılması. Ağaç topografisi arasındaki farklar ok işaretleri ile belirtilmiştir. Dallar üzerinde Bootstrap destek değerleri yüzde cinsinden verilmiştir.

5.8S bölgesine ait filogenetik ağaç, filogeni açısından en az bilgi verici olandır ve tek kladdan oluşmaktadır (Şekil 8). Dış grup ana kladdan ayırlamamıştır. SNP bölgeleri aynı

türler arasında orta derecede desteklenen dalları oluşturmuştur. Bu bölgenin korunmuş bölge olması, ağacın çözünürlüğünün düşük olmasını açıklamaktadır.



Şekil 8. Sadece 5.8S dizisi kullanılarak çizilen kladogram. Dallar üzerinde Bootstrap destek değerleri yüzde cinsinden verilmiştir.

SONUÇ

O. anatolica türünde ITS bölgesinin detaylı olarak incelendiği bu çalışmada, ITS bölgesinin tamamının *Orchis* cinsi içerisinde tür seviyesinde ayırt edebilme gücüne sahip olduğu, ITS elemanları içerisinde en fazla bilgi verici alanın ITS2, en az bilgi verici alanın ise 5.8S bölgesi olduğu görülmüştür. Bu bilgiler ışığında ITS bölgesinin, *Orchis* cinsi için yapılacak daha geniş kapsamlı filogeni çalışmaları için kullanımının uygun olabileceği sonucuna varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın gerçekleştirilmesine katkıda bulunan Prof. Dr. Ahmet Gönüz, Prof. Dr. Kemal M. Taşkın, Dr. Öğr. Üyesi Necmettin Güler ve Dr. Fatih Sezer'e, değerli yorumları ile çalışmanın geliştirilmesine katkıda bulunan anonim hakemlere teşekkür ederiz. Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 2010/05 numaralı proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aceto Caputo P, Cozzolino S, Gaudio L ve Moretti A, 1999. Phylogeny and Evolution of *Orchis* and Allied Genera Based on ITS DNA Variation: morphological gaps and molecular continuity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13(1), 67–76. doi:10.1006/mpev.1999.0628
- Alvarez-Molina A ve Cameron KM, 2009. Molecular Phylogenetics of *Prescottiiinae* S.L. and Their Close Allies (Orchidaceae, Cranichideae) Inferred From Plastid and Nuclear Ribosomal DNA Sequences. *American Journal of Botany*, 96(5), 1020–1040. doi:10.3732/ajb.0800219
- Álvarez I, 2003. Ribosomal ITS Sequences and Plant Phylogenetic Inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29(3), 417–434. doi:10.1016/S1055-7903(03)00208-2
- Bailey C, 2003. Characterization of Angiosperm nrDNA Polymorphism, Paralogy, and Pseudogenes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29(3), 435–455. doi:10.1016/j.ympcv.2003.08.021

- Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM, Wojciechowski MF, Campbell CS ve Donoghue MJ, 1995. The its Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 82(2), 247–277.
- Bateman RM, 2009. Evolutionary Classification of European Orchids: The Crucial Importance of Maximising Explicit Evidence and Minimising Authoritarian Speculation. *Journal Europäischer Orchideen*, 41(2), 243–318.
- Bateman RM, Hollingsworth PM, Preston J, Yi-Bo L, Pridgeon AM ve Chase MW, 2003. Molecular Phylogenetics and Evolution of *Orchidinae* and Selected *Habenariinae* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 142(1), 1–40. doi:10.1046/j.1095-8339.2003.00157.x
- Campbell CS, Wright W, Cox M, Vining TF, Major CS ve Arsenault MP, 2005. Nuclear Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) in *Picea* (Pinaceae): Sequence Divergence and Structure. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 35(1), 165–185. doi:10.1016/J.YMPEV.2004.11.010
- Dizkırıncı A, İşler S ve Yiğit O, 2017. Molecular Phylogenetics of Some *Orchis* Species (Orchidaceae) Native To Turkey Using Nuclear and Chloroplast DNA Sequences. *Gazi University Gazi University*, 30(2), 35–43.
- Doyle ve Doyle JL, 1987. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 15–87. doi:10.2307/4119796
- Feliner GN ve Rosselló JA, 2007. Better the Devil You Know? Guidelines for Insightful Utilization of nrDNA ITS in Species-Level Evolutionary Studies in Plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(2), 911–919. doi:10.1016/j.ympev.2007.01.013
- Gulyás G, Sramkó G, Molnár VA, Rudnóy S, Illyés Z, Balázs T, Bratek Z, 2005. Nuclear Ribosomal DNA ITS Paralogs as Evidence of Recent Interspecific Hybridization in The Genus *Ophrys* (Orchidaceae). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 47, 61–67.
- Hollingsworth PM, Forrest LL, Spouge JL, Hajibabaei M, Ratnasingham S, van der Bank M, Little DP, 2009. A DNA Barcode for Land Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 12794–12797. doi:10.1073/pnas.0905845106
- Hürkan K, 2017. Karasal Bitkilerde DNA Barkodlama: Bazı DNA Barkod Bölgelerinin İncelenmesi. *International Journal of Innovative Approaches in Science Research*, 1(1), 57–67. doi:10.29329/ijiasr.2017.99.6
- Jin W-T, Schuiteman A, Chase MW, Li J-W, Chung S-W, Hsu T-C ve Jin X-H, 2017. Phylogenetics of Subtribe *Orchidinae* s.l. (Orchidaceae; Orchidoideae) Based on Seven Markers (plastid matK, psaB, rbcL, trnL-F, trnH-psba, and nuclear nrITS, Xdh): implications for Generic Delimitation. *BMC Plant Biology*, 17(1), 222. doi:10.1186/s12870-017-1160-x
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Drummond A, 2012. Geneious Basic: An Integrated and Extendable Desktop Software Platform for the Organization and Analysis of Sequence Data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647–1649. doi:10.1093/bioinformatics/bts199
- Kreutz CAJ, 2009. Türkiye Orkideleri (Botanik Özellikleri, Ekolojik Özellikleri, Doğal Yayılış Alanları, Yaşam Tehditleri, Koruma Önlemleri). Rota Yayınları, İstanbul-Türkiye. ISBN: 9786054015078

- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C ve Tamura K, 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. doi:10.1093/molbev/msy096
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Higgins DG, 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21), 2947–2948. doi:10.1093/bioinformatics/btm404
- Mayer, Christoph, Phobos 3.3.11, 2006-2010.
- Pridgeon AM, Bateman RM, Cox A V, Hapeman JR ve Chase MW, 1997. Phylogenetics of Subtribe *Orchidinae* (Orchidoideae, Orchidaceae) Based on Nuclear ITS Sequences. 1. Intergeneric Relationships and Polyphyly of *Orchis sensu lato*. *Lindleyana*, 12(3), 89–109.
- Rudall PJ ve Bateman RM, 2003. Evolutionary Change in Flowers and Inflorescences: Evidence From Naturally Occurring Terata. *Trends in Plant Science*, 8(2), 76–82. doi:10.1016/S1360-1385(02)00026-2
- Sezik E, 1984. Orkidelerimiz Türkiye'nin Orkideleri. İstanbul-Türkiye. Sandoz Kültür Yayınları.
- Shipunov AB, Fay MF, Pillon Y, Bateman RM ve Chase MW, 2004. *Dactylorhiza* (Orchidaceae) in European Russia: Combined Molecular and Morphological Analysis. *American Journal of Botany*, 91(9), 1419–1426.
- Sramko G, Attila M V., Hawkins JA. ve Bateman RM, 2014. Molecular Phylogeny and Evolutionary History of the Eurasiatic Orchid genus *Himantoglossum s.l.* (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 114(8), 1609–1626. doi:10.1093/aob/mcu179
- Swofford DL, 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- The Plant List (2013). Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (Erişim tarihi 10.10.2018).
- White TJ, Bruns TD, Lee S ve Taylor JW, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky ve T. J. White (Ed.), PCR protocols: A guide to methods and applications içinde (ss. 315–322). San-Diego: Academic Press.
- Won H ve Renner SS, 2005. The Internal Transcribed Spacer of Nuclear Ribosomal DNA in the Gymnosperm Gnetum. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 36(3), 581–597. doi:10.1016/j.ympev.2005.03.011
- Zimmer EA ve Wen J, 2012. Using Nuclear Gene Data for Plant Phylogenetics: Progress and Prospects. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65(2), 774–785. doi:10.1016/j.ympev.2012.07.015

Comparative Analysis of Park User Preferences in Konya (Turkey) and Kirkuk (Iraq) Cities

Walaa Ghassan ALABBAS¹

Ahmet Tuğrul POLAT^{1*}

ABSTRACT: Parks provide different benefits to the city apart from being an open area only. Parks are open and green area system components that have effects on the city in many dimensions such as physical, social and economic structures and livability, ecological environment protection, urban aesthetics, education, recreation and contributions to children's education. It is known that parks are valuable for urban sustainability and supporting quality of life and it is seen that the parks have become an important quality objective of cities in terms of both quantity and quality. A park is not only a green area in the city but also an area from which different users can benefit equally as a public space. Park areas are expected to provide services for the needs and requests of different age groups, genders and occupational groups separately. Because of this reason, in planning, it is necessary to consider primarily the designs that give peace and confidence to users, enable them to relax and rest, and most importantly, to be pleased. Planning oriented decisions should be made by systematizing criticisms, reactions, requests of users, various observations, researches such as monitoring, investigation. In this study; park visits of park users in Konya and Kirkuk, their purpose of using parks, units and equipment that should be available in parks, benefits of parks and preferences for activities were determined. Later, different cultures, geographies, social life habits and preferences of park users in Konya and Kirkuk cities have been compared based on the findings obtained. This comparison also shows what kind of changes park planning and design works may undergo on universal and regional scales according to the preferences of park users. The statistically significant differences were determined for preferences related to park visit frequencies (p:0.03), park visit hours (p:0,00), park visit durations (p:0.04), means of transport while going to parks (p:0.00), purpose of using parks (p:0.01), units that should be available in parks (p:0.03) and benefits provided by parks (p:0.00). Suggestions were made to sharers of the subject based on the results obtained.

Keywords: Konya, Kirkuk, Park, Park user, Preferences

¹Walaa Ghassan ALABBAS (Orcid ID: 0000-0001-7672-5196), Ahmet Tuğrul POLAT (Orcid ID: 0000-0002-0980-3243), Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Konya, Türkiye

* Corresponding Author: Ahmet Tuğrul POLAT, e-mail: atpolat@selcuk.edu.tr

This study was produced from Master's thesis of Walaa Ghassan ALABBAS and published as a summary at congress named 1st International Conference on "Agriculture, Forestry & Life Sciences" 6-8 September 2018 in Budapest.

INTRODUCTION

Parks are open and green areas of cities. Parks provide different benefits to the city apart from being an open area only (Polat and Önder, 2004; Önder and Polat, 2012). Parks are adaptation of nature-like place to urban life and its combination with cultural activities. Those are areas built for people increasingly getting away from the nature in cities in order to bring nature to them (Ören, 2015). Parks are open and green area system components that have effects on the city in many dimensions such as physical, social and economic structures and livability, ecological environment protection, urban aesthetics, education, recreation and contributions to children's education (Onsekiz and Emür, 2008). It is known that parks are valuable for urban sustainability and supporting quality of life (Mutiarra and Isami, 2012) and it is seen that parks have become an important quality objective of cities in terms of both quantity and quality (More, 1990). Parks have potential to enrich urban life by eliminating monotony and homogeneity of city surrounding (Renklidağ, 2000). Parks are functional elements of green areas in city plannings, where recreational activities take place (Coşaner, 2009). According to Woolley (2003), as representative of urban green areas, parks play an excellent role in balancing the need for city protection against degradation of urban environment while maintaining rapid development of urban growth (Iamtrakul et al., 2005). Parks play a vital role in sustainable urban environments. Urban parks provide significant environmental benefits, enable air and water treatment and reduction in heat islands (Jeon and Hong, 2015).

Parks are complex systems containing many factors. When factors of plants, soil, water, air, color and smell, seasons, visible and sensory experiences, visitors come together, they form a complex parking system (Yücel, 2005). Today,

parks gain importance as areas where individuals from every social class (old, young, rich, etc.) are together besides their flora and fauna features (Al-Qudah, 2006). Different parts of parks are used by different user groups and different groups of people use different types of parks (Yücel, 2005). A park is not only a green area in the city but also an area from which different users can benefit equally as a public space (Goličnik, 2008).

As a symbol/reflection of nature in the city, parks allow urban people to maintain their relations with nature, diversify constantly in direction of new use needs arising in time and gain new meanings (Özkır, 2007). Park areas are expected to provide services for the needs and requests of different age groups, genders and occupational groups separately. Because of this reason, in planning, it is necessary to consider primarily the designs that give peace and confidence to users, enable them to relax and rest, and most importantly, to be pleased. Planning oriented decisions should be made by systematizing criticisms, reactions, requests of users, various observations, researches such as monitoring, investigation (Kart, 2002). Studies carried out in the field of park planning and recreation caused use of parks to be analyzed from multiple aspects. Questionnaires conducted about use of parks are used in order to determine satisfaction levels of visitors and therefore, performance level of parks, users' claims, needs and tendencies. Data obtained from park user questionnaires are utilized during the preparation of park management plans (Oğuz, 1998).

In this study; park visits of park users in Konya and Kirkuk, their purpose of using parks, units and equipment that should be available in parks, benefits of parks and preferences for activities were determined. Later, different cultures, geographies, social life habits and preferences of park users in Konya and Kirkuk cities were compared based on the findings

obtained. This comparison also shows what kind of changes park planning and design works may undergo on universal and regional scales according to the preferences of park users. Suggestions were made to sharers of the subject based on the results obtained.

MATERIALS AND METHODS

Material

Users of Konya and Kirkuk urban parks were selected as main research material. The reason for the selection of Konya and Kirkuk provinces is that they allow comparison of two different cities from a climatic and cultural point of view. Konya Province is located in the south of Central Anatolia Region which is in the middle of Anatolian Peninsula. Surface are of Konya is 38 873 km² and its altitude is average 1

011 m. Population of Konya is 2 180 149 according to 2017. Summers are hot and dry, winters are cold and rainy in Konya, having a continental climate (Anonymous, 2014). (Anonymous, 2014). Kirkuk city is boarded by Sulaymaniyah to the east, Koy Sanjaq and Erbil to the north, Mosul to the west, Baghdad to the southwest (Anonymous, 2017a). Surface area of Kirkuk is 9 676 km² and its population is 1.26 million (Anonymous, 2017b). In Kirkuk, average annual rainfall is 365 mm and mean yearly temperature is 21.6 °C (Anonymous, 2018). There are approximately 20 urban parks in Konya Province and 5 urban parks in Kirkuk Province. Images of parks in Konya Province are given in Figure 1., images of parks in Kirkuk Province are given in Figure 2.

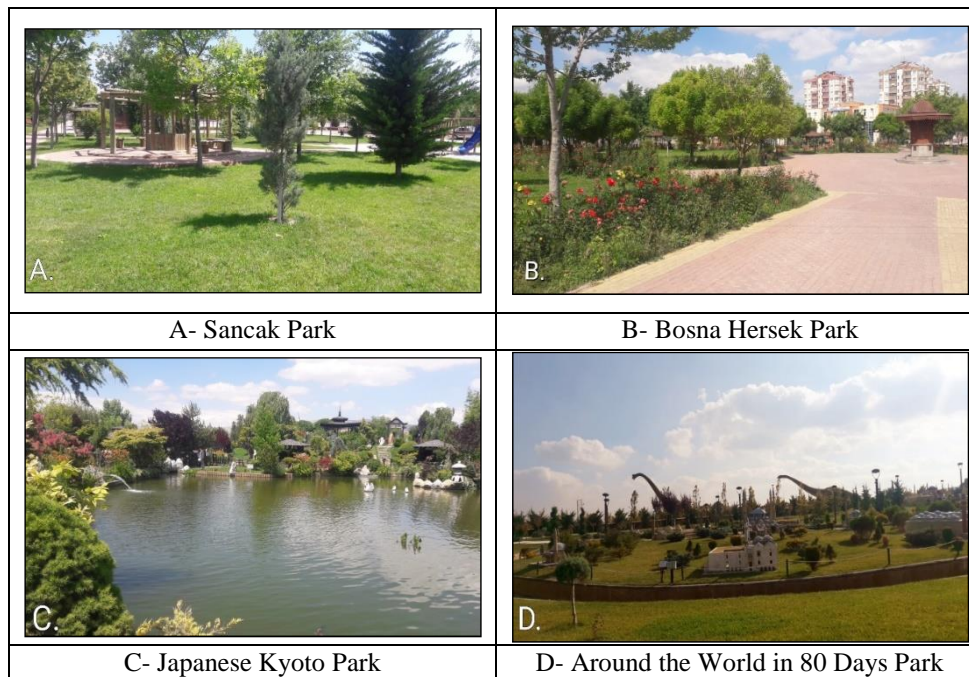


Figure 1. Images of Parks in Konya (Original)

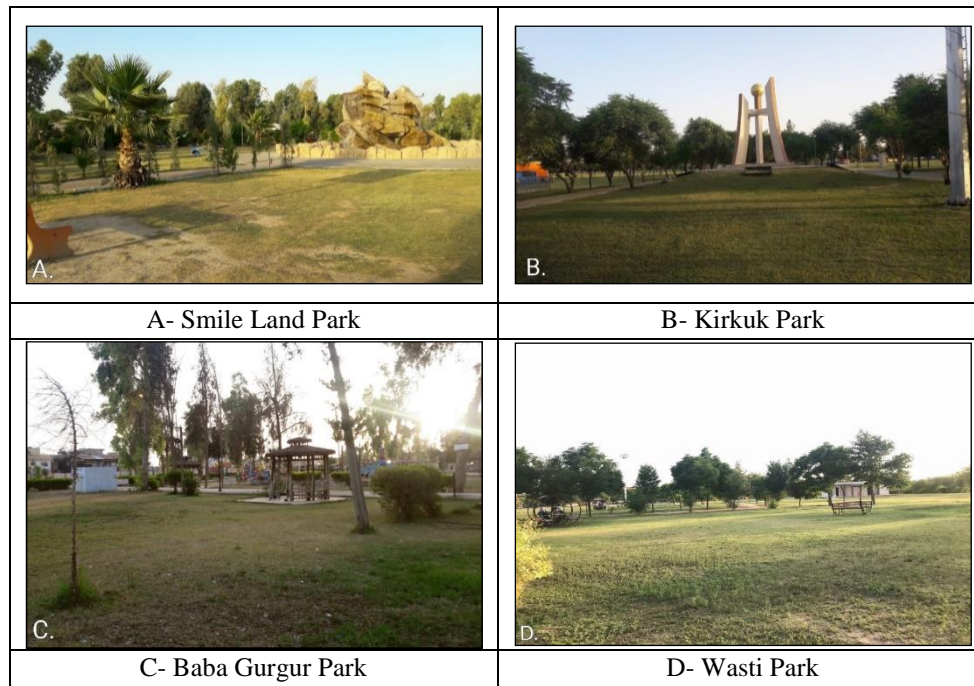


Figure 2. Images of parks in Kirkuk (Original)

Literature such as books, journals, articles, papers, master's and doctoral theses published related to urban parks and preferences of urban park users and internet resources were used as research material. Also, A4 size questionnaire form consisting of 4 pages, Office 2016 and SPSS 22 softwares are other materials of the research.

Method

Research method was carried out in 4 stages. First of all, topic was determined. In the second stage, the literature was investigated. In the third stage, a questionnaire was designed and implemented and obtained data were organized, frequencies were calculated with SPSS 22 software and statistical analysis was made. Survey questions include users' demographic characteristics (gender, age, educational level, income level and occupation). Parameters relating to park visits according to park users' preferences, their purpose of using parks, units and equipment that should be available in parks, benefits of parks and activity were determined according to information based on literature. Questionnaire was tried to be made easy,

applicable. Questionnaire study was conducted by using face-to-face interview method in Konya and Kirkuk cities in Turkish/Arabic languages in March and April 2018.

Questionnaire was made in the parks of related cities on weekends and in the daytime. Sample size was determined from formula $n = \frac{N \cdot P \cdot Q \cdot Z^2 \alpha / (N-1) \cdot d^2}$ according to Özdamar (2003). According to this, it was calculated as 96 people for each of Konya and Kirkuk cities. However, it was tried to increase the number of questionnaires to be made as much as possible by considering that there might be invalid questionnaires. Questionnaire which was conducted with 212 participants in Konya Province and 103 participants Kirkuk Province, was used in the research.

After questionnaire was completed, questionnaire forms were arranged by means of Microsoft Excel software and frequencies of data obtained were calculated by means of SPSS 22 software. Then, Man Whitney U statistical test was applied to this data. As a result, differences between preferences of park users in Konya and Kirkuk cities were tried to be determined.

RESULTS AND DISCUSSION

Demographic Characteristics of Participants

Demographic characteristics of participants are given in Table 1 within the scope of questionnaire study. According to this; approximately half of the participants in Konya Province are male and half of them are female. Approximately half of the participants are students between the ages of 19 and 25, most of them are university graduates, their average

income level is between \$ 0 and 300. Approximately half of the participants in Kirkuk Province are male and half of them are female. Nearly half of the participants are between the ages of 18 and 25 and income level of more than half of them is between \$ 300 and 1 100. More than half of the participants are university graduates and about one third of them are public personnel (Table 1).

Table 1: Demographic characteristics of participants.

	Konya		Kirkuk	
	Number of People	%	Number of People	%
Gender				
1. Female	102	48	48	49
2. Male	110	52	55	51
	Age			
1. 0-18	22	10	14	15
2. 19-25	95	45	26	26
3. 26-35	38	18	18	17
4. 36-50	31	15	12	13
5. 51-65	24	11	18	23
6. 65 and older	2	1	8	6
Educational status				
1. Illiterate	2	1	9	10
2. Primary school graduate	16	8	13	13
3. High school graduate	65	31	17	19
4. University	106	50	49	50
5. Postgraduate	22	10	8	8
Occupation				
1. Student	96	46	20	20
2. Public personnel	31	14	30	34
3. Self employed	32	15	12	10
4. Unemployed	8	4	4	4
5. Housewife	14	7	15	14
6. Worker	10	5	9	10
7. Retired	19	9	7	8
Average monthly income				
1. \$ 0-300	80	46	22	29
2. \$ 300-600	58	28	22	26
3. \$ 600-1100	35	16	22	32
4. \$ 1100 and more	21	10	9	13

Findings Based on Preferences

Within the scope of the questionnaire, participants were asked how often they visited parks located in the city where they lived and

responses were shown with graphics given in Figure 3. In the light of this data, approximately half of participants in Konya Province visit parks more frequently. Only one third of participants

in Kirkuk Province visit parks more frequently. When it was considered in terms of less frequent visit (once a month and once every 15 days), it

was found that participants in Kirkuk Province visit less frequently than participants in Konya Province.

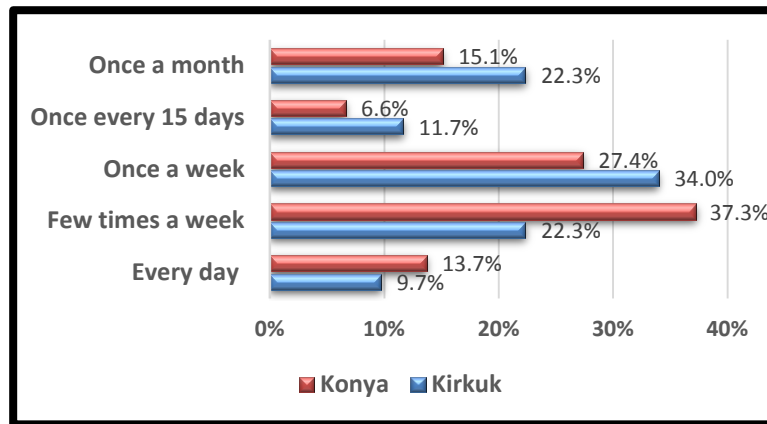


Figure 3. Distribution of preferences according to participants' park visit frequencies

Distribution of preferences for participants' park visit days

Days when participants visited the parks were researched and obtained results were given in Figure 4. According to this, majority of participants in Konya and Kirkuk Provinces preferred to visit parks on weekend days.

However, when it was looked at weekday response, it was determined that rate of participants in Kirkuk Province was very low when compared to Konya Province. It is thought that such result has been obtained as a result of access problems to parks in Kirkuk Province.

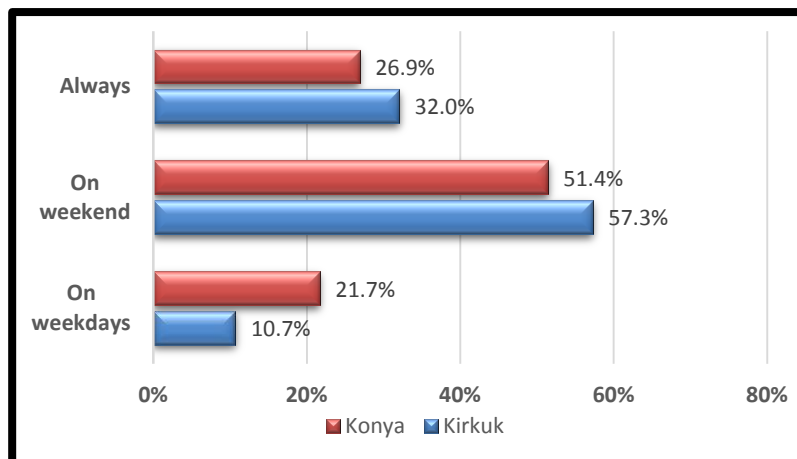


Figure 4. Distribution of preferences for participants' park visit days

Distribution of preferences for hours when participants visit parks during the day

Findings about in which hours participants visited the parks during the day were given in Figure 5. When graphics given in Figure are viewed, it was determined that participants in Konya and Kirkuk Provinces preferred to visit

parks in the afternoon during the day. It is seen in the striking result that about half of the park users in Kirkuk Province prefer evening hours. It is thought that this results from geographical position of Kirkuk Province and therefore, region's climatic conditions.

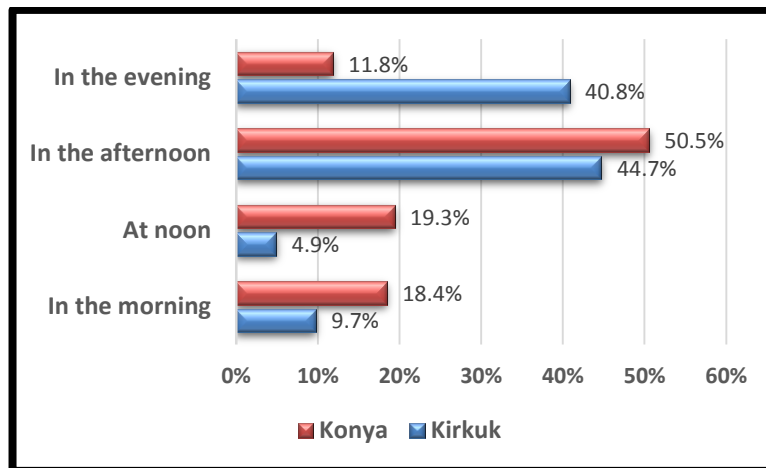


Figure 5. Distribution of preferences for hours when participants visit parks during the day

Distribution of preferences according time periods when participants be present in the parks

Duration their stay was researched when users in Konya and Kirkuk Provinces visited the

parks located in the cities where they lived and findings were given in Figure 6. According to these results, it was determined that majority of participants preferred to spend average of 2-3 hours when they visited the parks in both cities.

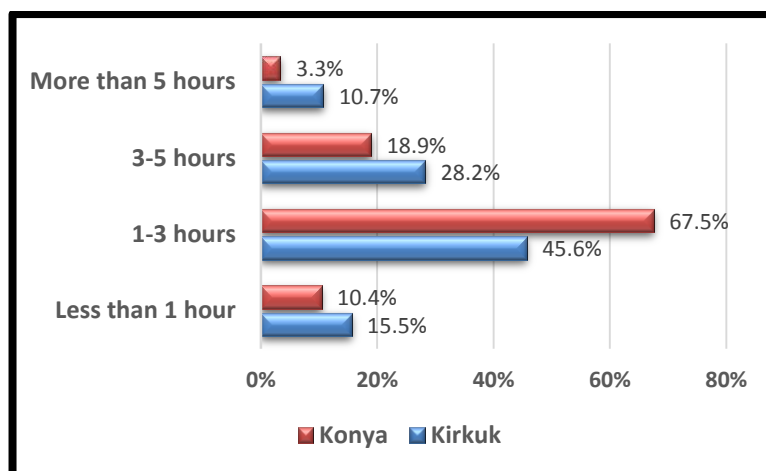


Figure 6. Distribution of preferences according time periods when participants be present in the parks

Distribution of preferences of participants for means of transport during their visit

Participants were asked which transportation options they preferred while visiting parks and responses were given in Figure 7. When these answers are examined, very interesting results are seen. While more than half of participants in Konya Province visit

parks on foot, about half of the participants in Kirkuk Province visit parks by their private cars. Use of private cars and taxis as a transportation option is widespread in throughout Kirkuk Province. Public transportation vehicles are not preferred in Kirkuk Province much. One of the most important reasons for this is the low fuel prices.

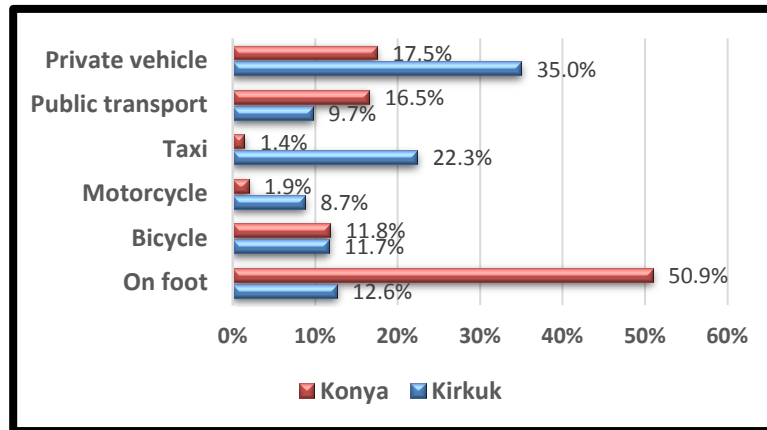


Figure 7. Distribution of preferences of participants for means of transport during their visit

Distribution of preferences of participants for with whom they visit the parks together

It was investigated with whom park users in Konya and Kirkuk Provinces make their visits together and data obtained are given in Figure in

8. According to this data, a large majority of participants in both cities participating in the research go to parks with friends and families. Also, low rate of people going to parks together with their pets emerged as a dramatic result.

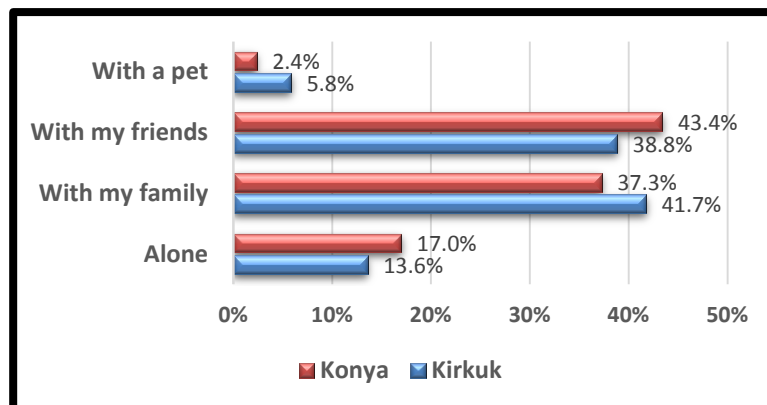


Figure 8. Distribution of preferences participants for with whom they visit the parks together

Distribution of preferences according to participants' purpose of using parks

Graphics including responses of participants to question regarding participants' purpose of using parks are given in Figure 9. Responses to this question were requested from the participants with 3 preferences according to their importance. According to this, participants in Konya Province stated that they visited parks for purpose of enjoying a scenery at the first significance level, walking at the second significance level and resting/relaxing at the third significance level. Likewise, participants in Kirkuk Province stated that they visited parks for

purpose of entertainment at the first significance level, cultural visit at the second significance level and resting/relaxing at the third significance level. When this situation is evaluated, it is understood that park users in Kirkuk Province prefer parks for the purpose of entertainment while aesthetic based on plant is on the forefront for park users in Konya Province. Also, it was revealed that participants in Kirkuk Province preferred places and materials on which reflection of culture was seen and cultural activities in the parks more while participants in Konya Province visit parks for the purpose of walking activity.

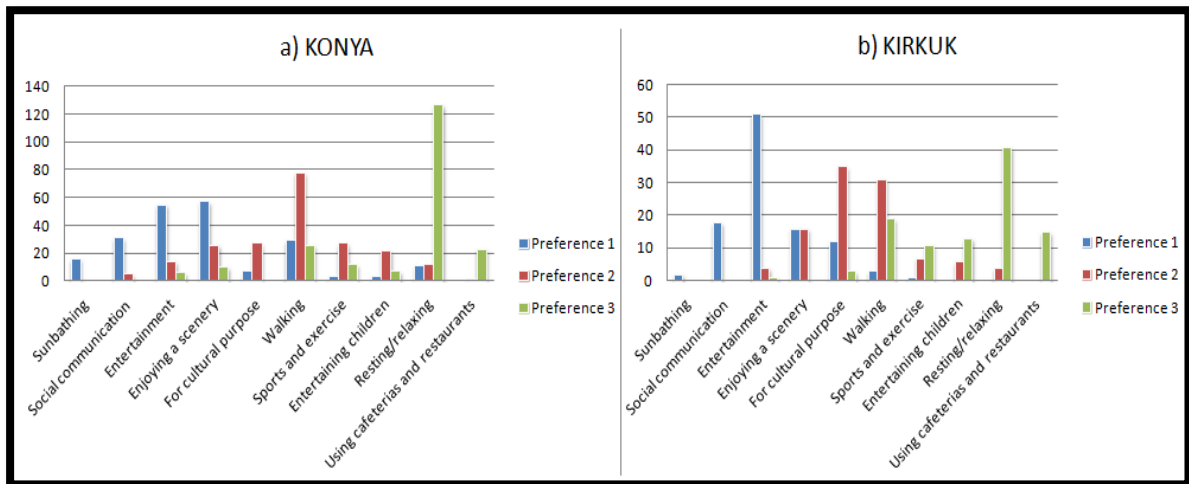


Figure 9. Distribution of preferences according to participants' purpose of using parks

Distribution of preferences of participants for units that should be available in parks

Within the scope of the questionnaire, participants were asked their preferences for units that should be available in parks and responses were shown with graphics given in Figure 10. Responses to this question were requested from the participants with 3 preferences according to their importance. Participants in Konya Province stated their preferences saying that walking and jogging tracks should be available in parks at the first significance level and toilet units should be available at the second and third significance levels. Participants in Kirkuk Province stated their preferences saying that sitting areas should be available in parks at the first significance level, open grass areas should be available at the second significance level and pool, waterfall and artificial lake units should be available at the

third significance level. In parallel with their purposes of using parks, participants in Konya Province stated that they preferred walking and jogging tracks among units that should be available in parks at the first significance level. Problems related to lack of toilets in Konya parks emerged in this section. Due to lack of sitting areas in parks located in Kirkuk Province, participants preferred sitting units at the first significance level in here. It is thought that preference for grass areas at the second significance level is caused by maintenance and sustainability problems of grass areas in Kirkuk parks. It is thought that geographical position and climate conditions of Kirkuk Province play an important role in preferences of participants in Kirkuk Province in direction of units based on water at the third significance level.

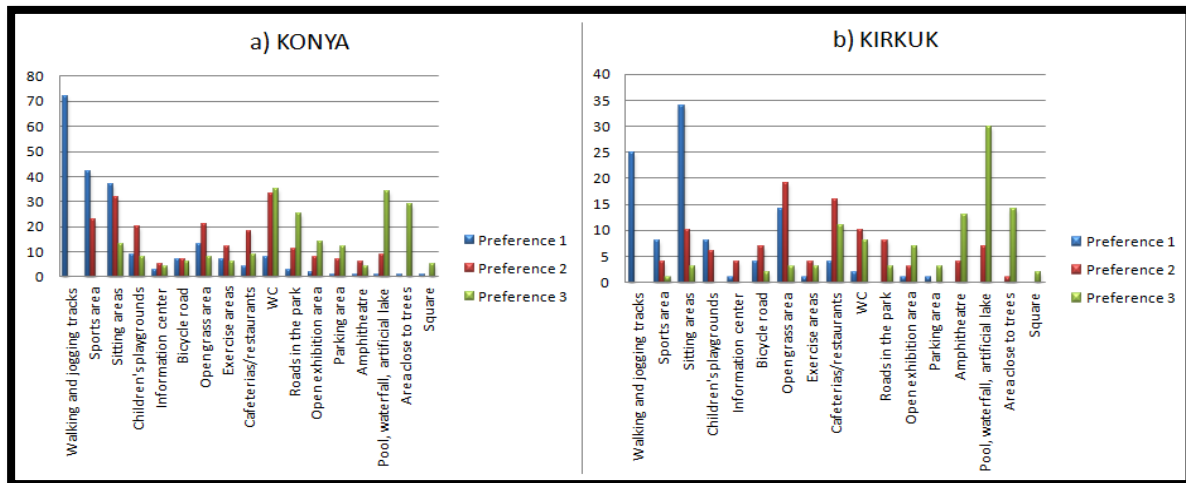


Figure 10. Distribution of preferences of participants for units that should be available in parks

Distribution of preferences of participants for park equipment

Results obtained related to equipment that park users prefer to find in the parks located in the cities where they live, are given in Figure 11. It is seen that participants in Kirkuk Province

prefer bench and lighting equipment while participants in Konya Province prefer equipment of pergola and flower beds. It is guessed that reason of preferring equipment determined by these results is insufficiency of them in both urban parks.

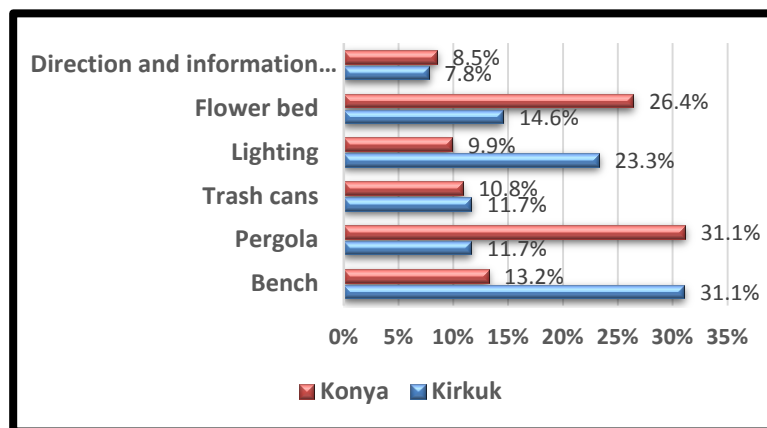


Figure 11. Distribution of preferences of participants for park equipment

Distribution of preferences of participants for benefits provided by parks

Graphics including responses of participants to question regarding benefits provided by parks are given in Figure 12. Responses to this question were requested from the participants with 3 preferences according to their importance. Participants in Konya Province

stated their preferences saying that parks in the cities where they live should provide beautiful images at the first significance level, provide quietness and peace at the second significance level and provide benefits for clean air and environment at the third significance level. Likewise, participants in Kirkuk Province stated their preferences saying that parks in the cities

where they live should provide beautiful images at the first significance level and provide benefits for clean air and environment at the second and third significance levels. Participants in Konya Province set forth their preference for provision of beautiful images among benefits provided by parks in parallel with their purposes of using parks. Participants in Kirkuk also stated their preference similarly at the first significance level. Participants in Kirkuk Province stated that benefits for clean air and environment at the second significance level while participants in Konya Province stated that parks provided quietness and peace at the second significance level. An important finding emerging in this section is the fact that all participants indicated their preferences in direction of parks providing clean air and having environmental benefits.

Distribution of preferences of participants for activities that they want to carry out in the parks

Within the scope of the questionnaire, participants were asked their preferences for activities that they wanted to conduct in parks and responses were shown with graphics given in Figure 13. Responses to this question were requested from the participants with 3 preferences according to their importance. Participants in Konya preferred walking and jogging at the first significance level, meeting with friends at the second significance level, and riding bicycles and children's play at the third significance level. Participants in Kirkuk Province preferred walking and jogging at the first significance level and picnic at the second and third significance levels. According to these results, it has been found that park users in both cities prefer especially walking and jogging in the parks. This confirms awareness of

relationship between physical activity and personal health, which has been also on the world's agenda recently. In this regard, it also emphasizes that parks also provide an opportunity as a place. Also, high preference rate of participants in Kirkuk Province for picnic activity can be shown as the result of adoption of picnic culture in the region. It is also a surprising result that participants in Konya Province did not specify their preference for picnic activity among the first 3 significance levels.

Comparative Analysis of Preferences of Park Users in Konya and Kirkuk Provinces

Within the scope of research carried out Konya and Kirkuk Provinces, questions were asked to park users for their preferences and responses of park users in both cities were compared in this section of the research. This comparison was applied to data obtained through Man Whitney U which is a statistical method and results were interpreted by being evaluated.

When data for the preferences of parks users in Konya and Kirkuk are compared; statistically significant differences were determined for preferences related to park visit frequencies (p:0.03), park visit hours (p:0.00), park visit durations (p:0.04), means of transport while going to parks (p:0.00), purpose of using parks (p:0.01), units that should be available in parks (p:0.03) and benefits provided by parks (p:0.00) (Table 2). But however, statistically significant differences were not determined for preferences of parks users in Konya and Kirkuk related to park visit days (p:0.05), with whom they make their park visits together (p:0.69), equipment that should be available in parks (p:0.08), activities that might be carried out in the parks (p:0.15) and rest areas in the parks (p:0.13).

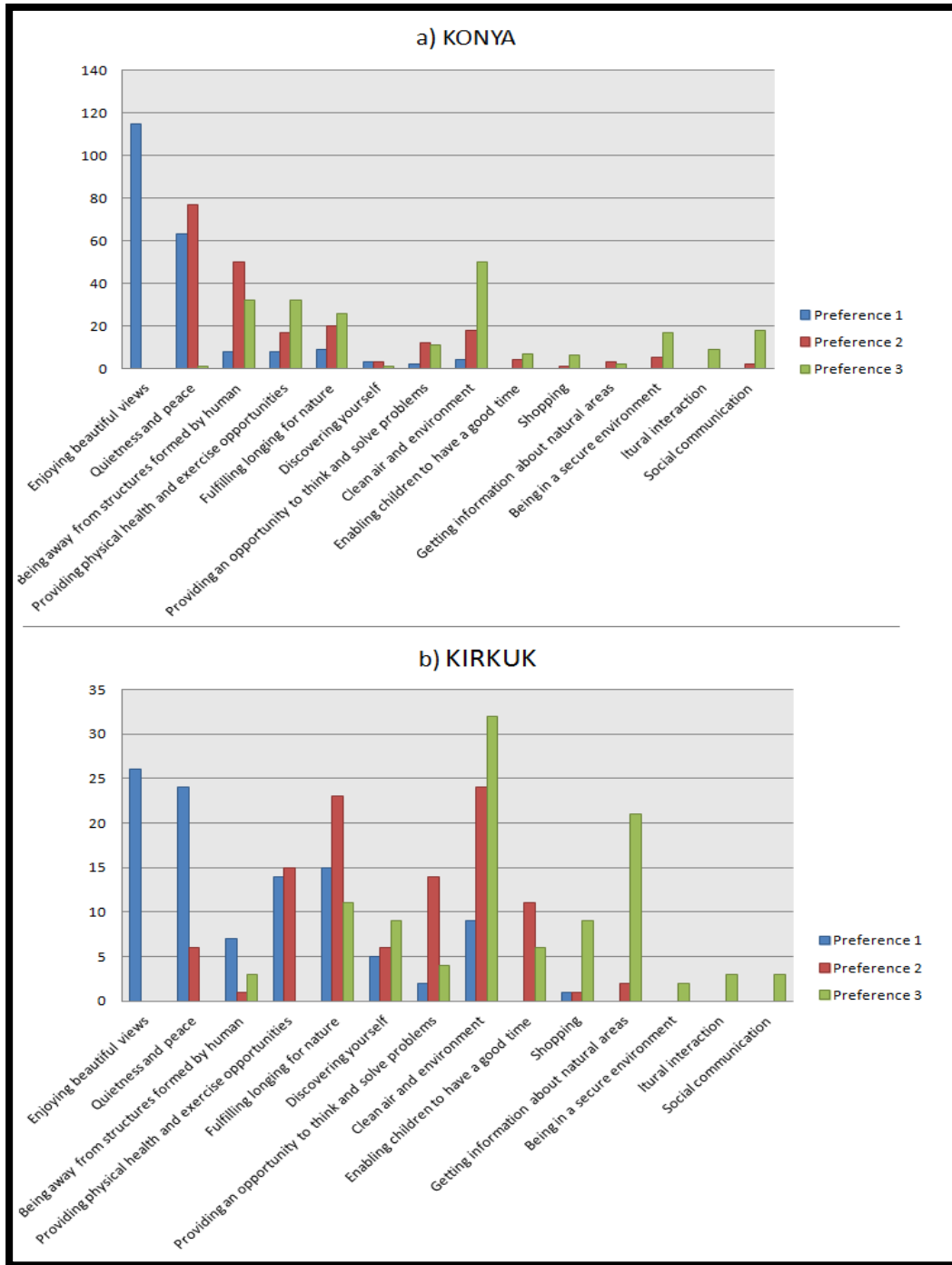


Figure 12. Distribution of preferences of participants for benefits provided by parks

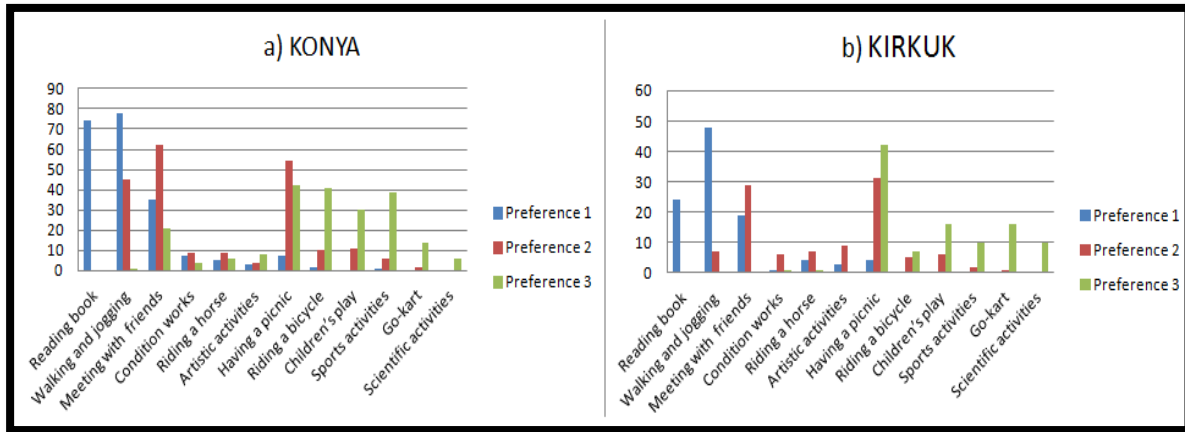


Figure 13. Distribution of preferences of participants for activities that they want to carry out in the parks

Park users in Konya visit parks more frequently when compared to park users in Kirkuk. Park users in Kirkuk visit parks in the evening while parks users in Konya visit parks in the afternoon. According to park visit durations, park users in Kirkuk spend more time than park users in Konya. While park users in Konya reach parks by walking and public transport vehicles, park users in Kirkuk mostly reach parks by private cars and taxis. It has been determined that there are various differences in park users' purposes of using parks in Konya and Kirkuk. While units preferred by park users in Konya

appeared as walking and jogging tracks, park users in Kirkuk preferred sitting area units. When preferences for equipment were compared, it was determined that park users in Konya preferred shade equipment and the flower beds, however park users in Kirkuk preferred lighting equipment and benches. In terms of benefits provided by parks, preferences of park users in Kirkuk vary more while park users in Konya preferred visual quality and quietness. When comparative analysis was made, only responses at the first significance level were analyzed statistically.

Table 2. Comparative analysis of preferences of park users in Konya and Kirkuk provinces

Park Use Preferences	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Park visit frequency	8 736.50	31 314.50	-2.97	0.00*
Park visit days	9 598.00	32 176.00	-1.92	0.05
Park visit hours	6 823.50	29 401.50	-5.79	0.00*
Park visit durations	9 607.00	32 185.00	-1.97	0.04*
Means of transport while going to parks	6 746.50	29 324.50	-5.71	0.00*
With whom they make their park visits together	10 640.50	33 218.50	-0.39	0.69
Purpose of using parks	9 158.50	14 514.50	-2.38	0.01*
Units that should be available the in parks	9 378.50	31 956.50	-2.07	0.03*
Equipment that should be available in the parks	9 620.00	14 976.00	-1.74	0.08
Benefits provided by parks	6 375.00	28 953.00	-6.35	0.00*
Activities that might be carried out in the parks	9 903.50	32 481.50	-1.41	0.15
Rest areas in the parks	9 797.50	32 375.50	-1.51	0.13

CONCLUSION

Within the scope of the research, questionnaire study was conducted to determine preferences of park users in Konya and Kirkuk Provinces for parks which were located in cities where they lived. Although sample size was calculated as 96 for both cities, questionnaire was conducted by making one on one interviews with more people. However, number of valid questionnaires was determined as 212 in Konya Province and 103 in Kirkuk Province and research was carried out according to these numbers. In the questionnaire conducted, a balanced rate was provided in terms of demographic characteristics of the participants. Participants' preferences for parks were determined in both cities. In the last part of the study, data obtained from Konya and Kirkuk Provinces were statistically compared and analyzed. According to this, statistically significant differences were determined for preferences related to park visit frequencies, park visit hours, park visit durations, means of transport while going to parks, purpose of using parks, units that should be available in parks and benefits provided by parks.

In the part of study related to personal characteristics of the participants; it is seen that number of participants who are young and high school graduate students is higher in Konya Province than Kirkuk Province, however, more public personnel participated in questionnaire in Kirkuk Province than Konya Province. In terms of the income levels of the participants, participants in Kirkuk Province have higher income.

According to the results for preferences in the questionnaires; participants in Konya Province visit parks once a week or more, majority of participants in Kirkuk Province visit parks once a week or less. It was determined that participants visited parks on weekends in general. Participants in Konya Province visit

parks in the afternoon, participants in Kirkuk Province visit parks in the evening. It shows that all participants stay in parks for 1-3 hours mostly. While participants in Konya Province reach parks by walking and public transport vehicles, participants in Kirkuk Province reach parks by private cars and taxis. Majority of participants prefer to go parks together with their families and friends. While participants in Konya Province use parks for the purpose of scenery, entertainment, walking, resting and relaxing, participants in Kirkuk Province use parks for the purpose of entertainment, cultural activity, walking, resting and relaxing. While participants in Konya Province prefer walking track, toilet and sports areas, participants in Kirkuk Province prefer sitting areas, water elements and walking, jogging tracks. While shade equipment appears as a park equipment that is preferred by participants in Konya Province to be available, participants in Kirkuk Province prefer benches. It has been determined that parks provide beautiful sceneries, quietness, peace and a clean environment to the participants in Konya and Kirkuk Provinces. Majority of participants preferred to walk, jog, read books and have a picnic in the parks. Participants in Konya Province prefer to rest in open grass areas in the parks and participants in Kirkuk Province prefer to rest in areas under the trees.

Results prove that users with different characteristics have different preferences. Such studies allow preference profile of park users to be developed at local and regional scales. With satisfaction data obtained, important information will be provided for park renovation works by making inferences for park designs.

Designing parks for people living in a specific cultural environment and geography according to their preferences is also an important point to consider about building livable and sustainable cities. In general, user

preferences and parks' quality criteria can be listed as accessibility, activity diversity, appealing different age groups, being available every season, being secure and well maintained. Determination of these preferences with necessary studies and creation of user profiles should be indispensable in planning and design stages of public institutions offering parks to users.

With the inclusion of park users in park planning, design, implementation and management studies, plans containing urban management decisions will have an integrity and all parking spaces in the city will be created so as to provide continuity and flexibility for the changes that may occur in time.

Perception and preference studies based on location and region, and comparative analysis as in this study are recommended to those who are engaged in scientific researches related to the subject. With such studies, local and regional user profiles can be developed and differences can be used in park planning and design works.

REFERENCES

- Al-Qudah YM, 2006. Amman (Ürdün) Kent Parklarının Peyzaj Erişilebilirliği Yönünden İrdelenmesi, Amman (Ürdün) Kent Parklarının Peyzaj Erişilebilirliği Yönünden İrdelenmesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Anonim., 2014. Konya Hakkında Bilgi, <http://www.cografya.gen.tr/tr/konya/> (Erişim Tarihi: 24.04.2018).
- Anonymous., 2017a. كوكرك عقبت نيأ, <http://mawdoo3.com/%D8%A3%D9%8A%D9%86%D8%AA%D9%82%D8%B9%D9%83%D8%B1%D9%83%D9%88%D9%83>. (Erişim Tarihi: 20.03.2018).
- Anonim., 2017b. Kerkük'ün Nüfusu Ne Kadar? <https://www.yenicikanlar.com.tr/kerkukun-nufusu-ne-kadar-1221/> (Erişim Tarihi: 22.04.2018).
- Anonymous., 2018. İklim: Kirkuk, <https://tr.climate-data.org/location/2920/>: (Erişim Tarihi: 22.04.2018).
- Coşaner M, 2009. İstanbul İli Şişli İlçesinde Bulunan Bazı Parkların Peyzaj Tasarım İlkeleri Açısından İrdelenmesi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Goličnik B, 2008. Parks and their users. *Urbani izziv.* 19 (2): 133-139.
- Iamtrakul P, Teknomo K, Hokao K, 2005. Public park valuation using travel cost method, *Proceedings of the Eastern Asia Society for Transportation Studies*, 5:1249-1264.
- Jeon JY, Hong JY, 2015. Classification of urban park soundscapes through perceptions of the acoustical environments, *Landscape and urban planning*, 141: 100-111.
- Kart N, 2002. Emirgan Parkında Kullanıcıların Memnuniyet Derecelerinin Belirlenmesi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- More TA, 1990. Factors affecting the productivity of urban parks, US Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station 7 p., 630.
- Mutiara S, Isami K, 2012. Characteristic of public small park usage in Asia Pacific countries: case study in Jakarta and Yokohama City, *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 35: 412-419.
- Oğuz D, 1998. Kent Parkı Kavramı Yönünden Ankara Kent Parklarının Kullanım Olgusu Üzerinde Bir Araştırma. Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Onsekiz D, Emür SH, 2008. Kent parklarında kullanıcı tercihleri ve değerlendirme ölçütlerinin belirlenmesi, Erciyes Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 1(24): 69-105.
- Önder S, Polat AT, 2012. Kentsel ve açık ve yeşil alanların kent yaşamındaki yeri ve önemi, Kentsel Peyzaj Alanlarının Oluşumu ve Bakım Esasları Semineri, 19 Mayıs 2012, Konya.
- Ören Ö, 2015. Kent parklarının engelli standartları açısından değerlendirilmesi (Recep Yazıcıoğlu ve Adalet Parkları-Denizli), Pamukkale Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Siyaset Bilimi ve Kamu Yönetimi Anabilim Dalı Dönem Projesi.
- Özdamar K, 2003. Modern Bilimsel Araştırma Yöntemleri. Eskişehir: Kaan Kitabevi, 116-118, Eskişehir.
- Özkır A, 2007. Kent parkları yönetim modelinin geliştirilmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Polat AT, Önder S, 2004. Kent Parkı Kavramı ve Konya Kenti İçin Bir Kent Parkı Örneği, Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi. 18 (34): 76-86.
- Renklidağ Ö, 2000. The Urban Park: An Extension of Nature and Urban Culture, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Şehir ve Bölge Planlama Bölümü Yüksek Lisans Tezi.
- Woolley H, 2003. Urban open spaces, Spon Press, London.
- Yücel GF, 2005. Kent Parkları İle İlgili Kalite Kriterlerinin Oluşturulması, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi

Kent Parklarında Kullanılan Donatı Elemanlarının Estetik ve Fonksiyonel Açından Yeterlilikleri; Erzurum Kenti Örneği

Elif AKPINAR KÜLEKÇİ^{1*}, Mehmet Akif IRMAK²

ÖZET: Donatı elemanları, kentsel alanlarda insanların yaşamını kolaylaştıran, mekana işlevsellik, özgünlük ve estetik katan, mekanı tamamlayıcı ve tanımlayıcı özelliklere sahip farklı form ve yapılarla öğelerdir. Bu çalışma, Erzurum’da yoğun olarak kullanılan parklardaki (Palandöken, Kuğulu, Tavşanlı, Gençlik ve Olimpiyat, Şehitler, Yakutiye, 100. Yıl Parkı ve Ata Botanik Park) donatı elemanlarının ergonomi, güvenlik, bakım, estetik, orijinallik, çevreye uyumluluk ve dayanıklılık gibi farklı kriterler açısından memnuniyet düzeylerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. 2017 yılında 100 kişi ile yapılan çalışmanın sonuçları SPSS programında analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda kent genelinde kullanılan parklardaki oturma elemanları en düşük puanı; bakım (4.1), en yüksek puanı; ergonomi (7.1) kriterinde almıştır. Çöp kutusu en düşük ortalama puanı; orijinallik (3.3), bakım (3.7), en yüksek puanı; güvenlik (6.9), ergonomi (6.7), döşeme elemanları en düşük puanı; orijinallik (4.7), en yüksek puanı ise ergonomi (7.3), pergolalar en düşük puanı; orijinallik (4.5), en yüksek puanı ise ile güvenlik (7.3), estetik (7.1), bakım (6.8) kriterinde almış ve elde edilen sonuçlar istatistiki olarak ($p < 0.05$) anlamlı bulunmuştur. Bilgilendirme ve yönlendirme levhaları en düşük puanı; ergonomi (4.9), orijinallik (5.3), en yüksek puanı: güvenlik (7.1) kriterinden almıştır. Çocuk oyun elemanları; en düşük puanı orijinallik (3.8), en yüksek puanı bakımlılık (6.4) kriterinde almıştır ($p < 0.05$). Çalışmadan elde edilen anket sonuçları değerlendirildiğinde Erzurum’da kent parklarına yönelik kullanımlarının peyzaj ergonomisi açısından olumlu ve olumsuz yönleri belirlenmiş, kentsel donatı elemanlarının, şehir imajına mekansal ve alansal boyutlarda katkı sağlayabilmesi sürecinde yapılması gerekenler konusunda çözüm önerileri sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kent parkları, kentsel donatı elemanları, Erzurum

Efficiency of Equipment Elements Used In Urban Parks From Aesthetical and Functional Perspectives; In the Sample of Erzurum City

ABSTRACT: The equipment elements are elements in different forms and structures that facilitate the lives of people in urban areas, add functionality, authenticity and aesthetics to the space, complement and define the space. The aim of this study is to determine people’s level of satisfaction by evaluating the equipment elements used in the parks in Erzurum (Palandöken, Kuğulu, 100th Year, Tavşanlı, Gençlik and Olimpiyat, Şehitler, Yakutiye and Ata Botanical Park) considering different criteria of ergonomics, security, maintenance, aesthetics, originality, compatibility and durability considering different criteria of ergonomics, security, maintenance, aesthetics, originality, compatibility and durability. This study was carried out in the city parks of Palandöken, Kuğulu, 100th Year, Tavşanlı, Gençlik and Olimpiyat, Şehitler, Yakutiye and Ata Botanical Park, which are used extensively in summers. The results of the study conducted with 100 people in 2017 were analyzed in SPSS program. As a result of the study, the sitting elements in the parks used throughout the city received the lowest score with the care criteria in 4.1 p and the highest score was 7.1 p in the ergonomics criterion. Trash; the lowest average score was 3.3 p with originality and 3.7 maintenance criteria. The highest score was taken with 6.9 p safety and 6.7 p and ergonomics criterion. Flooring elements; the lowest score (4.7 p) with the originality, with the highest score of 7.3 p ergonomics has taken the criterion. Pergolas; the lowest score was 4.5 p with the originality criterion, the highest score with the safety (7.3) and aesthetic (7.1) and maintenance (6.8) received the criteria and the results were statistically significant ($p < 0.05$) was found to be significant. Information and guidance signs; while the lowest score was obtained with 4.9 p ergonomics and 5.3 p with the originality criteria and the highest score was 7.1 p with the safety criterion. Children's play elements; the lowest score was 3.8 p with originality criterion and the highest score was 6.4 p with the care criteria ($p < 0.05$ was important). When the results of the questionnaire were evaluated, positive and negative aspects of the uses in city parks for landscape ergonomics were determined and some solutions were presented for the contribution of urban equipment elements to city image at spatial size.

Keywords: City parks, urban equipment elements, Erzurum

Elif AKPINAR KÜLEKÇİ (0000-0003-2818-8562) Mehmet Akif IRMAK (0000-0003-2818-8562), Atatürk Üniversitesi, Mimarlık ve Tasarım Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Erzurum, Türkiye.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Elif AKPINAR KÜLEKÇİ, e-mail: eakpinar@atauni.edu.tr

Bu çalışma 28-30 Haziran 2018 tarihinde Eskişehir’de düzenlenen “Uluslararası Kentleşme ve Çevre Sorunları Sempozyumu” nda sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Geliş tarihi / Received: 07.11.2018
Kabul tarihi / Accepted: 08.01.2019

GİRİŞ

Birleşmiş Milletlerin "The World's Cities in 2016" isimli kentleşme raporlarında belirtilen şekli ile dünya nüfusunun %54.5'i kentsel yerleşimlerde yaşamaktadır ve bu oranın 2030 yılında %60'lara ulaşacağı tahmin edilmektedir. Ülkemizde ise bu durum çok daha hızlı ilerlemiş durumda olup, 2017 TÜİK verilerine göre il ve ilçe merkezlerinde yaşayan nüfus tüm nüfusumuzun %92.5'ini oluştururken, kırsalda yaşayan nüfus %7.5 olarak belirtilmiştir (Anonim, 2016). Bu veriler dikkate alındığında kentsel alanların öneminin giderek arttığı görülmekte olup, bu alanlarda yaşam kalitesinin artırılması, kentin olumsuz özelliklerinin minimum seviyelere indirilmesi ve kentlerin daha konforlu mekanlara dönüştürülmesi gibi konular son yıllarda üzerinde durulan önemli konulardan biri olarak öne çıkmaktadır. Bu durum kentlerin daha konforlu ve yaşanabilir yapıya dönüştürülmesini zorunlu kılmaktadır. Kentsel yaşamı daha konforlu ve kullanılabilir hale dönüştüren kent mobilyaları veya donatı elemanları, toplumsal yaşamın vazgeçilmez durumundadır. Özellikle Dünya'da görülen hızlı kentleşme ve değişen yaşam şartları, teknolojiye bağlı gelişmeler, kentlerin gelişimi ve değişimi açısından oldukça etkilidir. Bu yüzden tasarımcılar hem estetik hem de fonksiyonel yönden insanların ihtiyaçlarına cevap veren çağdaş kent yapısını bozmayan kentsel donatı elemanlarına yönelik tasarımlar yapmaları gerektiğinin bilincine varmışlardır.

Peyzaj mimarlığı meslek disiplinde mekanla özgünleşen ve tasarlanan bir donatı elemanını doğru bir şekilde kullanmak ve tasarlamak en az yeni bir mekan yaratmak kadar önemlidir (Chiesura, 2004). Çünkü donatı elemanları doğru ve uygun bir şekilde kullanıldığında, bir yandan insanların ihtiyaçları karşılanıp, yaşam kalitesini artırırken, diğer yandan, konforlu tasarımlar oluşturmaktadır. Bu sayede kent için tasarlanan donatı elemanları,

kentin kimliğine ve mimari yapılarla uyumuna da katkı sağlayabilmektedir.

Ülkemizde yaşanan hızlı kentleşme, toplum yapısının, kentlerin dolayısıyla da yaşam şartlarının değişmesi, teknolojideki ilerlemeler kentlerin görünümüleri, gelişim planları açısından etkili olabilmektedir. Bu bakımdan tasarımcıların kent yaşamında her türlü ihtiyaca cevap verecek şekilde çalışma ve araştırmalar yapıp, ortaya çıkan ürünleri insanların hizmetine sunmaları gerekmektedir. Kent parklarında yer alan donatı elemanlarına yönelik araştırmalar, bu bakımdan önem arz etmektedir (Yıldırım, 2011).

Kent Parkları

Kentsel yaşamın kalitesini artırmada önemli bir yere sahip olan kent parkları, aynı zamanda bir parkı daha algılanabilir ve yaşanabilir kılmaktadır (Yücel ve Yıldızcı, 2006). Kent parklarının olmazsa olmazı donatı elemanları da bir çevreyi özelleştiren, belirleyen ve tanımlayan nitelikleri nedeniyle önemlidir. Bir tasarım ürünü olan ve kullanıldıkları alanda mekan etkisi yapan bu öğeler, kullanıldıkları alanın da kent parkı kimliği kazanmasında önemli bir işleve sahiptirler. Bu yüzden yapılan tasarım çalışmalarında mekanla doğru ilişki kurulmasını olanak veren yaklaşımlara ihtiyaç vardır (Osborne, 1995; Orhan ve ark., 2006).

Kent kavramı mekanların bir araya gelerek oluşturduğu bir bütün olarak değerlendirilmektedir. Bu bakımdan donatı elemanları mekanı özgün kılan ve düzenleyen, kentsel alanlarla bütünlük oluşturan bir sistematığe sahiptir. Donatı elemanları tasarlanırken bazı tasarım ölçütlerine dikkat edilmesi gerekmektedir. Bu tasarım ölçütleri ne kadar doğru ve uygun kullanılırsa insanların yaşam kalitesi ve kent konforu o kadar artar ve daha özgün, estetik ve kullanışlı tasarımlar ortaya çıkar. Aynı zamanda donatı elemanları mimari yapılara uygun, kent kimliğine katkı sağlayan ve bünyesinde imgesel özellikler taşıyan bir özelliğe de sahip olması gerekir.

Topluma açık, rekreasyon, eğitim ve kültür alanlarında kullanım olanakları olan, kentsel bir mekanın sosyal ve fiziksel niteliğini belirleyen kent parklarının kentsel mekanı tanımlamada pek çok faydası söz konusudur. Bu faydalar arasında, kentin çevresel kalitesi açısından standartlarını belirlemeye dayalı, fiziksel mekan-sosyal çevre bakımından ürettikleri faydalar” ve “fiziksel çevre kalitesinin sağlanması, artırılması ve kontrolü bakımından ürettikleri faydalar” olarak iki kısma ayırmak mümkündür (Alkay ve Ocakçı, 2003).

Kent Parkları Kalite Kriterleri

Bir kent parkının kalite düzeyini belirleyici kılan kriterler; kullanım ve aktiviteler, konfor ve imaj, ulaşılabilirlik ve sosyallik şeklinde sıralanabilir. Bu kriterlerin tanımını doğru bir biçimde yapmak önemlidir (Yücel ve Yıldızcı, 2006).

Kullanımlar ve Aktiviteler: Bir mekandaki aktiviteler ve kullanımlar o mekanın önemli bir yapı taşı oluşturur ve insanların daha fazla parklara yönelmesine imkan tanır. Bu bakımdan bir parkın kullanım ve aktiviteleri değerlendirilirken aşağıda belirtilen maddeler önem arz etmektedir (Yücel ve Yıldızcı, 2006);

- İnsanların park içerisindeki her türlü aktiviteye katılmasına imkan verilmeli,
- Parklar her türlü kullanıcı grubuna (arkadaş, aile, çocuk gibi) hitap edebilmeli,
- Parklar her gün, hatta yılın her döneminde yüksek ziyaretçi etkisine sahip olmalı ve ilgilerini çekebilmeli,
- Parklar gece kullanımına da uygun olacak ve bunu teşvik edecek şekilde tasarlanmalı,
- Parklarda güvenlik ve yönetim yer almalı ve parkı kullanan kişilere karşı göz aşinalığı olacak şekilde tanıyabilmelidir.

İmaj ve Konfor: İmaj ve konfor, parkların şekillenmesinde önemli bir yer tutan, bir nevi bireysel açıdan oluşan tecrübelerin bir yansıması olarak ortaya çıkmaktadır. İmaj ve konforun değerlendirilmesinde aşağıda belirtilen kriterlere dikkat edilmelidir (Yücel ve Yıldızcı, 2006);

- Parklar insanların fotoğraf çekmesine imkan sağlayacak bir şekilde fırsatlar sunmalı,
- Parklarda o kentin yapısal tasarımlarına uygun malzeme seçiminin yapılması,
- Oturma elemanları doğru ve yeterli olacak şekilde yerleştirilmeli,
- Her türlü aktivite alanı tasarımları, uluslararası nitelikte standartlara uygun olmalı,
- Parklarda su öğesinin farklı biçimlerde kullanımlarına yer verilmeli,
- Yaşlı, çocuk ve engelli gibi farklı kullanıcı gruplarına hitap eden bitkisel tasarımlara yer verilmeli,
- Rüzgâr bariyeri, güneş, gölge gibi iklim faktörlerine dikkat edilmeli,
- Parklarda görevli güvenlik ve yönetim birimleri bulunmalı ve parkı kullanan kişiler kendilerini güvende hissedebilmelidir.

Ulaşılabilirlik: Bir parkta, yaya, otomobil, bisiklet veya toplu taşıma araçları ile ulaşım sağlanabilecek şekilde ulaşılabilir olması gerekmektedir.

Sosyallik: Her toplumda önemli bir bileşen olan sosyallik, insanların bir araya geldikleri, toplumda daha sıkı bağlılık duyguları uyandıran, birbirlerini tanımayan insanların bile kolaylıkla iletişim kurabildikleri önemli bir bileşendir. Bir parkta sosyallik kriterinde dikkat edilmesi gereken kriterler aşağıda yer almaktadır (Yücel ve Yıldızcı, 2006);

- İnsanlar park içerisinde gruplar halinde olabilmeli, birbirleriyle konuşma ortamı bulabilmeli,
- Gülümseyen ve birbirleri ile göz teması kurabilen insanlar olabilmeli,
- Parkın her yerinden görülebilecek şekilde aktivite alanları olabilmeli,
- Bütün aktivite alanlarında ve parkların girişlerinde oturma birimleri bulundurulmalı,
- Toplanma noktalarının olabildiği parklar tasarlanmalıdır.

1.3. Donatı elemanı kavramı

Donatı elemanları bir diğer adıyla kent mobilyaları, herhangi bir kentsel mekanda veya

peyzaj alanında insanların, konfor, korunma, eğlenme, bilgi ve dolaşım gibi ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde yerleştirilen elemanlar olarak tanımlanmaktadır (Yıldırım, 2011; Vural ve Yılmaz, 2018).

Hacıhasanoğlu (1991)'nin tanımlamasına göre donatı elemanları, çeşitli açık alan araçlarının kullanıcıları belirlenmemiş, genellikle hizmet ekipmanlarını ve yapıları bünyesinde barındıran kentsel alanlarda kullanıcıların ihtiyaçlarını karşılayan sistemleridir (Akyol, 2006).

Donatı elemanı kelimesini 1980'li yıllarda çevre bilimcileri, peyzaj mimarları ve mimarlardan oluşan tasarımcılar tarafından kullanılmaya başlanmıştır. Bunu yanı sıra donatı elemanları kavramı, kent mobilyaları, çevre düzenleme öğeleri ve kentsel aksesuarlar gibi isimlerle de anılmıştır. İçerik olarak bakıldığında, kent donatı elemanları altyapıyla ilişkili iken, kentsel aksesuarlar çoğunlukla dekoratif öğeleri ve çevre düzenleme öğeleri de daha çok peyzaj öğelerini kapsayan, kendi içerisinde farklı anlamlar bütünüdür (Yazıcı, 2017; Alpagut, 2005).

Donatı elemanlarında genel olarak bilinmesi gereken özellikleri estetik ve fonksiyonel olma, maliyet açısından uygun olma, kolay bulunabilme, standartlara uygun ve dayanıklı olma, ergonomik olma, özgün olma, vandalizme ve ekolojik koşullara karşı dayanıklı olma, kolay yedek parça ve montaj imkanına sahip olma, işçilik ve malzeme açısından uygun olmak şeklinde sıralanabilir (Yazıcı, 2007).

Bu bağlamda, üretilecek donatı elemanları, her zaman park içinde hareketi kolaylaştırıcı ve rahatlatıcı nitelikte olmalıdır. Kısacası, donatı elemanı doğru yerde kullanılacak ve amacına uygun olacak şekilde tasarlanmalıdır.

Şunu unutmamak gerekir ki donatı elemanları kentin kimliğini etkileyen kültürel boyutunun yanı sıra, renk, ölçek, biçim ve seçilen malzemenin türü gibi fiziksel boyutu açısından da önem arz etmektedir. Kısacası, kent

insanın her türlü ihtiyacını karşılayabilecek şekilde, ekonomik, ergonomik, sosyal ve kültürel özelliklere sahip ve bu tür gereksinimleri karşılayabilecek işlevlere sahip olmalıdır (Kroemer et al. 1994). Bunun yanı sıra bir kentsel mekanın ve çevrenin karakterini yansıtan uygun büyüklükte, kullanıcılarına psikolojik anlamda rahatlık ve huzur veren nitelikte olmalıdır (Kinghorn ve ark., 1995; İzgi, 1999; Şerefhanoglu, 1991; Yıldızcı, 2001; Sakal, 2007).

Donatı elemanlarının kullanımında peyzaj mimarlığı meslek disiplini, kullanılacak alandaki toplumun sosyo-kültürel yapısı, doğal, estetik ve psikolojik gereksinimlerinin neler olduğunu belirleyerek mekanları tasarlar. Bu sayede bir yandan daha düzenli, estetik ve sağlıklı ortamlar tasarlanırken, diğer yandan bu mekanların sürdürülebilir kullanımını tasarlamak temel amaç olmaktadır. Kısacası peyzaj mimarlığı ve ergonominin ortak noktası insandır. İnsanların gereksinimlerini karşılayan çevreye uyumlu mekanlar oluşturmak ve bunu geliştirmek de temel hedeftir (Duyar, 1995; Güler, 1997; Gülgün ve Türkyılmaz, 2001; Uzun, 2002; Handrick ve ark., 2005; Brookhuis ve ark., 2005; Karatay ve Korkut, 2009; Buehler, 2012). Donatı elemanları, kentsel yaşamı daha anlamlı kılan, kentsel estetik ve konforu oluşturan elemanlar olup, Akyol (2006) tarafından aşağıda belirtildiği şekilde sınıflandırılmaktadır;.

- İşaret ve bilgi levhaları
- Sınırlandırıcı elemanlar
- Zemin kaplama elemanları
- Sanatsal ve plastik objeler
- Üst örtü öğeleri
- Bitkisel öğeler
- Aydınlatma elemanları
- Oturma elemanları
- Satış birimleri
- Su öğeleri
- Bayrak direkleri, çiçek kasaları, bisiklet parklar, posta kutuları gibi diğer öğeler

Donatı elemanlarının önemli fonksiyonlarından biri de parkları daha yaşanabilir ve algılanabilir yapmasıdır (Yörük ve Gülgün, 2006). Çevre ile fiziksel ve görsel anlamda bir bütünlük sağlayan bu yapılar, kullanıcı açısından da büyük yaşam kolaylığı sunmakta, çevrenin tanımlanması, özelleştirilmesi ve belirlenmesinde etkin bir rol üstlenmektedir. Bu çalışmanın amacı, kent parklarını kullanan kullanıcıların Erzurum kent parklarındaki donatı elemanları konusundaki düşüncelerini ve beğeni düzeylerini araştırarak bu konudan sorumlu yerel yönetimlerin kullanıcı görüşlerinden haberdar edilerek daha iyi çalışmalar yapabilmesi için katkı ve öneriler sunmaktır. Bu sayede donatı elemanlarının kent kimliğine etkileri ile kullanım ve planlamasına yapılan yanlış ve doğruların neler olduğu ve bundan sonraki kullanımlarda dikkat edilmesi gerekenler görüş ve önerilerle ortaya koymaktır.

Çalışma kapsamında Erzurum kentinde yer alan oturma birimleri, su donatıları, çocuk oyun alanları, döşeme elemanları, kuşatma elemanları, pergolalar, çöp kutuları, yönlendirme ve bilgilendirme levhaları, çeşmeler, plastik objeler, oturma birimleri, pergolalar, çiçek kasaları ve çeşmeler ele alınmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

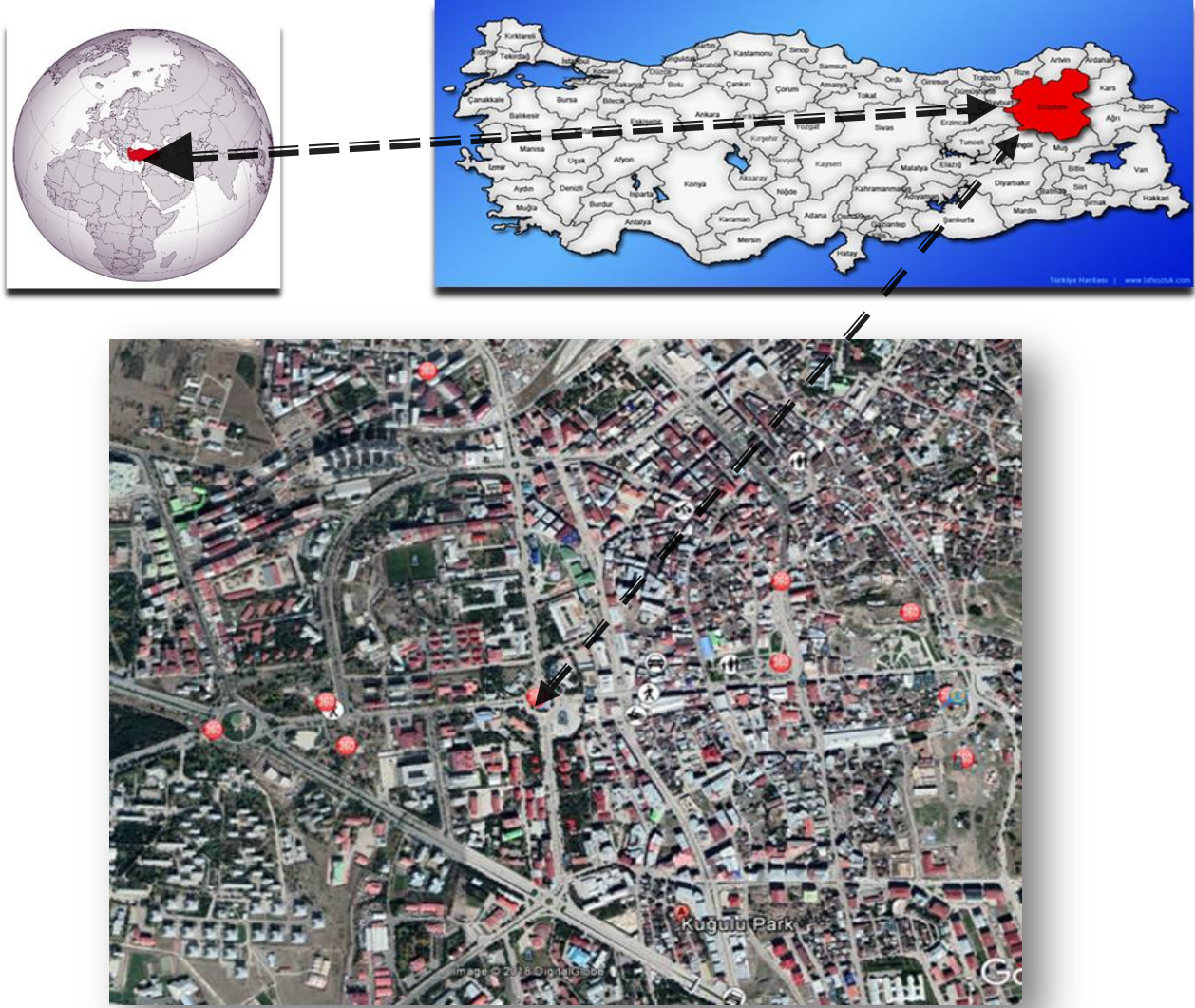
Materyal

Bu çalışma Erzurum'da kent merkezinde yer alan ve yazın yoğun olarak kullanılan Çeçenistan, 100. Yıl, Kuğulu, Tavşanlı, Gençlik ve Olimpiyat, Şehitler, Yakutiye ve Ata Botanik Parklarında yürütülmüştür (Şekil 1,2).

Bu parkların seçilme sebepleri arasında özellikle kent parkı olarak sınırlarının belli olması, halk tarafından sıkça tercih edilmeleri ve bünyesinde çeşitli donatı elemanlarını barındırmasıdır.



Şekil 1. Çalışma alanındaki kent parklarından görünüm



Şekil 2. Çalışma Alanının Konumu (Parkların adları harita üzerinde net okunmalı)

Metot

Çalışma kapsamında bir anket çalışması yürütülmüş ve parkları kullanan kişilerin buralarda yer alan donatı elemanlarının ergonomi, güvenlik, bakım, estetik, orijinallik, çevreye uyumluluk ve dayanıklılık kriterleri bakımından değerlendirmeleri istenmiştir. Anketler parkları kullanan kullanıcılarla birebir yüz yüze yürütülmüştür. Bu amaçla 100 kişi ile, çöp kutusu, oturma elemanı, döşeme, aydınlatma elemanları bilgilendirme ve yönlendirme levhaları, su donatıları, plastik objeler, çeşme, çocuk oyun elemanları, pergolalar, ve çiçek kasaları gibi donatı elemanlarının yukarıda

belirtilen kriterler açısından 1-10 arası puan vererek değerlendirilmesi istenmiştir.

Kriterler sıralanırken ergonomi, güvenlik ve dayanıklılık alt kriterleri fonksiyon ana başlığı altında; estetik, orijinallik, bakım durumu ve çevreye uyumluluk alt kriterleri ise estetik ana başlığı altında değerlendirilmiştir. Alt kriterlerden alınan 1-10 arasındaki beğeni puanı aritmetik ortalamaları fonksiyon ve estetik puanlarını oluşturmuştur.

Anketlerin değerlendirilmesinde ilk aşamada elde edilen veriler Excel programı ile bilgisayara aktarılmış, daha sonra SPSS paket programında Korelasyon Analizi ve Tek Yönlü ANOVA testi yapılarak değerlendirilmiştir.

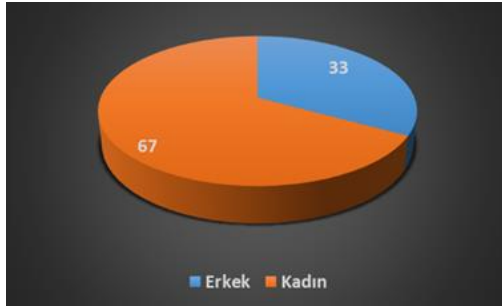
BULGULAR ve TARTIŞMA

Demografik Özelliklere Ait Bulgular

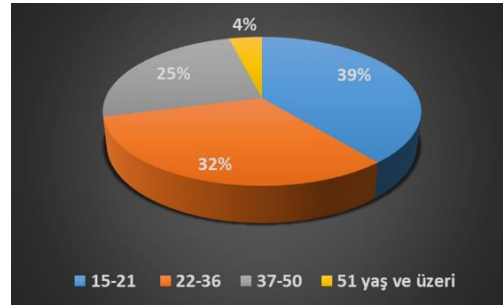
Çalışma alanı olarak seçilen parklarda yerinde ve birebir 100 (Anket sayısı neye göre belirlenmiş) adet kullanıcı anketi yapılmıştır. Araştırmaya katılanların cinsiyet, yaş grupları, eğitim düzeyi ve gelir durumuna ilişkin bulgular değerlendirilmiştir.

Buna göre ankete katılanların %33'ü erkek, %67'si kadındır. Katılımcıların yaş dağılımları incelendiğinde, %39'u 15-21, %32'

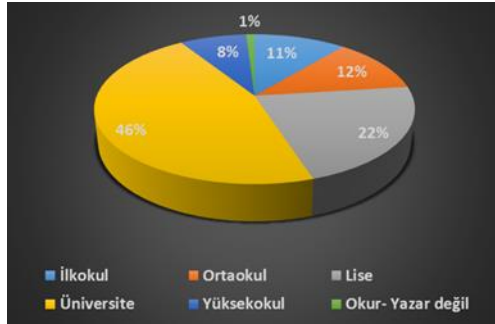
si 22-36, % 25'i 37-50 ve %4'ü ise 51 yaş ve üzeri kişilerden oluşmaktadır. Eğitim durumları incelendiğinde % 11'i ilkökul, %12'si ortaokul, %22'si lise, %46'si üniversite, %8'i yüksek okul, ve %1'i ise okur yazar değil sınıfında yer almaktadır. Eğitim durumları incelendiğinde %12'si serbest meslek, %9'ü memur, '4'u işçi, '1'i çiftçi, %13'ü özel sektör, %30'ü öğrenci, '2'si emekli ve % 29'u işsiz olarak belirlenmiştir.



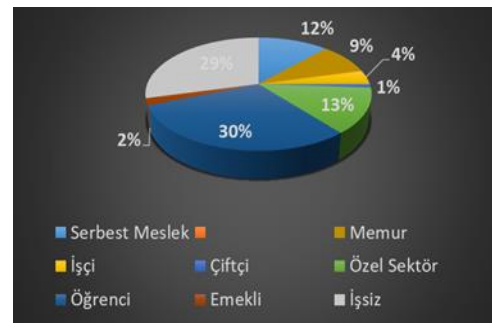
Şekil 3. Cinsiyet dağılımı grafiği



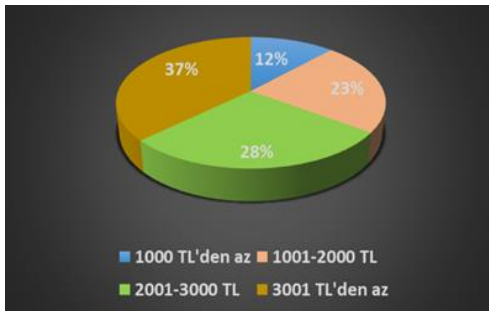
Şekil 4. Yaş dağılımı grafiği



Şekil 5. Eğitim durumu grafiği



Şekil 6. Meslek dağılımı grafiği



Şekil 7. Gelir dağılımı grafiği



Şekil 8. Katılımcıların kent parkını tercih etme nedenleri

Donatı Elemanlarının Ortalama Puanları ve Önem Dereceleri

Donatı elemanlarının belirlenen bazı kalite kriterlerinin parklara göre ortalama değerleri ve yapılan Anova testi sonuçlarına göre önem dereceleri Çizelge 1’de yer almaktadır. Çizelgede de görüldüğü gibi, çöp kutusu en düşük ortalama puanı; orijinallik (3.3), bakım (3.7) en yüksek puanı; güvenlik (6.9), ergonomi (6.7) kriteri ile almış, bunu sırasıyla çevreye uyumluluk ve dayanıklılık kriterleri takip etmiş ve elde edilen sonuçlar istatistiki olarak $p < 0.05$ önemli bulunmuştur.

Oturma elemanları en düşük puanı; bakım (4.1) kriterinde alırken bunu sırasıyla orijinallik (5.7), çevreye uyum (5.9) kriteri takip etmiştir. En yüksek puanı ise ergonomi (7.1) kriterinde almış bunu sırasıyla güvenlik dayanıklılık kriterleri takip etmiştir.

Döşeme elemanları en düşük puanı; orijinallik (4.7), bakım (4.9) kriterinde, en yüksek puanı; ergonomi (7.3) kriterinde almıştır. Bunu sırasıyla güvenlik, dayanıklılık ve çevreye uyum kriterleri takip etmiştir.

Pergolalar en düşük puanı orijinallik (4.5), en yüksek güvenlik (7.3) ve), estetik (7.1), bakım (6.8) kriterinde almış ve elde edilen sonuçlar istatistiki olarak ($p < 0.05$) anlamlı bulunmuştur.

Aydınlatma elemanları en düşük puanı; orijinallik (4.3), en yüksek puanı; güvenlik (6.8), estetik (6.4) ve dayanıklılık (6.4) kriterlerinde almıştır.

Çiçek kasaları; en düşük puanı; ergonomi (4.5) bunu sırasıyla orijinallik (4.7), çevreye uyumluluk (4.9), estetiklik (5.0) kriterleri takip etmiştir. En yüksek puanı ise bakım (7.3), güvenlik (7.1) kriterleri almıştır ($p < 0.05$ düzeyinde önemlidir).

Bilgilendirme ve yönlendirme levhaları en düşük puanı; ergonomi ve 5.3 p ile (4.9), orijinallik kriterlerinde alırken (5.3), en yüksek puanı; (güvenlik (7.1) kriterleri almıştır.

Plastik objelerde en düşük puanı; orijinallik (4.1), bunu sırası ile çevreye uyumluluk: (4.2), dayanıklılık (4.4), estetik (4.9) kriterleri takip etmiştir. En yüksek puanı ise 6.8 puan ile hem ergonomi hem de bakım kriterlerinde almıştır.

Çizelge 1. Donatı Elemanlarının Kalite Puanlarını Etkileyen Kriterlere Göre Ortalama Puanları ve Önem Dereceleri (Anova Testi)

KRİTERLER DONATI ELEMENLARI	Ergonomi		Güvenlik		Bakım		Estetik		Orijinallik		Çevreye Uyum		Dayanıklılık	
	Ort.	Önem Derecesi	Ort.	Önem Derecesi	Ort.	Önem Derecesi	Ort.	Önem Derecesi	Ort.	Önem Derecesi	Ort.	Önem Derecesi	Ort.	Önem Derecesi
Çöp Kutusu	6.7	0.000*	6.9	0.001*	3.7	0.000*	4.1	0.000*	3.3	0.000*	5.3	0.000*	4.8	0.004*
Oturma Birimi	7.1	0.000*	6.7	0.000*	4.1	0.012*	6.0	0.353	5.7	0.032*	5.9	0.023*	6.2	0.003*
Döşeme	7.3	0.123	6.9	0.000*	4.9	0.002*	5.1	0.013*	4.7	0.000*	5.2	0.005*	5.4	0.005*
Yönlendirme ve Bilgilendirme Levhaları	4.9	0.009*	7.1	0.000*	6.6	0.001*	6.1	0.001*	5.3	0.004*	5.1	0.003*	5.3	0.000*
Plastik Objeler	6.8	0.000*	6.2	0.503	6.8	0.002*	4.9	0.012*	4.1	0.000*	4.2	0.001*	4.4	0.000*
Çeşme	4.6	0.003*	6.8	0.000*	6.2	0.000*	4.3	0.003*	3.9	0.001*	5.2	0.002*	7.4	0.000*
Su Donatısı	7.3	0.000*	5.7	0.041*	6.3	0.001*	6.8	0.000*	7.1	0.000*	4.3	0.000*	3.9	0.001*
Çocuk Oyun Alanları	5.6	0.005*	5.8	0.017*	6.4	0.000*	4.3	0.002*	3.8	0.003*	4.1	0.006*	5.1	0.018*
Kuşatma Elemanları	6.1	0.004*	6.5	0.001*	5.3	0.050*	3.9	0.006*	3.7	0.006*	4.2	0.000*	4.5	0.001*
Pergola	5.2	0.196	7.3	0.005*	6.8	0.014*	7.1	0.001*	4.5	0.000*	5.9	0.032*	6.3	0.008*
Aydınlatma Elemanları	5.8	0.000*	6.8	0.000*	5.9	0.004*	6.4	0.005*	4.3	0.001*	4.8	0.008*	6.4	0.000*
Çiçek Kasası	4.5	0.000*	7.1	0.002*	7.3	0.000*	5.0	0.003*	4.7	0.000*	4.9	0.005*	6.6	0.128

* $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamlıdır.

Çeşmeler en yüksek puanı; dayanıklılık (7.4) en düşük puanı; orijinallik (3.9) kriterinde almış ve elde edilen sonuçlar $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Su donatıları en düşük puanı; çevreye uyum (4.3) ,, en yüksek puanı; ergonomi (7.3) ,, bunu sırasıyla orijinallik (7.1) ,, estetik (6.8) ,, bakım (6.3) ve güvenlik (5.7) kriterleri takip etmiştir.

Çocuk oyun elemanları en düşük puanı; orijinallik (3.8) ,, en yüksek puanı bakımlılık (6.4) kriterinde almıştır ($p < 0.05$ oranında önemlidir).

Kuşatma elemanları en düşük puanı; orijinallik (3.9), ,, en yüksek puanı; güvenlik (6.5) ergonomik (6,1 p ile ergonomik) kriterlerinde almış ve elde edilen sonuçlar istatistiki olarak ($p < 0.05$) önemli bulunmuştur.

SONUÇ

Kentlerin gelişmesinde, düzenlenmesinde ve yenilenmesinde önemli katkıları olan donatı elemanları aynı zamanda kentin kimliğine da alansal ve mekânsal katkılar sunmaktadır. Bulduğumuz çevrenin daha yaşanabilir olması için kent donatı elemanlarının doğru bir şekilde tasarlanması, uygun alanlara yerleştirilip bakımının da ihmal edilmeden yapılması gerekmektedir. Erzurum ilinde yer alan ve yazın yoğun olarak kullanılan Palandöken Aile Çay Bahçesi, Kuşulu, Tavşanlı, Gençlik ve Olimpiyat, Şehitler, Yakutiye ve Ata Botanik Parklarında yürütülen bu çalışmada da kent donatı elemanlarına yönelik aşağıda belirtilen sonuçlara varılmıştır:

➤ Erzurum'da kentsel donatı elemanlarına yönelik pek çok özgün ve güzel örnekleri görmek mümkündür (Kuşkun ve Yılmaz, 2003). Fakat maalesef ki kullanılan malzeme, yer seçimi, ergonomi, uyum ve dayanıklılık açısından yetersiz olan donatı elemanlarına da rastlanmıştır. Özellikle başta belediyeler olmak üzere yerel yönetimlerin bu konuya

hassasiyet göstermesi, dayanıklı, güvenli, estetik ve ergonomik ürünleri tercih etmeleri gerekmektedir.

- Donatı elemanlarına yönelik seçenekler, teknolojik gelişmelere bağlı olarak değişim göstermektedir (Bulut ve ark., 2008). Bu bakımdan güncel ürünler takip edilerek, en son teknoloji uygun donatı elemanları kent kimliğini ve görsel bütünlüğü bozmayacak şekilde tercih edilmesi önerilmektedir. Bu sayede, üretilecek tasarımlarda ülkemizde mevcut olan son teknolojinin kullanılması ile donatıların daha özenli bir biçimde yapılmaları sağlanarak, görsel kalitelerinin artırılması noktasında da başarılı sonuçlar elde edilebilecektir.
- Donatı elemanları ile ilgili sempozyum ve çalıştayların düzenlenmesi, belediyelerce tasarım yarışmalarının yapılması konuyu her an gündemde tutacak ve gelişimin sürekliliğini sağlayacaktır. Bu organizasyonlar, tasarımcıları teşvik edecek, kullanıcıların donatı elemanlarını gelişmişliğin bir göstergesi olarak kabullerini ve bu sayede onları sahiplenerek daha iyi kullanmalarını, yapılan yanlış uygulamalar ile ilgili fikir sahibi olarak haklarını aramalarını sağlarken, belediyeler için de daha geniş vizyonlu düşünce ve uygulamaların hayata geçirilmesi yönünde katkılar sağlayacaktır.
- Çöp kutularıyla ilgili göze çarpan en önemli detay bakımsız ve çevreye uyumsuz olmasıdır (Çizelge 1). Çoğunlukla kapaksız olan çöp kutularının uygun yere konumlandırılmasında ve malzeme seçiminde de sıkıntılar tespit edilmiştir. Bu bakımdan uygun yerlere konumlandırılmış, estetik, bakımlı ve her türlü ihtiyaca cevap verebilecek çevreye uyumlu çöp kutuları kullanılmalı ve tercih edilmelidir.
- Çalışma alanında oturma elemanları için, ahşap ile beton veya ahşap ile metal karışımı malzeme kullanılmış olup, göze çarpan en önemli detay bakımsız ve çevreye uyumsuz

olmalarıdır (Çizelge 1). Katılımcıların rahatsızlık duydukları en önemli etkenlerden biri de arkalık eğimi, arkalığın olmayışı ve kolluk olmayışıdır. Buna karşın son düzenlemelerde daha ergonomik ürünlere yer verilmiştir. Kullanım açısından da yoğun kullanılan parklarda, arkalıksız insanların bir müddet sonra kalkıp gidecekleri, az kullanılan parklarda ise tam tersi rahat ve ergonomik ürünlerin olması, her iki koşulda da ekolojik şartlara dayanıklı ürünlerin tercih edilmesi önerilmektedir.

- Çalışma alanını kapsayan parklarda genel olarak asfalt, kilit parke, baskı beton, beton plak taş, andezit, bazalt ve küp granit tercih edilmiştir. Döşemelerin çevreye uyumu, ergonomik olmayışı, zaman zaman takılma riski oluşturduğu tespit edilmiştir. Kentteki ekstrem iklim koşullarına bağlı olarak donma-çözünme sonucu döşemelerde fiziksel hasarlar meydana gelmiştir. Bu bakımdan ergonomik koşullara uygun, kaygan olmayan, takılma riski oluşturmayan, çevreye uyumlu ve doğal görünümlü, dayanıklı döşeme malzemelerinin kullanılması önerilmektedir.
- Yönlendirme ve bilgilendirme levhalarına ilişkin tespit edilen en önemli detay ise çevreye uyumsuz oluşu, ergonomik olmayışı ve uygun bir yere konumlandırılmamış olmasıdır (Çizelge 1). Bu bakımdan yönlendirme ve bilgilendirme levhalarının, çevreye uyumlu, doğru yere sağlam bağlantılarla tutturulmuş, ergonomik standartlara uygun olarak tasarlanması ve kullanılması önerilmektedir.
- Kent kimliğini ve sağlığını olumsuz yönde etkilemesi, görsel anlamda kirlilik oluşturmaması açısından plastik görünümlü malzemeler yerine doğal ve organik malzemeler tercih edilmelidir.
- Tarihi ve kültürel açıdan oldukça önemli olan çeşmelerin kullanımında bakımsızlık hemen göze çarpmaktadır (Çizelge 1). Geleneksel kültürümüzün önemli bir parçası olan

çeşmelerin, çevreye uyumlu, geçmişle geleceğin harmanlandığı bir yapıda uygun konumda ve en önemlisi bakımlı olmasına dikkat edilmelidir.

- Su donatılarında ise en büyük sorun dayanıksız, çevreyle uyum içinde olmayan ve en önemlisi özgün olmayan nitelikte olmalarıdır. Bu bakımdan su donatısında özgün, çevreye uyumlu, ekolojik şartlara dayanıklı ve bakımının sürekli yapıldığı tasarımlara ağırlık verilmesi gerekmektedir.
- Çalışma alanında yer alan pek çok çocuk oyun alanında polietilen karışımı plastik malzemeden oluşan ve çoğunlukla çevreye uyumsuz ürünler tercih edilmiştir. Zemin malzemesi olarak ta genellikle kauçuk tabanlı malzemeler kullanılmıştır. Buna karşın, bazı parklarda doğal malzemeden oluşan doğal görünümlü oldukça özgün tasarımlara da rastlanmıştır. Bu bakımdan çocukların sağlığını ve güvenliğini tehlikeye atmayacak, gelişimlerine katkıda bulunacak, bakımlı, güveni ve özgün tasarımlara ağırlık verilmesi önerilmektedir.
- Kullanılan kuşatma elemanlarında en düşük puanı estetik ve orijinallik almıştır. Çalışma alanındaki kuşatma elemanlarında özellikle görsel açıdan kirlilik oluşturun, kullanım açısından bir amaca hizmet etmeye çevreye uyumsuz, baskın karakterli ürünler le birlikte yer yer ahşap ve/veya beton karışımı kuşatma elemanları da tespit edilmiştir. Bu yüzden, yeşil dokuya uygun bitkisel veya doğal ahşap malzemeden yapılan çevreye uyumlu ürünler tercih edilmesi önerilmektedir.
- Yapılan görüşmelerde elde edilen verilere göre pergolalar kullanıcı için oldukça önem taşıyan donatı elemanlarıdır. Yine pergolalarda da arkalıklı oturma elemanları kullanımı kullanıcılar tarafından talep edilmektedir. Özellikle kışın ekstrem iklim şartları gözetilerek empenye ahşap malzeme kullanılması önerilmektedir.

- Erzurum ilinde çalışma alanında yer alan parklarda aydınlatma elemanı seçiminde son zamanlarda oldukça özgün ve ergonomik ürünler kullanıldığı ve bu ürünlerin de çevreyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Aydınlatma elemanı kullanımında özellikle alçak aydınlatma elemanlarının Vandalizm'e karşı dayanıksız olması nedeniyle güvenliğin az olduğu yerlerde tercih edilmemesi gerekmektedir. Aydınlatma elemanında diğer bir sorunda estetik kaygılarla yeterli ışık yoğunluğuna sahip olmamasıdır. Bu bakımdan estetik kaygılardan uzak amacına uygun, çevreye uyumlu, bakımlı ve özgün tasarımlara yer ve verilmesi tavsiye edilmektedir.
- Çalışma kapsamında çiçek kasalarının çoğunluğunun yetersiz, bakımsız ve çevre ile uyumsuz, ergonomik kriterler içermediği saptanmıştır. Bu yüzden bölge iklimi ve bitki örtüsüne uygun, kent kimliğine ve görseline olumlu katkılar sağlayan bu donatı elemanlarının doğal ve ahşap malzemedan oluşan, insanlara çiçek bakımı ve sevgisini aşılacak nitelikte, özgün ve çevreye uyumlu bir şekilde kullanılması önerilmektedir.

Kent parklarında kullanılan donatı elemanlarında tasarımcılar tarafından dikkat edilmesi gereken en önemli husus alışla gelen modern yapılarla, o kentin yerel ve kültürel değerlerine uygun özgün tasarımları kent kimliğine göre doğru biçimde yorumlamak ve uygulamak olmalıdır. Bu duruma kent parklarında bir gereksinimden çok ihtiyaç gözüyle bakılmalıdır.

Son olarak şu söylenebilir ki, kentsel mekanlarda donatı elemanlarının kullanımı, doğru tasarım, doğru kullanıcı ve doğru işverenin bir ürünü olduğu, uygun şekilde yerleştirdiği, onarım ve bakım gibi gereksinimlerini yerinde ve doğru bir şekilde yapıldığı takdirde ihtiyacı ve beklentileri karşılayacağı bilinmelidir. Tasarımcıları ve kullanıcıların bu bilinçle hareket ederek, yaşamı

kolaylaştıran ve güzelleştiren donatı elemanlarının korunarak kullanılması gerekmektedir. Bu bakımdan, iş veren, tasarımcı ve uygulayıcıyı koordineli bir şekilde çalışarak bu konuya ağırlık vermeleri, güzelleştikçe kullanılan, kullanıldıkça güzelleşen, insanların mutlulukla ziyaret edeceği parklar tasarlanması, tasarımda bütüncül bir yaklaşım benimsenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Akyol E, 2006. Kent Mobilyaları Tasarım ve Kullanım Süreci. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi. 134 s.
- Alpagut Z, 2005. Kamu Mekanlarında Kent Mobilyalarından Bilgilendirme, Yönlendirme ve İşaretleme Elemanlarının İrdelenmesi: Taksim Örneği. 104 s.
- Anonim, 2016. Birleşmiş Milletler Dünya Kentleşme Raporu. 26 s.
- Brookhuis K, Hedge A, Hendrick HW, Salas E, 2005. Stanton Handbook of Human Factors and Ergonomics Methods, CRC Press, pp. 764, Florida.
- Buehler R, 2012. Determinants of bicycle commuting in the Washington, DC region: The role of bicycle parking, cyclist showers, and free car parking at work. Transportation Research Part D: Transport and Environment . 17 (10): 525-531.
- Bulut Y, Atabeyoğlu Ö, Yeşil P, 2008. Erzurum Kent Merkezi Donatı Elemanlarının Ergonomik Özelliklerinin Değerlendirilmesi Üzerine Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi, Tarım Bilimleri Dergisi 2008, 14 (2): 131-138.
- Chiesura A, 2004. The role of urban parks for the sustainable city, Landscape and Urban Planning, 68(1):129-138.
- Duyar İ, 1995. İnsanın Fiziksel Boyutlarındaki Değişimler ve Ergonomik Açından Önemi. Beşinci Ergonomi Kongresi, Milli Produktivite Merkezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, 180-189 s, İstanbul.

- Güler Ç, 1997. Ergonomiye Giriş. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. No:45
- Gülgün B, Türkyılmaz, B, 2001. Peyzaj Mimarlığında ve İnsan Yaşamında Ergonominin Yeri-Önemi ve Bornova Örneğinde Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2001. 38 (2-3):127-134.
- Handrick H, Salas E, Stanton N, Brookhuis K, Hedge A, 2005. Handbook of human factors and ergonomics models. pp.1689.
- İzgi U, 1999. Mimarlıkta Süreç, Kavramlar-İlişkiler, Yapı Endüstri Merkezi Yayınları, Yem Yayınevi, 88 s, İstanbul.
- Karatay A, Korkut AB, 2009. Peyzaj Mimarlığı Antropometri İlişkisi: İstanbul Örneği. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi. 6(3): 246-255.
- Kinghorn RA, Bittner AC, 1995. Truck driver anthropometric data: Estimation of the current population. Industrial Ergonomics. 15: 199-204.
- Kroemer K, Kroemer H, Kroemer EK, 1994. Ergonomics. How to Design for Ease and Efficiency 46 (8): 15-16.
- Kuşkun P, Yılmaz H, 2003. Erzurum Kent Bütününde Donatı Elemanlarının Kullanımı Üzerine Bir Araştırma. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 34 (4), 345-351.
- Oborne DJ, 1995. Ergonomics at Work. Human Factors in Design and Development. England. 27(4): 200-224.
- Orhan S, Bilgin B, Güvenç İ, 2006. Taşıt Ergonomisi. Lisans Tezi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Karabük Teknik Eğitim Fakültesi Makine Eğitimi Bölümü Otomotiv Öğretmenliği Programı, 27 s, Karabük.
- Sakal AN, 2007. Ankara'da Kentsel Donatıların Peyzaj Planlama ve Tasarımı Açısından Analizi ve Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 37 s, Ankara.
- Şerefhanoglu M, 1991. "Kentsel Tasarımda Aydınlatmanın Rolü", 1.Kentsel Tasarım ve Uygulamalar Sempozyumu, (23-24 Mayıs 1991), Mimar Sinan Üniversitesi, 131-140 s, İstanbul.
- Uzun G, 2002. Peyzaj Konstrüksiyonu II, Ç. Ü. Zir. Fak. Genel Yayın No: 137, 296 s, Adana.
- Vural H, Yılmaz S, 2018. Erzurum Kenti Okul Bahçelerinin Fiziki Yeterlilikleri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5(2): 109-120.
- Yıldızcı AC, 2001. Kent Mobilyaları Kavramı ve İstanbul'daki Kent Mobilyalarının İrdelenmesi. I. Uluslararası Kent Mobilyaları Sempozyumu, Bildiriler Kitabı, 29-34 s, İstanbul.
- Yörük İ, Gülgün B, Sayman M, Ünal Ankaya F, 2006. Peyzaj Planlama Çalışmaları Kapsamında Ege Üniversitesi Kampüs Örneğindeki Peyzaj Donatı Elemanlarının Ergonomik-Antropometrik Açından İrdelenmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Dergisi 2006. 43(1):157- 162.
- Yücel GF, Yıldızcı AC, 2006. Kent parkları ile ilgili kalite kriterlerinin oluşturulması. ITU dergisi/a, mimarlık, planlama, tasarım. 5 (2): 220-230

Responses of Antioxidant in Rainbow Trout Exposed to Temephos

Veysel PARLAK^{1*} Arzu UCAR¹ Gonca ALAK¹ Muhammed ATAMANALP¹

ABSTRACT: In this study, rainbow trout was exposed to temephos (TE) during 96h acute toxicity conditions. The toxic compound was given in doses of 3 mg L⁻¹ and 6 mg L⁻¹. Furthermore, we assessment antioxidant enzymes activity (glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) level in liver and acetylcholinesterase (AChE) in brain. CAT, SOD, GR, G6PD, and MDA in liver were demonstrated significant effects by the treatments (P<0.05). TE exposure resulted in the inhibition of AChE activity, which, compared with the control group, decreased in all doses (P<0.05). The results showed that temephos inhibited liver tissue's enzyme activities and increased MDA levels. In the light of these data, we can say that temephos toxicity should be taken into consideration in aquatic environments.

Key words: Pesticide; oxidative stress; AChE; rainbow trout

Temefos'a Maruz Kalan Gökkuşığı Alabalıklarında, Antioksidan Cevaplar

ÖZET: Çalışmamızda gökkuşığı alabalıkları temefosun 3 ve 6 mg L⁻¹ dozlarına akut uygulama ile maruz bırakılmıştır. Uygulama sonrasında karaciğer dokusunda antioksidan enzim aktiviteleri (Süperoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR), glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD)), malondialdehit seviyesi ve beyin dokusunda asetilkolin esteraz (AChE) aktivitesi değerlendirildi. Karaciğer dokusunda SOD, CAT, GR, G6PD aktivitelerinde ve MDA seviyesinde önemli seviyede değişiklikler belirlendi (P<0.05). Kontrol grubu ile kıyaslandığı zaman tüm doz uygulanan gruplarda AChE aktivitesinin inhibe olduğu tespit edildi (P<0.05). Sonuçlar, temefosun karaciğer dokusunda enzim aktivitelerini inhibe ettiğini ve MDA seviyesini arttırdığını göstermiştir. Bu veriler ışığında sucul ortamlarda temefos toksisitesinin dikkate alınması gerektiğini söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Pestisit; oksidatif stres; asetilkolinesreaz (AChE); gökkuşığı alabalığı

¹ Veysel PARLAK (Orcid ID: 0000-0002-3459-7963), Arzu UÇAR (Orcid ID: 0000-0001-5675-9401), Gonca ALAK (Orcid ID: 0000-0002-7539-1152), Muhammed ATAMANALP (Orcid ID: 0000-0002-2038-3921), Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Atatürk University, Erzurum, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Veysel PARLAK,, e-mail: veysel.parlak@atauni.edu.tr

INTRODUCTION

Temephos (TE) one of the organophosphorus insecticides. It is mainly used as a larvicide to control mosquito in aquatic areas. The WHO Pesticides Evaluation Scheme suggests using TE as control agent in potable water sources (Anonymous, 2018). This pesticide, which is used intensively and unconsciously in agricultural areas in our country, is transported by rainfall and surface water and reaches to aquatic environments. Especially with increasing pesticide usage in the summer months there may be threats to aquatic organisms. In aquatic environments, trout, preferred as test organism, is found commonly in our fresh waters in our country.

As it is the case in other organophosphates, TE affects the central nervous system. Its rapid absorption and accumulation in tissues is due to its hydrophobicity ($\log K_{ow}=4.91$). AChE inhibition and antioxidant enzyme activities are the main biomarkers of exposure to certain organophosphates and carbamate insecticides in fish (Sandahl et al., 2005; Barbosa and Júnior, 2015). Some of the aquatic organisms, especially fish are used as biological indicators to monitor environmental pollution (Kırıcı et al., 2017). Furthermore, the biochemical parameters can contribute to the early detection of the substances that help monitor environmental quality (Barbosa and Júnior, 2015).

In this study we determined toxic effects of TE using antioxidant enzymes activity in rainbow trout.

MATERIALS AND METHODS

Fish samples and experimental design

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (20±1.5 g, 16±2 cm) samples were put in tanks with a flow rate of 0.5 L min per kg fish (minimum). The tanks (150 liter) had an average water temperature of 10±1.5 °C. The dissolved

oxygen concentration in the tanks was 9.2 mg L⁻¹ and pH was 7.2. A total of 60 fish samples were distributed evenly across six tanks (each tank contained 10 fish samples). Of the tanks, two contained the control groups (A) and four contained the treatment groups. TE was procured from a company (Sigma) and its stock solution was dissolved in water. The LC₅₀ value of TE for rainbow trout is 9.8 ppm (Anonymous, 2018). In the present study TE concentrations of 3 mg L⁻¹ (B) and 6 mg L⁻¹ (C) (30 % and 60 % concentrations of LC₅₀ value) were deemed suitable for use in the treatments. Excluding two control tanks (no pesticide application), 3 mg L⁻¹ and 6 mg L⁻¹ TE was added to four tanks, respectively. The concentrations of tanks were reapplied every 12 hours for readjusting the dose.

Tissue homogenates

Immediately after cervical dislocation to euthanize the samples, the dissection procedure was performed (Botté et al., 2012). The liver and brain hemolysates were prepared using a modified method described by Kırıcı et al., (2017). The samples were homogenized (1% v/v) in a 0.1 M Triton X 100 containing phosphate buffer (pH 7.4). The supernatants obtained with the centrifugation of the liver homogenates at 13 000 rpm for 60 min (4°C) were used as the enzyme source to estimate enzyme activities and malondialdehyde (MDA) levels. The brain homogenates were centrifuged at 13 000 rpm for 30 min (4°C) and supernatants were used as the enzyme source to estimate the AChE activity (Parlak, 2018).

Determination of the antioxidant enzyme activities and MDA level

Catalase (CAT) activity was measured using the Aebi method (1974) which is based on the H₂O₂ consumption-induced decrease in absorbance at 240 nm. The reaction mixture contained potassium phosphate and H₂O₂. The superoxide dismutase (SOD) activity was

determined using the method described by Sun et al., (1988), in which the inhibitory effect of SOD on nitro blue tetrazolium (NBT) reduction is used and the reduction of NBT to blue formazan by the superoxide anion is measured at 560 nm. As described by Beutler (1984), the levels of NADPH and GSSG were used to determine glutathione reductase (GR) activity. One unit of GR was defined as the consumed NADPH quantity that catalyze the reduction of 1 mM GSSG per min. The glucose 6 phosphate dehydrogenase (G6PD) activity was analyzed at 340 nm in a spectrophotometer according to Beutler (1984). Malondialdehyde is a secondary product of the MDA lipid peroxidation. The measurement is carried out by measuring the absorbance of the pink complex at 532 nm, which is formed due to the incubation of MDA with thiobarbituric aside (TBA) at 95 °C (Luo et al., 2006). Spectrophotometry was used to determine each sample's protein levels at a wavelength of 595 nm and the results were recorded by taking the BSA as the standard (Bradford, 1976).

AChE activity

The reaction mixture contained 10 mM acetylthiocholine iodide, 0.5 mM DTNB in 1% sodium citrate, 0.5 M phosphate buffer

(KH₂PO₄; pH 8), and water. The reaction was catalyzed using a crude enzyme extract and the alteration in absorbance at 412 nm was measured for 5 min (Sandahl et al., 2005; Parlak, 2018).

Statistical analysis

The statistical analyses of the results were performed using the SPSS 20.0 software package. To determine the significantly different results, one-way ANOVA was used. Duncan test was used to detect the differences between the groups. The data were expressed as the mean ± SEM. Significance level was determined at P≤0.05.

RESULTS AND DISCUSSIONS

These study findings showed that, at the end of the 96 th, exposure to TE in *Oncorhynchus mykiss* caused a significant decrease in activities of antioxidant enzymes in the treatment groups (B, C) compared with the non-exposure group (A: control). At the end of the 96 h acute exposure, the activity of the antioxidant enzymes in liver tissues decreased with the increasing concentrations of TE. In contrast, the MDA content in the tissues increased after TE exposure (Table 1).

Table 1. The effect of different concentrations of TE on antioxidant enzyme activities and MDA levels of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver (Mean ± SEM)

Tissue	Treatment	CAT	SOD	GR	G6PD	MDA
Liver*	A	0.77±0.06 ^a	0.08±0.01 ^a	0.07±0.01 ^{ab}	0.07±0.01 ^a	0.07±0.01 ^b
	B	0.56±0.06 ^b	0.03±0.01 ^b	0.10±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.12±0.01 ^a
	C	0.31±0.06 ^c	0.02±0.01 ^b	0.06±0.01 ^b	0.03±0.01 ^b	0.16±0.01 ^a

Lowercase superscripts (a, b) indicate significant differences among different concentration within each experimental treatment group and tissue, whereas superscripts in uppercase show significant differences among dosage. Each value is the mean ± SEM. of ten individual observations. For TE concentrations **A**: Control (no treatment), **B**: 3 mg L⁻¹, and **C**: 6 mg L⁻¹ * P<0.05 Enzyme specific activity (EU mg), MDA Specific activity (nmol ml.)

In the present study, exposure to TE caused a raise in the MDA levels in rainbow trout liver

tissues, which suggests that the TE in applied concentrations increased the peroxidative tissue

damage. Lipid peroxidation can be the first step of organophosphate-induced cellular membrane damage. The increase in MDA indicated that the damage caused by ROS was potentially an important toxic effect of TE (Kavitha and Rao, 2008; Narr, 2014).

Many organisms have systems to protect themselves against the activated ROS damaging effects (Xing et al., 2012). The liver's SOD and CAT activities decreased in all treatment groups with exposure to TE, in the present study. The decreases in SOD and CAT activities is attributable to the inhibition of the formation of superoxide radicals (Parlak, 2018). The results obtained in this study for the related parameters agree with the results obtained in other studies (Oruç et al., 2004; Peixoto et al., 2006; Xing et al., 2012; Narr, 2014). We believe that the decrease in the SOD enzyme activity is due to the increase in the reactive oxygen species (ROS), which are formed due to pesticide exposure. SOD activity decrease was probably caused by superoxide anion radical, which, after transformation to H_2O_2 , causes the oxidation of SOD (Rahal et al., 2014). TE application caused a decrease in the CAT specific activity and compared with the control group, relatively lower values were obtained (Table 1). The statistical analysis showed that the differences among all groups were significant ($P < 0.05$). The inhibitory and inducing effects of pesticides on CAT were investigated in previous studies. Peixoto et al., (2006) reported that CAT activity was inhibited and induced when exposed to certain pollutants and concluded that it was not suitable for use as a biomarker in toxicology studies (Jeon et al., 2015). The decrease in the CAT activity in the present study agree with the results obtained by exposing different fish species to different pesticides (Nwani et al., 2010; Hattab et al., 2015). The results indicate that TE lipid peroxidation is accompanied by simultaneous decreases in the activities of

antioxidant enzymes such as CAT and SOD. Antioxidant enzymes decrease results in increased oxidative stress. This indicates that free radicals are generated excessively when exposed to pesticides, which leads to the disruption of the antioxidant defense system (Zhu et al., 2014). Glutathione redox level, antioxidant enzyme activities, and lipid peroxidation are the main biomarkers used in toxicology studies (Kaviraj et al., 2014). Especially, the intracellular changes at GSH level are viewed as one of the most important indicators of the oxidative stress caused by the pollutants in fish (Zhang et al., 2004). In this study, GR and G6PD activities in liver were inhibited by TE exposure ($P < 0.05$).

The GR and G6PD activities decreased in all tissues, especially in Group C. There are a large number of studies focusing on the relationships between pesticides and antioxidant activities of GR and G6PD in different species (Güler et al., 2013; Lavarías and Garcia, 2015). However, the number of the studies focusing on the oxidative stress caused by TE is limited. In this study, after the application of a B and C concentration of TE, a decrease was determined in GR and G6PD activities. These changes suggest that certain substances such as pesticides affect O_2 production and have inhibitory effects on enzyme activity (Jin et al., 2015; Ucar et al., 2017). However, the decrease in GSH levels due to TE exposure may have been caused by the increase in GSH utilization. GSH is converted into oxidized glutathione and results in the efficient regeneration of GSH (Yonar, 2013). The decrease in GR activity was attributed to the increased production of oxidized glutathione (GSSG). Studies have shown that different species may use different mechanisms to cope with pesticide exposure (Parlak, 2018).

After 96 h acute exposure, the activity of AChE in brain decreased with the increasing concentrations TE. In some species, AChE

showed tissue-specific sensitivity and the enzymes caused dose and time-dependent inhibition while the rate of inhibition differed depending on the species and age (Ramsay and

Tipton, 2017). In the present study, TE resulted in the inhibition of the AChE activity in brain (Table 2).

Table 2. The effect of different concentrations of TE on AChE enzyme activities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) brain (Mean \pm SEM)

Tissue	Treatment	AChE
Brain*	A	0.040 \pm 0.03 ^a
	B	0.020 \pm 0.03 ^b
	C	0.013 \pm 0.03 ^b

Lowercase superscripts (a, b) indicate significant differences among different concentration within each experimental treatment group, whereas superscripts in uppercase show significant differences among dosage. Each value is the mean \pm SEM. of twenty individual observations. For TE concentrations A: Control (no treatment), B: 3 mg L⁻¹, and C: 6 mg L⁻¹ * P<0.05 AChE Specific activity (EU mg).

In addition, the AChE activity was reduced compared with the control samples. The activity of AChE was evidently affected by the concentration of TE in all treated fish samples. The results of the study showed that the AChE activity in the 96 h TE exposed juvenile rainbow trout samples was significantly inhibited and it continued to decrease depending on TE concentration. In the control fish samples, the AChE activity in brain was higher than that of the treatment groups. AChE was present in the brain tissue of trout at the lowest TE concentration (3 mg L⁻¹) and the enzyme activity in brain is sensitive to the inhibitory effects of TE. There are a large number of studies focusing on the connection between pesticides, organophosphates, and AChE activity in different species (Tam et al., 2015; Petrov et al., 2018). However, there is no study focusing on the relationship between TE and AChE activity in fish.

CONCLUSION

To establish regulatory measures, data obtained for acute toxicity have been used to develop water quality guidelines (Nwani et al., 2010). The results of the study revealed that TE

negatively affected antioxidant enzyme activity and AChE activity. Acute exposure to TE caused changes enzyme activity and MDA contents in liver of rainbow trout. Furthermore, the results revealed that oxidative parameters, and AChE were significantly changed in the TE exposed rainbow trout samples. To the best of our knowledge, this is the first study reporting the acute effects of TE on rainbow trout. Although there are previous studies which can compared with our results, none of these studies focused on the toxic effects of TE on fish. Thus, the information presented in this study can contribute to the elucidation of the toxicant response of fish to TE exposure and serve as a substantial reference for future studies. More investigations are required to elaborate the mechanism of TE toxicity.

REFERENCES

- Abdussalam MD, Shahjahan MD, Sadia S, Farhana H, Khalilur R, 2015. Effects of Sublethal Doses of an Organophosphorus Insecticide Sumithion on Some Hematological Parameters in Common Carp, *Cyprinus carpio*. Pakistan Journal of Zooloji, 47(5): 1487-1491.

- Adhikari S, Sarkar B, Chatterjee A, Mahapatra CT, Ayyappan S, 2004. Effects of Cypermethrin and Carbofuran Haematological Parameters and Prediction of Their Recovery in a Freshwater Teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology Environmental Safety*, 58: 220–226.
- Aebi H, 1974. Methods of Enzymatic Analysis, Catalase, In: Bergmeyer H.U. (ed). Academic Press, New York, 682 p.
- Anonymous, (2018). Temephos in Drinking Water: Use for Vector Control in Drinking- Water Sources and Containers. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality. WHO, Geneva:
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/temephos.pdf (Date of accessed 17.09.18).
- Barbosa PB, Júnior EOC, 2015. Enzymatic Alterations and Genotoxic Effects Produced by Sublethal Concentrations of Organophosphorous Temephos in *Poecilia reticulata*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 78: 1033–1037.
- Beutler E, 1984. A Manual of Biochemical Methods, Red Cell Metabolism: second ed., Grune and Starton, NewYork, 160 p.
- Botté ES, Jerry DR, Codi KS, Smith-Keune C, Negri AP, 2012. Effects of Chlorpyrifos on Cholinesterase Activity and Stress Markers in the Tropical Reef Fish *Acanthochromis polyacanthus*. *Marine Pollution Bulletin*, 65: 384–393.
- Bradford MM, 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein dye Binding, *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Güler M, Kivanc MR, Türkoglu V, Basi Z, Kivrak H, 2013. In Vitro Determination of G6PD Enzyme Activitypurified from Lake Van Fish (*Chalcalburnus tarichii Pallas*, 1811) Liver Exposed to Pesticides. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 91 (5): 560–564.
- Hattab S, Boughattas I, Boussetta H, Viarengo A, Banni M, Sforzini S, 2015. Transcriptional Expression Levels and Biochemical Markers of Oxidative Stres in the Earth Worm *Eisenia* and *Rei* after Exposure to 2,4-dichlorophenoxyaceticacid(2,4-D). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122: 76–82.
- Jeon HJ, Lee Y, Mo H, Kim M, Al-Wabel MI, Kim Y, Cho K, Kim T, Ok YS, Lee S, 2015. Chlorpyrifos-Induced Biomarkers in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Science and Pollution Research*. 23(2): 1071-1080.
- Jin Y, Liu Z, Peng T, Fu Z, 2015. The Toxicity of Chlorpyrifos on the Early Life stage of Zebrafish: A survey on the Endpoints at Development, Locomotor Behavior, Oxidative Stress and Immunotoxicity, *Fish& Shellfish Immunology*, 43: 405-414.
- Kaviraj A, Unlu E, Gupta A, El Nembr A, 2014. Biomarkers of Environmental Pollutants. *Biomedical Research*. 806598.
- Kavitha P, Rao JV, 2008. Toxic Effects of Chlorpyrifos on Antioxidant Enzymes and Target Enzyme Acetylcholinesterase Interaction in Mosquito Fish, *Gambusia affinis*. *Environmental Toxicology Pharmacology*, 26: 192–198.
- Kırıcı M, Turk C, Caglayan C, Kırıcı M, 2017. Toxic Effects of Copper Sulphate Pentahydrate on Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation of Freshwater Fish *Capoeta Umbla* (Heckel, 1843) Tissues. *Applied Ecology and Environmental Research* 15(3): 1685-1696.
- Köprücü SS, Köprücü K, Ural MS, Ispir Ü, Pala M, 2006. Acute Toxicity of Organophosphorous Pesticide Diazinon and its Effects on Behavior and some Hematological Parameters of Fingerling European Catfish (*Silurus glanis L.*), *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86: 99–105.

- Kumar S, Lata S, Gopal K, 1999. Deltamethrin Induced Physiological Changes in Freshwater Catfish *Heterop neustes fossilis*. Bulletin Environmental Contamination Toxicology, 62: 254-258.
- Lavariás S, García CF, 2015. Acute Toxicity of Organophosphate Fenitrothion on Biomarkers in Prawn *Palaemonetes Argentinus* (Crustacea: *Palaemonidae*). Environmental Monitoring and Assessment, 187: 65.
- Luo Y, Su Y, Lin RZ, Shi HH, Wang XR, 2006. 2-chlorophenol Induced ROS Generation in fish *Carassius auratus* Based on the EPR Method, Chemosphere, 65(6): 1064–1073.
- Narr MR, 2014. Tissue-Specific Recovery of Oxidative and Antioxidant Effects of Chlorpyrifos in the Freshwater Crab, *Barytelphusa guerini*, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 67: 158–166.
- Nwani CD, Lakra WS, Nagpure NS, Kumar R, Kushwaha B, Srivastava SK, 2010. Toxicity of the Herbicide Atrazine: Effects on Lipid Peroxidation and Activities of Antioxidant Enzymes in the Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch). International Journal of Environmental Research and Public Health, 7(8); 3298-3312.
- Oruç EÖ, Sevgiler Y, Uner N, 2004. Tissue-specific Oxidative Stress Responses in Fish Exposed to 2,4-D and Azinphosmethyl. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 137: 43–51.
- Parlak V, 2018. Evaluation of Apoptosis, Oxidative Stress Responses, AChE Activity and Body Malformations in Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos Exposed to Deltamethrin. Chemosphere, 207: 397-403.
- Peixoto F, Alves-Fernandes D, Santos, D, Fontainhasfernandes A, 2006. Toxicological Effects of Oxyfluorfen on Oxidative Stress Enzymes in Tilapia *Oreochromis niloticus*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 85: 91-96.
- Petrov KA, Kharlamova AD, Lenina OA, Nurtdinov AR, Sitdykova ME, Ilyin VI, Zueva IV, Nikolsky EE, 2018. Specific Inhibition of Acetylcholinesterase as an Approach to Decrease Muscarinic side Effects during Myasthenia Gravis Treatment. Science Report. 10; 8(1): 304.
- Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K, 2014. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: the Interplay. Biomedical Research, 2014:761264.
- Ramsay RR, Tipton KF, 2017. Assessment of Enzyme Inhibition: a Review with Examples from the Development of Monoamine Oxidase and Cholinesterase Inhibitory Drugs. Molecules, 22 (2017): 1-46.
- Sandahl JF, Baldwin DH, Jenkins JJ, Scholz NL, 2005. Comparative Thresh Holds for Acetylcholinesterase Inhibition and Behavioral Impairment in *Coho Salmon* Exposed to Chlorpyrifos. Environmental Toxicology and Chemistry. 24(1): 136–145.
- Saravanan M, Kumar K, Ramesh M, 2011. Haematological and Biochemical Responses of Freshwater Teleost Fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: *Cypriniformes*) During Acute and Chronic Sublethal Exposure to Lindane. Pesticide Biochemistry and Physiology, 100: 206–211.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y, 1988. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, Clinical Chemistry, 34(3): 497-500.
- Tam NT, Berg H, Tuyen PTB, Cong NV, 2015. Effect of Chlorpyrifos Ethyl on Acetylcholinesterase Activity in Climbing Perch (*Anabas testudineus*, Bloch, 1972). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 69: 515–524.
- Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen NPE, 2003. Fish Bioaccumulation and Biomarkers in Environmental Risk Assessment: a Review. Environmental Toxicology and Pharmacology, 13: 57-149.

- Xing H, Wang X, Sun G, Gao X, Xu S, 2012. Effects of atrazine and chlorpyrifos on activity and transcription of glutathione S-transferase in Common Carp (*Cyprinus carpio L.*), *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33: 233–244.
- Yonar SM, 2013. Toxic Effects of Malathionin Carp, *Cyprinus carpio carpio*: Protective Role of Lycopene, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 97: 223–229.
- Zhang JF, Shen H, Wang XR, Wu JC, Xue YQ, 2004. Effects of Water-soluble Fractions of Diesel Oil on Theantioxidant Defenses of Goldfish, *Crassius auratus*. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 58: 110–116.
- Zhu B, Gong YX, Liu L, Li DL, Wang Y, Ling F, Wang G, 2014. Toxic Effects of Triazophos on Rare Minnow (*Gobiocypris rarus*) Embryos and Larvae. *Chemosphere*, 108: 46–54.

Dış Göçlerin Mevsimlik Tarım İşçiliği Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Zeki BAYRAMOĞLU¹

Merve BOZDEMİR^{1*}

ÖZET: Bu çalışma, Türkiye'nin mevsimlik tarım işçiliği ve aldığı dış göçler üzerine yapılan alan araştırmaları incelenerek; Türkiye'nin aldığı dış göçlerin mevsimlik tarım işçiliğine etkilerinin belirlenmesi ve mevsimlik tarım işçiliğinde meydana gelen sosyo-ekonomik sorunların tespiti amacıyla gerçekleştirilmiştir. 1951 yılında Cenevre Sözleşmesinin imzalanmasıyla birlikte Türkiye mültecilere iltica hakkı tanımış ve sözleşmede bazı özel şartlar belirlemiştir. Cenevre sözleşmesinden sonra yaşanan savaşlar, iç çatışmalar, doğal afetler gibi gerekçelerle insanların ikamet ettikleri yerleşim yerlerini terk etmek zorunda kalmaları ya da göç etmeye zorlanmaları sebebiyle Türkiye Ortadoğu'dan çok sayıda göçmen almıştır. Bu durum mevsimlik tarım işçilerinin sayısında özellikle 1950'li yıllardan günümüze hızlı bir artış meydana gelmesine neden olmuştur. 1980 ve 1990 yılları arasında yaşanan dış göçlerin etkisiyle mevsimlik tarım işçilerinin sayısı milyonları bulmuştur. Bu zaman dilimi sonrasında mevsimlik tarım işçiliği marjinal bir emek biçimi olmaktan çıkmıştır. 2000'li yıllarda ise göçmen mevsimlik tarım işçilerinin sayısı önemli boyutlara ulaşmıştır. Özellikle 2011 yılından itibaren çoğunluğu Suriyeli işçilerden oluşan tarımsal göçmen işgücü çeşitli üretim süreçlerinde yerli mevsimlik işgücünün yerini almıştır. Bu çalışma kapsamında dış göçlerin mevsimlik tarım işçiliği üzerine etkileri değerlendirilmiş ve çalışmanın sonunda piyasaya yönelik politika önerilerinde bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Dış Göç, Göç, Mevsimlik Tarım İşçiliği, Tarım Sektörü.

Evaluation Of External Immigration's Effects On Seasonal Agricultural Labour

ABSTRACT: This study is carried out in order to determine the effects of Turkey's foreign migrations on seasonal agricultural workers and the socio-economic problems that occur in seasonal agricultural workers by examining field studies made on emigration and seasonal agricultural workers. With the signing of the Geneva Convention in 1951, Turkey granted refugees asylum and set certain special conditions in the convention. Turkey has taken many immigrants from the Middle East because of the reasons such as wars, internal conflicts, natural disasters which occurred after Geneva Convention, and the fact that people have to leave their places of residence or are forced to emigrate. This situation caused a rapid increase in the number of seasonal agricultural workers, especially in the 1950s to present day. The number of seasonal agricultural workers has reached millions due to the effects of external migration between 1980 and 1990. After this period of time, seasonal agricultural labor has ceased to be a marginal type of labor. In the 2000s, the number of migrant seasonal agricultural workers reached significant levels. Especially since 2011, the agricultural migrant labor force, mostly Syrian workers, has replaced the domestic seasonal labor force in various production processes. Within the scope of this study, the effects of external migration on seasonal agricultural labor are evaluated and policy recommendations are made towards the market at the end of the study.

Keywords: Agriculture Sector, External Migration, Migration, Seasonal Agricultural Labor.

¹ Zeki BAYRAMOĞLU (Orcid ID: 0000-0003-3258-3848), Merve BOZDEMİR (Orcid ID: 0000-0002-5323-2265), Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı, Selçuklu, Konya, Türkiye

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Merve BOZDEMİR, e-mail: mbozdemir.akademi@gmail.com

Bu çalışma 4-5 Ekim 2017 tarihinde Düzce ilinde düzenlenen "Uluslararası Mevsimlik Tarım İşçiliği Sempozyumu"nda sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Göç genel anlamı itibariyle; yerleşik yaşanan bir bölgeden başka bir bölgeye taşınarak, yerleşmek amacını taşımaktadır (Keleş, 1998). Uluslararası göç ise; bir ülkeden başka bir ülkeye çalışmak veya yerleşmek amacıyla gerçekleştirilen ülkeler arası nüfus hareketliliğidir (Gönüllü, 1996). Yaşanan savaşlar, iç çatışmalar, doğal afetler gibi gerekçelerle insanların yerleşik yaşamını terk etmek durumunda kalması ve yaşamak için başka ülkeleri tercih etmesi daha çok “zorunlu göç” olarak tanımlanmaktadır (Taş ve Özcan, 2013). Tüm bu nedenlerden dolayı göçmen statüsünde ülkeye giriş yapan kişiler yaşamlarının devamlılığını sağlamak amacıyla çeşitli işlere ihtiyaç duyarlar. Tarım sektörünün yapısal özellikleri ve kayıt dışı istihdam olanakları göçmen işçiler için çoğu zaman kolay iş bulma fırsatı sunmaktadır. Tarım sektöründe üretim döneminin iklim ve doğal koşullara bağlı olması işgücünün kesintiye uğramasına neden olmakta ve bu noktada mevsimlik iş gücü ihtiyaçları ortaya çıkmaktadır. Mevsimlik tarım işçiliği; tarım işlerinin yoğunluk kazandığı zamanlarda ürün desenine ve işçi talebine göre yerleşik yaşanan yerden tarımsal alanlara aile bireyleri ile taşınan işgücü grubu olarak tanımlanır (Arslan, 2016). Son 10 yıl içerisinde tarım sektörünün mevsimlik iş kollarında yerli işgücünün yerini ucuz işgücü arzı nedeniyle göçmen işçiler almaya başlamıştır.

Türkiye’de 1960’lı yıllarda çalışmak ve gelir düzeyini yükseltmek amacıyla başta Almanya olmak üzere Avrupa’nın birçok ülkesine işgücü göçü verilmiştir. Yaklaşık olarak on yıl boyunca Türkiye’den Avrupa’ya gerçekleşen yoğun göç hareketleri 1973 yılında etkisini hissettiren petrol krizi, ekonomik bunalım ve Avrupa içinde artan işsizliğin neden olduğu küresel ekonomik kriz nedeniyle yapılan politika değişiklikleri sonucunda azalmıştır (Fidan ve Fidicioğlu, 2010). Sonraki yıllarda

Avrupa kadar olmasa da Körfez ülkeleri, Ortadoğu ve Rusya’ya göçler verilmiştir.

Türkiye’deki göçmen sayısında ise artan bir trend eğiliminin görülmeye başlaması 1951 yılında imzalanan Cenevre Sözleşmesi’nden sonra gerçekleşmiştir. Doğu ülkelerinden gelen göçmenlerin mülteci statüsüne dâhil edilmemesi neticesinde Türkiye statü ve yaşam koşulları açısından göçmenler açısından cazip hâle gelmiştir. Cenevre Sözleşmesi’nden sonra 1980 yılına kadar göçler daha çok Bulgaristan merkezli gerçekleşmiş ve Arnavutlar ile Boşnaklar bu süreçte Türkiye’ye yerleşmeyi tercih etmişlerdir. 1990’lı yıllardan 2000’li yıllara kadar Balkan bölgesinden Türkiye’ye üç kitlesel sığınma hareketi gerçekleştirilmiştir. Bu üç sığınma talebinin birincisi 1991 yılındaki I. Körfez krizi, ikincisi 1992 yılında Bosna savaşı ve üçüncüsü 1999’daki Kosova savaşı esnasında meydana gelmiştir (Deniz, 2011). Rusya ile Afganistan arasında 1979’da yaşanmaya başlayan çatışmalardan sonra 1990 yılından Türkiye Afgan göçmenlere kapılarını açmışlardır (Şahin ve Düzgün, 2016). Bu dönemde Afganistan’dan Türkiye’ye yaklaşık 7000 göçmenin geldiği tahmin edilmektedir (Franz, 1994). Yine aynı dönemler içerisinde 1980-1988 yılları arasında yaşanan İran-İrak savaşının ardından 2003 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nin Irak’ı işgal altına alması Iraklı göçmenlerin Türkiye’ye sığınmasına neden olmuştur. Türkiye’nin en önemli göç hareketlerinden bir tanesi de 2010 yılında Arap Baharı’nın neden olduğu toplumsal çatışmalar sonucunda gerçekleşmiştir. Arap Baharı nedeniyle Mart 2011’de Suriye’deki güvenlik problemleri sonucunda başlayan sığınmacı harekâtı izlenen “açık kapı politikası” ile desteklenmiş ve Suriyeli göçmenler geçici koruma statüsü ile Türkiye’de misafir edilmeye başlanmıştır.

Göç yolu ile Türkiye’ye gelen ve çoğunlukla Türkiye’ye yerleşmeyi tercih eden

birçok göçmen çeşitli sektörlerde, birçok iş kollarında istihdam edilmektedir. Tarım sektörü yapısal özellikleri ve enformel boyutu nedeniyle göçmenlere istihdam imkânı sunan önemli bir çalışma alanıdır. Göçmen işgücü, kayıt dışılık ve ucuz işgücü arzı yaratmaları bakımından üreticiler ve taşeronlar açısından mevsimlik tarımsal üretime katılımda önemli bir işgücü potansiyeline sahiptirler. Mevsimlik göçmen tarım işçileri Kars, Ardahan ve Iğdır gibi doğu illerinde genellikle hayvan bakımı ve ot biçme işlerinde istihdam edilirler. İç Anadolu, Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu, Karadeniz ve Ege Bölgelerinde hububat ürünleri, şekerpancarı, pamuk, kayısı, üzüm, antepfıstığı, fındık, çay ve narenciye yetiştiriciliğinde ve hasadında mevsimlik göçmen işgücünden yararlanılmaktadır (Dedeoğlu, 2016).

Türkiye’de tarımda istihdam edilen mevsimlik göçmen işçilerin uyuşuğu ağırlıklı olarak Gürcüler, Azeriler ve Suriyelilerden oluşmaktadır. Gürcüler daha çok Karadeniz Bölgesinde çay ve fındık yetiştiriciliği ile hasadında istihdam edilirlerken, Azeriler doğu illerinde ot biçme ve hayvancılık işlerinde çalışırlar. Suriyeli göçmenler ise Adana, Mersin, Şanlıurfa ve Gaziantep illeri başta olmak üzere hububat, bitkisel üretim, meyve-sebze yetiştiriciliği ve hasadında istihdam edilirler (Anonim, 2017a). Mevsimlik göçmen tarım işçileri içerisinde en büyük iş potansiyeline sahip olan göçmenler sayı itibarıyla Suriyelilerdir. 2016 yılında yayınlanan Göç Raporu’na göre geçici barınma merkezleri dışında yaşayan Suriyelilerin toplam nüfusu 2 733 284 kişidir. Bu rakam dışında geçici barınma merkezlerinde de 272 670 Suriyeli yaşamaktadır. Kalabalık nüfus yapısı ve sayısal büyüklükleri nedeniyle Suriyeli göçmenler başta tarımsal çalışma alanları olmak üzere çeşitli iş kollarında ucuz işgücünün kaynağını oluşturmaktadırlar.

Yerli işgücü potansiyeline karşılık göçmen işgücünün tarım sektöründe tercih edilmeye

başlaması Türkiye açısından hem sosyal ve hem ekonomik bazı problemleri meydana getirmektedir. Tarım işletmelerinde sermaye birikiminin düşük olması, işletme gelirlerini ve dolayısıyla üretim sürecini doğrudan etkilemektedir. Dolayısıyla üretim maliyetlerinin minimize edilebilmesi için işgücü maliyetlerinin azaltılmak istenmesi tarımsal üreticiler açısından rasyonel bir davranıştır. Fakat tarım sektörünün sahip olduğu yapısal problemler, kayıt dışılık ve göçmen istihdamı; yoksulluk olgusunu ve iş gücü piyasalarını da negatif yönde etkilemektedir. Yoksulluk olgusu; maddi kaynaklardan, bazen de kültürel kaynaklardan yoksun kaldığını ifade eden bir durumdur (Gülçubuk ve Bayaner, 2012). Yoksulluğun her iki bileşeni de mevsimlik göçmen tarım işçileri ve tarımsal üretimden vazgeçmek durumunda kalan mevsimlik yerli tarım işçileri için söz konusudur.

Dünya genelinde tarımsal üretimde istihdam için göç edenlerin gittikleri ülkelerde tarımsal üretim faaliyetlerini yapabilme sorunu yaygın olarak karşılaşılan bir olgudur. Göç alan ülkelerde yerel işgücünün yer almak istemediği düşük ücretli, düşük vasıflı bir iş olarak görülen tarımsal üretim ağırlıklı olarak göçmenlerin çalıştığı bir sektör konumuna gelmiştir (Dedeoğlu, 2016). Ayrıca göçmen işçilerin yerel işgücüne göre donanım ve yeterliliklerinin düşük olmasına karşın üretim maliyetlerinde azalışı neden oldukları için üretim sürecinde tercih edilmeleri uzun vadede ekonomik ve sosyal açıdan problem yaratacaktır. Düşük ücret talepleri ve sosyal güvence isteğinin bulunmaması nedeniyle tarımsal üreticiler tarafından işgücü ihtiyacına karşılık mevsimlik göçmen tarım işçilerinin istihdamı talep edilmektedir. Yerel işgücü göçmen işgücünün etkisi ile kentsel alanlara kaymaktadır. Tarımsal üretimde temel problemlerden bir tanesi olan kentleşmenin; demografik, mekânsal, ekonomik ve sosyal boyutları içerisinde en etkili olanının

ise ekonomik sebepler olduğu görülmektedir (Ren ve ark., 2014).

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan veriler ikincil kaynaklardan düzenlenmiş ve çalışmanın hazırlanması için literatür taraması yapılmıştır. Verilerin elde edilmesinde TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu, İçişleri Bakanlığı Göç İdaresi Başkanlığı, ILO (International Labor Organization / Uluslararası Çalışma Örgütü) ve IOM (International Organization for Migration / Uluslararası Göç Örgütü) gibi kurumların web sitelerinden yararlanılmış ve konu ile ilgili raporları incelenmiştir. Konunun hazırlanmasında ilgili kitap, dergi, makale, kurum ve kuruluşlara ait araştırma raporları, konu ile ilgili gerçekleştirilen proje çıktıları, kongre ve sempozyum dokümanları incelenmiştir. Elde edilen tüm veriler değerlendirilerek çalışma gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Türkiye’de Nüfus, Nüfusun Dağılımı ve Tarımsal İstihdam

Türkiye’de ilk nüfus sayımı 1927 yılında gerçekleştirilmiştir. 1940 yılında ise Hatay’ın Türkiye’nin sınırları içerisine dâhil edilmesiyle, Türkiye’nin bugün sahip olduğu sınırlar çerçevesinde ilk nüfus sayımı gerçekleştirilmiştir. Çizelge 1’de Türkiye’deki nüfus ve nüfus dağılımı yıllar itibariyle incelenmiş, 1940 yılında toplam nüfus 17 820 950 kişi olarak kayıtlara geçmiştir. Kayıtlara göre toplam nüfusun %24.4’ü il ve ilçelerde, %75.6’sı ise belde ve köylerde bulunmaktaydı. Yıllar içerisinde nüfusun artmasıyla ve kentsel alanlarda sanayileşmeyle birlikte il ve ilçelerde ikamet eden nüfusun oranı artmış, kentlerdeki

yaşam koşulları, düzenli gelir elde etme olanakları ve sosyal imkânların çeşitliliği belde ve köylerde ikamet edenlerin oranı azalmıştır. Nüfusun ikamet ettiği alanlardaki meydana gelen değişiklikler toplumsal yapı içerisinde ne yönde bir değişim yaşadığının en büyük kanıtıdır. 1940 yılına ait veriler ve 2016 yılına ait veriler karşılaştırıldığında tarım alanında faaliyet gösteren, belde ve köylerde ikamet eden nüfusun, hizmet ve sanayi sektörüne kayarak il ve ilçelerde ikamet etmeye başladıkları söylenebilir (Gelekçi, 2015). Ayrıca iç göçlerin sağladığı hareketliliğin yanı sıra dış göçlerle de Türkiye’deki nüfus artışının dinamik yapısı desteklenmiş ve yıllar itibariyle toplam nüfusta artış yaşanmıştır.

2012 yılı ile 2013 yılı değerleri karşılaştırıldığında il ve ilçedeki nüfus ile köy ve beldedeki nüfus oranlarında ani değişikliklerin olduğu görülmektedir. Bu değişikliğin temel nedeni Resmi Gazete’de yayınlanan 6360 sayılı “On Dört İlde Büyükşehir Belediyesi ve Yirmi Yedi İlçe Kurulması ile İlgili Bazı Kanun ve Kanun Hükmünde Kararnamelerde Değişiklik Yapılmasına Dair Kanun”dur (Anonim, 2017b). Kanunun yürürlüğe girmesinden sonra toplam nüfusun il ve ilçelerdeki oranı %77.3’den %91.3’e yükselmiştir. Belde ve köylerdeki nüfus oranı ise %22.7’den %8.7’ye düşmüştür. Genel olarak nüfus değişimi değerlendirildiğinde yıllar itibariyle rakamlarda artış meydana geldiği görülmektedir. Son veri yılı olarak değerlendirilen 2016 yılına ait nüfus ve nüfus dağılımı verileri incelendiğinde; toplam nüfusun 79 814 871 kişi olduğu görülmektedir. Toplam nüfusun %92.3’ünü oluşturan il ve ilçe nüfusu 73 671 748 kişidir. Belde ve köy nüfusu ise %7.7’lik bir orana sahip olup 6 143 123 kişidir.

Çizelge 1. Türkiye’de Yıllara Göre Nüfus ve Nüfus Dağılımı

Yıllar	Toplam Nüfus (Kişi)	İl ve İlçe Nüfusu (Kişi)	Belde ve Köy Nüfusu (Kişi)	İl ve İlçe Payı (%)	Belde ve Köy Payı (%)
1940	17 820 950	4 346 249	13 474 701	24 .4	75 .6
1950	20 947 188	5 244 337	15 702 851	25 .0	75 .0
1960	27 754 820	8 859 731	18 895 089	31 .9	68 .1
1970	35 605 176	13 691 101	21 914 075	38 .5	61 .5
1980	44 736 957	19 645 007	25 091 950	43 .9	56 .1
1990	56 473 035	33 326 351	23 146 684	59 .0	41 .0
2000	67 803 927	44 006 274	23 797 653	64 .9	35 .1
2010	73 722 988	56 222 356	17 500 632	76 .3	23 .7
2011	74 724 269	57 385 706	17 338 563	76 .8	23 .2
2012	75 627 384	58 448 431	17 178 953	77 .3	22 .7
2013	76 667 864	70 034 413	6 633 451	91 .3	8 .7
2014	77 695 904	71 286 182	6 409 722	91 .8	8 .2
2015	78 741 053	72 523 134	6 217 919	92 .1	7 .9
2016	79 814 871	73 671 748	6 143 123	92 .3	7 .7

Kaynak: TÜİK, 2017.

Çizelge 2’de Türkiye işgücü piyasalarının yapısı, toplam istihdam oranı içerisinde tarım sektörünün payı, tarım dışı istihdam ve işsizlik oranları incelenmiştir. Yıllar itibariyle belde ve köylerde yaşanan nüfus azalışlarının oransal olarak tarım istihdamına da yansıdığı görülmektedir. Türkiye’de tarımsal nüfusun toplam nüfus içerisindeki payı ekonomik gelişmeler, kentsel alanlarda sanayileşme, hızlı şehirleşme gibi nedenlerle azalmaktadır (Gülçubuk ve ark., 2017). İç göçlerinde kırsal alanlardan kentlere doğru gerçekleştiği görülmektedir. Bu durumda tarımda istihdam edilen kişi sayısı artsa da toplam istihdam içerisinde tarım sektörünün payı değerlendirildiğinde tarımsal istihdamda oransal olarak azalış söz konusudur. İstihdam oranları açısından yapılan değerlendirmelerde tarım sektörünün payının azalmasına neden olan en önemli sorunlardan bir tanesi de kayıt dışı istihdam yapısının var olmasıdır.

Türkiye’nin artan nüfus potansiyeline ve tarımın toplumun beslenmesi için gereken gıda maddelerinin üretilmesinde temel sektör olarak

yer almasına rağmen tarımda istihdam oranının azalmasının diğer sebepleri; tarımda yıllar itibariyle makine-ekipmanların kullanım oranlarının artmasına bağlı olarak işgücü talebinin azalması, sanayi ve hizmet sektöründe işgücüne olan talepte artış yaşanması neticesinde il ve ilçelere göçün artması ve ekilebilir alanların parçalanması nedeniyle geçim kaynaklarının daralmasıdır (Tarım Sektörü Raporu, 2017). Ayrıca ekonomik koşullara bağlı olarak meydana gelen değişiklikler, istihdamda yaşanan daralma; tarım sektöründeki istihdam oranını azaltmaktadır. Çünkü tarım sektöründe çalışanların bir bölümü başka sektörlerde iş bulabildikleri anda düzenli gelir elde etmek ve sosyal imkânlarını arttırmak amacıyla tarım sektöründen ayrılmaktadırlar. Bu yönüyle tarım sektörü hem nüfusun bir kısmının istihdam edilmesi hem de diğer sektörlerde işgücü arzının sağlanması açısından önemlidir. Dönemsel olarak ekonominin daraldığı ve istihdam oranlarının küçüldüğü dönemlerde kırsal alanı terk etmiş işgücü yeniden tarım sektörüne dönebilmektedirler (Olhan, 2011).

Çizelge 2. Türkiye İşgücü Piyasası Dağılımı (bin kişi)

Yıllar	15+ Yaş Nüfus	İşgücü	İstihdam	Tarım İstihdam	Tarım Dışı İstihdam	İşsiz	İşgücüne Katılma Oranı	İstihdam Oranı	İşsizlik Oranı	Tarım Dışı İşsizlik Oranı	Genç Nüfusta İşsizlik Oranı
2006	49 275	22 353	20 353	4 801	15 553	2 000	45.0	41.0	8.9	11.1	16.7
2007	50 177	22 292	20 230	4 420	15 811	2 062	44.1	40.0	9.2	11.1	17.4
2008	50 982	23 238	20 451	4 534	15 918	2 787	45.3	39.9	12.0	14.6	21.9
2009	51 833	24 314	21 413	5 035	16 377	2 901	46.5	41.0	11.9	14.7	20.6
2010	52 904	25 144	22 631	5 374	17 257	2 513	47.1	42.4	10.0	12.4	18.4
2011	53 985	25 682	23 492	5 325	18 167	2 190	47.2	43.1	8.5	10.4	15.4
2012	54 961	26 855	24 486	5 349	19 137	2 370	48.5	44.2	8.8	10.8	16.9
2013	55 982	27 367	24 877	5 051	19 825	2 491	48.4	44.0	9.1	10.9	16.5
2014	56 986	29 218	26 186	5 424	20 761	3 032	50.9	45.6	10.4	12.5	19.1
2015	57 854	30 090	27 004	5 417	21 586	3 086	51.6	46.3	10.3	12.3	18.2
2016	58 720	30 535	27 205	5 305	21 900	3 330	52.0	46.3	10.9	13.0	19.8

Kaynak: TÜİK, 2017.

Çizelge 3’de Türkiye’de istihdam edilen kişi sayısı ve tarım sektörünün istihdamdaki payı incelenmiştir. Tarımsal istihdam sayısı yıllar

itibariyle artış gösterse toplam nüfus içerisinde diğer sektörlerde çalışan nüfus sayısının artması nedeniyle oransal olarak azalmıştır.

Çizelge 3. Türkiye İstihdam Edilen Nüfus ve Tarım Sektörünün İstihdam Payı (bin kişi)

Yıllar	İstihdam	Tarım İstihdam	Oranı (%)	Tarım Dışı İstihdam	Oran (%)
2006	20 353	4 801	23.6	15 553	76.4
2007	20 230	4 420	21.9	15 811	78.2
2008	20 451	4 534	22.2	15 918	77.8
2009	21 413	5 035	23.5	16 377	76.5
2010	22 631	5 374	23.8	17 257	76.3
2011	23 492	5 325	22.7	18 167	77.3
2012	24 486	5 349	21.9	19 137	78.2
2013	24 877	5 051	20.3	19 825	79.7
2014	26 186	5 424	20.7	20 761	79.3
2015	27 004	5 417	20.1	21 586	79.9
2016	27 205	5 305	19.5	21 900	80.5

Kaynak: TÜİK, 2017.

Türkiye’nin Sınır Kapısı Giriş Çıktıları ve Göç Durumu

Türkiye’ye sınır kapılarından yapılan girişler değerlendirildiğinde birçok yabancı turist amaçla ülkeye giriş yaptığı bilinmektedir. Türkiye’ye giriş yaptıktan sonra geri dönmeyen göçmenler eğitim-öğretime devam etmek, çalışma veya muhtelif amaçlarla ülkede kalmaya karar vermişlerdir.

Çalışma izni ile Türkiye’de kalmayı tercih eden göçmenlerin işgücüne iki alanda ihtiyaç duyulmaktadır. Birincisi yerli işgücünün yeterli olmadığı, çalışma alanı olarak az tercih edilen ve yeterli emek arzını barındırmayan bakım

hizmetleri ile turizm sektörüdür. İkincisi ise göçmen emeği ile yerli emeğin rekabet içerisinde olduğu tekstil, inşaat ve tarım sektörleridir ((Dedeoğlu, 2016; Bozdemir ve ark., 2019). Çizelge 4’de göçmen mevsimlik işçi sayısının belirlenmesine yönelik; Türkiye sınır kapılarından giriş çıkış yapan yabancı kişi sayısı, Türkiye’de kalan yani ülkesine dönüş yapmayan kişi sayısı, ikamet izni alan toplam göçmen sayısı, en çok ikamet izni alan üç ülke, çalışma izni alarak Türkiye’de ikamet etmeye başlayan göçmenlerin ve düzensiz göç yapan kişilerin sayıları verilmiştir.

Çizelge 4. Göç ile İlgili Temel Veriler

Yıllar	Giriş Sayısı	Çıkış Sayısı	Türkiye'de Kalanların Sayısı	İkamet İzni Alan Kişi Sayısı	En Çok İkamet İzni Alan Üç Ülke	Çalışma İzni Alanların Sayısı	Düzensiz Göç Yapan Kişi Sayısı
2013	32 865 309	32 639 760	255 549	313 692	Suriye 46 252 Azerbaycan 21 785 Rusya 16 722	44 307	39 890
2014	35 115 789	34 780 393	335 369	379 804	Irak 38 742 Suriye 31 715 Afganistan 29 775	18 468	496 912
2015	34 633 391	34 285 711	335 396	422 895	Irak 33 202 Suriye 32 578 Azerbaycan 32 476	62 756	146 485
2016	24 686 471	24 718 273	31 802	461 217	Irak 55 983 Suriye 48 738 Azerbaycan 39 184	56 591	174 466

Kaynak: Göç Raporu, 2017.

2013 yılı içerisinde Türkiye'ye en çok Almanya, Rusya ve İngiltere'den giriş çıkış yapılmıştır. Yıl içerisinde ülkeye toplam 32 865 309 kişi giriş, 32 639 760 kişi çıkış yapmıştır ve 225 549 kişi Türkiye sınırları içerisinde eğitim-öğretimlerine devam etmek, çalışma ve muhtelif amaçlarla kalmıştır. Türkiye'de 2013 yılında 313 692 kişiye çeşitli nedenlerle ikamet izni verilmiştir. Türkiye'den ikamet izni alan ülkeler sıralamasında birinci sırayı 46 252 kişi ile Suriye, ikinci sırayı 21 785 kişi ile Azerbaycan ve üçüncü sırayı 16 722 kişi ile Rusya almaktadır. 2013 yılında Türkiye'de ikamet hakkı edinen toplam göçmen sayısı içerisinde 44 307 kişi çalışma amaçlı izin alarak, toplam ikamet izni içerisinde %16'lık pay elde etmişlerdir. Aynı yıl içinde Türkiye'ye düzensiz göç gerçekleştiren kişi sayısı ise 39 890 olarak belirlenmiştir (Göç Raporu, 2015).

2014 yılında Türkiye'ye sınır kapılarından giriş çıkış yapan kişilerin sayısı da Çizelge 4'de verilmiştir. Sınır kapısından giriş yapanların sayısı 2014 yılında 2013 yılına oranla %6'lık bir artış göstermiş ve 35 115 789 kişi Türkiye'ye giriş yapmıştır. Aynı oranda artış çıkış yapanlar içinde geçerli olmuş ve toplam 34 780 393 kişi ülkelerine geri dönmüştür. Toplam 335 369 kişi aynı yılda Türkiye sınırları içerisinde kalmıştır. 2014 yılı içerisinde toplam 379 804 kişiye ikamet izni verilmiş 2013 yılına oranla ikamet

izni alanların sayısı %21 oranında artmıştır. Türkiye'den ikamet izni alan ülkeler sıralamasında birinci sırayı 38 742 kişi ile Irak, ikinci sırayı 31 715 kişi ile Suriye ve üçüncü sırayı 29 775 kişi ile Afganistan almaktadır. Türkiye'de ikamet hakkı verilen 379.804 kişi içerisinde çalışma izni alanların oranı %5 olup 18 468 kişi daha çeşitli sektörlerde istihdam edilmek üzere Türkiye'de kalmıştır. Aynı yıl düzensiz göç yapan kişi sayısı 2013 yılına oranla %47 artmış ve 496 912 kişi olarak hesaplanmıştır (Göç Raporu, 2016a).

2015 yılında sınır kapılarından giriş yapan kişi sayısı 2014 yılına göre %1 azalış göstermiştir. Türkiye'ye 34 633 391 kişi giriş, 34 285 711 kişi çıkış yapmış ve ülke sınırları içerisinde 335 396 kişi kalmıştır. 2015 yılı içerisinde Türkiye'den ikamet izni alan göçmenlerin sayısı 422 895 kişi olarak hesaplanmıştır. Birinci sırada Irak 33 202 kişi ile en çok ikamet izni alan ülke olmuştur. İkinci sırada 32 578 kişi ile Suriye ve üçüncü sırada 32 476 kişi ile Azerbaycan yer almaktadır. 2015 yılında ikamet izni alan toplam göçmen sayısı içerisinde %15'lik dilimi oluşturan 62 756 kişi çalışma izni almıştır. Düzensiz göç yoluyla Türkiye'de kalan kişi sayısı 2015 yılında 146 485 kişidir (Göç Raporu, 2016b).

2016 yılında ise Türkiye'ye giriş yapan kişi sayısı 2015 yılına göre %29 oranında azalış

göstermiş ve 24 686 471 kişi olarak hesaplanmıştır. 2016 yılında 3 808 463 kişi Almanya'dan Türkiye'ye giriş yapmıştır. Almanya'yı 2 195 727 kişi ile Gürcistan, 1 685 983 kişi ile Bulgaristan takip etmiştir. Türkiye'ye giriş ve çıkış yapan kişi sayısı değerlendirildiğinde geçmiş üç yılın ardından sayısal değerlerinin yakın olmasına rağmen ülkeden çıkış yapan kişi sayısının giriş yapan kişi sayısından daha fazla olduğu görülmüştür. 2016 yılında 2015 yılına oranla ülkeden çıkış yapan kişi sayısında %28'lik azalma olmuş ve 24 718 273 kişi Türkiye'den ayrılmıştır. 2016 yılı içerisinde toplam 461 217 kişi Türkiye'den ikamet izni almıştır. İkametgah izni alan ülkeler içerisinde ilk sırada 55 983 kişi ile Irak vardır. Irak'tan sonra 48 738 Suriye vatandaşı ve 39 184 Azerbaycan vatandaşı Türkiye'den ikamet izni almışlardır. İkamet iznini çalışma şartıyla alan 56 591 kişi ikamet izni alan kişi sayısının %12'sini oluşturmaktadır. 2016 yılında da artış göstermeye devam eden düzensiz göçle ülkeye giriş yapan kişi sayısı 174 466 kişi olarak hesaplanmıştır (Göç Raporu, 2017).

Türkiye'den ikamet izni ve çalışma izni alan göçmenlerin yanı sıra; İran, Bulgaristan ve Gürcistan 90 gün süreyle, Rusya Federasyonu, Ukrayna, Azerbaycan, Özbekistan, Kazakistan ve Türkmenistan 30 gün süreyle vizeden muaf tutulmuştur. Moldova ve Ermenistan gibi ülkelerden gelenler ise 30 günlük vizeyi sınırda bandrol uygulamasıyla alabilmektedirler. Söz konusu ülkelerden umuma mahsus pasaportla

gelenlerin 30 veya 90 gün süreyle vizeden muaf tutulmasının bu ülkelere gelen kişilerin döngüsel göçü artırdığına kesin gözüyle bakılmaktadır (Toksöz ve ark., 2012). Döngüsel göç yoluyla Türkiye'ye giriş yapan kişilerin 30 ile 90 gün arasında tarımın çeşitli iş kollarında kayıt dışı, ucuz işgücü arzıyla, yevmiye usulüyle çalıştıkları ve vizesiz gün sayısını tamamladıklarında ülkelerine döndükleri tahmin edilmektedir. Bu durumda mevcut koşullar içerisinde düzensiz göçmen sayısının önüne geçmek mümkün değildir. Göçmenlerin mevsimlik işlerde kayıt dışı istihdam edilmeleri ve piyasaya ucuz işgücü arzını sunmaları, Türkiye'nin mevcuttaki yerel işgücüne ve çalışma izni ile istihdam edilen işgücüne zarar vermektedir (Bozdemir ve ark., 2019).

Mevsimlik Tarım İşlerinde Göçmen İstihdamı

Türkiye'de ikamet ve çalışma izni alan göçmenler tarımsal iş kollarını da içerisinde barındıran çeşitli sektörlerde istihdam edilmektedirler. Çizelge 5'de 2016 yılının verilerine göre geçici barınma merkezleri dışında yaşayan Suriyeli sığınmacıların tahmini aralık değerleri verilmiştir. Çizelge 6'da da Türkiye'de tarım sektöründe özellikle üretim sürecinde istihdam edilen göçmen işgücünün illerdeki dağılımı ve ürün bazlı çalışma alanları incelenmiştir. İstihdam edilen göçmen işgücünün büyük çoğunluğunun Suriye uyruklu göçmenlerden oluştuğu görülmektedir.

Çizelge 5. Türkiye'deki Suriyeli Geçici Sığınmacılar (Barınma Merkezlerinin Dışında)

Kişi Sayısı	İller
100 000 üstü	Adana / Gaziantep / Hatay / İstanbul / Mersin / Şanlıurfa
100 000 / 75 001	Bursa / İzmir / Kahramanmaraş / Mardin
75 000 / 50 001	Ankara / Konya
50 000 / 25 001	Diyarbakır / Kayseri / Osmaniye
25 000 / 0	Diğer İller

Kaynak: Kalkınma Atölyesi, 2017.

Çizelge 6. Mevsimlik Tarım İşçilerinin Çalışma Alanları ve Geldikleri Ülkeler

Çalışılan Şehir	Tarımsal Çalışma Alanı	Göç Edilen Ülke
Adana	Defne Yaprağı / Narenciye / Pamuk / Sebze	Gürcistan / Suriye
Adıyaman	Antepfıstığı	Suriye
Afyon	Kiraz	Suriye
Aksaray	Ayçiçeği / Şekerpancarı	Suriye
Amasya	Soğan	Suriye
Ankara	Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık / Sebze / Şekerpancarı	Afganistan / Gürcistan / Irak / Kazakistan / Özbekistan / Suriye
Antalya	Narenciye / Sebze	Afganistan / Gürcistan / Suriye
Ardahan	Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık / Ot Biçme	Azerbaycan
Artvin	Çay	Gürcistan
Aydın	Sebze	Suriye
Batman	Mısır / Pamuk	Suriye
Bitlis	Sebze	Suriye
Burdur	Fasulye	Suriye
Bursa	Sebze	Suriye
Çanakkale	Sebze	Suriye
Çorum	Bakliyat / Soğan / Şekerpancarı	Suriye
Denizli	Büyükbaş Hayvancılık / Elma	Suriye
Diyarbakır	Küçükbaş Hayvancılık	Suriye
Düzce	Fındık	Gürcistan / Suriye
Erzurum	Şekerpancarı	Suriye
Eskişehir	Soğan / Şekerpancarı	Suriye
Gaziantep	Antepfıstığı / Sebze	Suriye
Giresun	Fındık	Gürcistan
Hatay	Narenciye / Pamuk / Sebze	Gürcistan / Suriye
Isparta	Gül	Irak / Suriye
İzmir	Büyükbaş Hayvancılık / Narenciye	Suriye
Kahramanmaraş	Sebze	Suriye
Karabük	Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık	Suriye
Kars	Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık	Azerbaycan / İran
Kayseri	Şekerpancarı	Suriye
Kırşehir	Şekerpancarı	Suriye
Kilis	Büyükbaş Hayvancılık	Suriye
Konya	Ayçiçeği / Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık / Şekerpancarı	Afganistan / Suriye
Malatya	Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık / Kayısı	Irak / Suriye
Manisa	Sebze	Suriye
Mardin	Küçükbaş Hayvancılık	Suriye
Mersin	Narenciye	Suriye
Muğla	Narenciye / Sebze	Suriye
Muş	Küçükbaş Hayvancılık / Meyan Kökü	Suriye
Nevşehir	Bağcılık	Suriye
Niğde	Bakliyat / Sebze	Suriye
Ordu	Fındık	Gürcistan / Suriye
Osmaniye	Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık / Sebze	Suriye
Rize	Çay	Gürcistan / Rusya / Suriye
Sakarya	Fındık	Gürcistan / Suriye
Samsun	Fındık / Sebze	Gürcistan / Suriye
Sivas	Şekerpancarı	Suriye
Şanlıurfa	Antepfıstığı / Kırmızı Biber / Mısır / Pamuk / Sebze / Şekerpancarı	Azerbaycan / Irak / Suriye
Tokat	Soğan	Suriye
Trabzon	Çay / Fındık	Ermenistan / Gürcistan / Rusya / Suriye
Yozgat	Bakliyat / Şekerpancarı	Suriye
Zonguldak	Fındık	Gürcistan

Kaynak: Kalkınma Atölyesi, 2017.

Geçici barınma merkezleri dışında yaşayan Suriyelilerin toplam nüfusu 2 733 284 kişidir. Bu rakam dışında geçici barınma merkezlerinde de 272 670 Suriyeli bulunmaktadır (Göç Raporu,

2016). Suriyeli göçmen işgücünde aktif işgücü sayısı tam olarak bilinmemesine rağmen Türkiye işgücü piyasaları açısından Suriyeli göçmenler ciddi bir işgücü potansiyeline sahiptirler. Ayrıca

Türkiye’de Suriye’den gelen göçmen işgücünün yanı sıra Afganistan, Azerbaycan, Gürcistan, Irak, İran, Kazakistan, Özbekistan, Ermenistan ve Rusya’dan gelen veya döngüsel göçe dâhil olan göçmenlerinde olduğu bilinmektedir.

Tarımda yaşanan sosyo-ekonomik gelişmeler sonucunda mevsimlik işgücünün üretim maliyetleri açısından avantaj sağlaması yevmiye ile çalışan, sosyal güvence talebi olmayan ve piyasaya ucuz işgücü arzı sağlayan tarım işçilerine olan talebi artırmıştır. Mevsimlik göçmen tarım işçilerinin düşük ücret karşılığı çalışmaya razı olması ve sosyal güvence talebinde bulunmaması da yerli işgücüne karşı göçmen işgücünü ön plana çıkarmıştır. Piyasada göçmen işçilerin yarattığı işgücü ücret karşılığındaki azalışlar yerli işgücünü negatif etkilemekte ve var olan işgücünün diğer sektörlerde istihdam arayışına girmesine neden olmaktadır. Göçmen işçilerin bu tutum ve davranışları aynı zamanda tarımda kayıt dışı istihdamın büyümesine neden olmaktadır.

SONUÇ

Cenevre Sözleşmesi’nin 1951 yılında imzalanmasından sonra Türkiye’nin dış göç oranı artmıştır. Ortadoğu’da yaşanan savaşlar ve iç çatışmalar süreci de özellikle 2010 yılından sonra Türkiye’nin yer aldığı coğrafi konum itibarıyla de yoğun göç almasına neden olmuştur. Türkiye’nin uyguladığı “açık kapı politikası” beraberinde düzensiz göç sayısını da arttırarak, ekonomik ve sosyal problemleri beraberinde getirmiş ve süreçte göçmen olarak Türkiye sınırları içerisinde sayıca ağırlıklı olan Suriyeli göçmenlere yönelik politikalar geliştirme zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Bu durumda üzerinde durulması gereken en önemli konu istihdam politikalarıdır.

İstihdam politikaları bir ülkede sosyal ve ekonomik açıdan oldukça önemlidir ve ekonomik kalkınma ve büyümenin temelidir. Küresel politikalar çerçevesinde de üzerinde önemle durulan kalkınma odaklı büyüme

anlayışı, istihdam politikalarına yönelik yapılan düzenlemeleri de etkisi altına almış ve sosyal içerikli istihdam politikaları ağırlık kazanmaya başlamıştır. Bu nedenle mevsimlik göçmen işçiler için sosyal ve ekonomik alanda yapılan düzenlemeler Türkiye’nin kalkınmasına katkı sağlayacaktır.

Türkiye’deki göçmenlerin özellikle tarımda mevsimlik tarım işçisi olarak yer alması, düşük ücret karşılığında sosyal güvence istemeden çalışmalarını işgücü piyasasında değer azalışına neden olmakta ve kayıt dışı ekonomide artış yaratmaktadır. Türkiye’nin 1951 yılından günümüze kadar aldığı göçler kayıt dışı işgücünün oluşmasını, göçmen işgücünün yerel işgücünün yerini alarak işçilik maliyetlerini düşürmesini ve bu nedenlerle işgücü piyasasının yönetiminin daha zor hale gelmesine neden olmuştur.

2016 yılında Türkiye’de 56 591 kişi çalışma izni ile ikamet etme hakkı elde etmiştir. Bu sayı toplam ikamet izni alan göçmenlerin %12’sini oluşturmaktadır. Aynı yıl içerisinde 174 466 göçmende düzensiz göçe konu olmuştur. Bu rakamlar dikkate alındığında Türkiye tarım sektöründe ciddi bir işgücü potansiyeli oluşmaktadır. Ayrıca mevsimlik tarım işlerinde istihdam edilen göçmenlerin bir kısmı vizesiz giriş hakkından yararlanarak yetiştiricilik ve hasat dönemlerinde ülkelerinden gelerek üretim sürecine dâhil olmakta ve ücretlerini aldıktan sonra ülkelerine dönmektedirler. Bu durum kayıt dışı istihdam miktarını arttırmakta ve işgücü piyasasını negatif yönde etkilemektedir.

Hayvan kontrol ve güvenliğini sağlayarak, hayvanların otlatılması ile ilgilenen ve günümüzde sürü yönetimi olarak adlandırılan faaliyetlerin gerçekleştirilmesinde de Afgan ve Suriyeli işçiler tercih edilmeye başlanmıştır. Göçmen çobanlar sürü yönetimi ve süt sağımı sırasında kullanılan teknoloji hakkında yeterli bilgi düzeyine sahip olmadıkları için daha düşük

ücretlerle istihdam edilmektedirler. Göçmenlerin teknolojik bilgi düzeyinin yetersizliği Türkiye'deki iş standartlarına uyum sağlamada zorlanmaları uzun vadede Türkiye ekonomisinde yapısal işsizliğe de neden olacaktır.

Türkiye'de istihdam edilen mevsimlik tarım işçileri kendi ülkelerinde farklı meslek gruplarında uzman olsalar dahi, Türkiye tarım sektöründe yetiştirilen ürünlerle ilgi bilgi düzeyleri ve teknoloji kullanımları yeterli olmadığı için işgücü kullanımı belirli noktalarda atıl kalacaktır. Bu nedenle tarım ürünlerinin kalitesinde, ürünlerin ve işgücünün verimliliğinde düşüşler meydana gelecektir. Bu sorunları önüne geçilmesi amacıyla göçmenlere gerekirse kendi dillerinde mesleki eğitimler ve tarımsal uygulamalar ile ilgili yayım faaliyetlerinin ve atölye çalışmalarının gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

“Geçici Koruma Sağlanan Yabancıların Çalışma İzinlerine Dair Yönetmelik”in gelecek yıllarda mevsimlik göçmen işçilerin sayısında daha fazla artacağı düşünüldüğünde tarımsal işgücünde değer kayıpları devam edecek ve yerel işgücü yerini yabancı işgücüne bırakacaktır. Artan nüfus ve oluşturdukları işgücü potansiyeli nedeni ile mevsimlik tarım işçilerinde göçmenlerin ön plana çıkması kırsal alanda sosyal değişimlere de neden olacaktır. Bu değişikliklerden bir tanesi kırsal alanlar farklı etnik, dini ve kültürel grupların bir araya gelerek yeni bir kırsal alan algısı oluşturması, ikincisi ise yerel işgücüne karşılık daha düşük ücretle çalışan göçmen işçilerin tarım sektöründe istihdamının yoğunlaşması, yerli işgücünün kentsel alanlarda farklı çalışma alanlarına kayması olacaktır.

Tarım sektöründe üreticilerin karşılaştığı iki temel maliyet sorunu vardır. Bunlardan bir tanesi işgücü ücretleri diğeri ise girdi fiyatlarıdır. İşgücü maliyetlerinin minimize edilmesi açısından üretici sosyal güvence istemeyen ve düşük ücrete razı olan işgücünü rasyonel olarak

tercih etmektedir. Kırsal alanda karşılaşılan bu sorun yerel işgücünde düşük ücrete razı olmayan özellikle genç nüfusun kırdan kente göç etmelerine neden olmaktadır. Uzun vadede yaşanan olumsuzlukların azaltılması açısından işgücü maliyetlerine yönelik olarak destek sağlanması, kayıt dışılığın önlenmesine yönelik sistematik çalışmaların belirlenmesi; yerel işgücünü koruma altına alırken; göçmen işgücünün de ücretlerini, çalışma koşullarını iyileştirecek ve dolaylı yollardan göçmenlerinde yaşam standartlarını yükseltecektir.

Göç sonucu oluşan sosyal ve ekonomik değişiklikler ve kırsal alanın içinde olduğu dönüşüm yeni oluşturulacak politikalar ile düzenlenmelidir. Kayıt dışı istihdamın giderilmesi, yoksulluk sınırının ve işgücü piyasalarının düzenlenmesi, göçmen işçilerin çalışma koşullarının iyileştirilmesi, bilgi düzeyinin artırılması ve göçmen işçilerin güvence altına alınmasına yönelik politik düzenlemeler yapılmalıdır. Kırsal alanlarda yeni yatırım alanlarının oluşturulması, tarımda istihdam imkânı sağlayan üreticilere yönelik hibe ve destek programlarının artırılması, girişimcilik faaliyetlerine verilen destek oranlarının artırılması, maliyetlerin düşürülmesine yönelik politikalar uygulanması kırsal alandan kente göçlerin önüne geçecek, hem yerel işgücüne hem de göçmen işgücüne yeni istihdam alanlarının yaratılmasını sağlayacaktır.

Göçmen işgücünün nitelik ve kalitesini arttıracak eğitimler düzenlenmesi uzun vadede tarım sektörünün kalitesinin arttırılmasına, tarım sektöründe yoksulluk sınırının yükselmesine, işgücü piyasalarının yeniden düzenlenmesine olanak sağlayacaktır. Bu gelişmeler sosyal ve ekonomik açıdan Türkiye'yi kalkındıracak ve uluslararası arenada rekabet gücüne katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2017a. <http://www.cagdasses.com/emek/60831/gocmen-iscilerin-tarimsal-uretimde-calismasi-toplumsal-degisim-yaratabilir>, Erişim Tarihi: 27 Ağustos 2017.
- Anonim, 2017b. <http://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.6360.pdf>, Erişim Tarihi: 15 Eylül 2017.
- Arslan H, 2016. Mevsimlik Gezici Tarım İşçiliği Kırsal Yoksulluk Perspektifinden Anlamak. *International Journal of Social Sciences and Education Research*, Sayı 2 (4), Sayfa 1406-14020.
- Bozdemir M, Gülçubuk B, Bayramoğlu Z, 2019. Tarımda Göçmen-Mülteci İstihdamı ve Kırsalda Emek Temelli Çatışma Örüntüleri. *International Science and Academic Congress*, Cilt 2, Sayfa 309-317, 19-20 Nisan 2019, Konya.
- Dedeoğlu S, 2016. Türkiye’de Mevsimlik Tarımsal Üretimde Yabancı Göçmen İşçiler Mevcut Durum Raporu, Yoksulluk Nöbetinden Yoksulluk Rekabetine. Mevsimlik Tarım Göçü Programı, ISBN: 978-975-98363-7-5, Ankara.
- Deniz O, 2011. 1990 Sonrasında Türkiye’ye Yönelen Sığınma Hareketleri ve Etkileri. Türkiye Coğrafyası Araştırma ve Uygulama Merkezi (TÜCAUM) VI. Ulusal Coğrafya Sempozyumu Bildiriler Kitabı. Ankara.
- Fidan F, Fidicioğlu A, 2010. Türkiye’den Almanya’ya Göç Sürecinde Geride Kalan Kadınlar: Alamanyalı Beylerin Fedakâr Eşleri. *Yardım ve Dayanışma Dergisi*, Cilt 1, Sayı 1, Sayfa 29-39.
- Franz E, 1994. *Population Policy in Turkey, Family Planning and Migration between 1960 and 1992*, Hamburg, Deutsches Orient-Institut.
- Gelekcı, C, 2015. 1960 Sonrası Dönemde Türkiye’de Nüfus Yapısı ve Bazı Temel Özellikleri Üzerine Tespitler. *Sosyoloji Konferansı*, No:52, Sayfa 587-607.
- Gönüllü M, 1996. Dış Göç, Pamukkale Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi, Sayı 1.
- Gülçubuk B, Bayaner A, 2010. Kırsal Yoksulluğun Azaltılmasında ve Küçük İşletmeciliğin Yaşatılmasında Kooperatifçiliğin Rolü. 10. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi, Tarım, Yoksulluk ve Kalkınma, Sayfa 995-1000, 5-7 Eylül 2012, Konya.
- Gülçubuk B, Şengül H, Aluftekin, N., Kızılaslan, N. Kılıç, M., 2017. Tarımda İstihdam Sosyal Güvenlik Uygulamaları ve Kırsal Yoksulluk. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/8cac9d33aad44bb_ek.pdf?tipi=14&sube= , Erişim Tarihi: 13 Eylül 2017.
- Kalkınma Atölyesi, 2017. <http://www.kalkinmaatolyesi.org/v2/wp-content/uploads/2016/06/infografik.pdf>, Erişim Tarihi: 20 Ağustos 2017.
- Keleş R, 1998. *Kent Terimleri Sözlüğü*. İmge Yayınları, Ankara.
- Olhan E, 2011. Türkiye’de Kırsal İstihdamın Yapısı. Birleşmiş Milletler Ortak Programı Herkes İçin İnsana Yakışır İş: Ulusal Gençlik İstihdam Programı ve Antalya Pilot Bölge Uygulaması.
- Ren LJ, Cui EQ, Sun HY, 2014. Temporal and Spatial Variations in the Relationship between Urbanization and Water Quality. *Environmental Science and Pollution Research*, Sayı 21, Sayfa 13646-13655.
- Şahin İ, Düzgün O, 2016. Türkiye’ye Gerçekleştirilen Ortadoğu Kaynaklı Zorunlu Göçlerin Sosyo-Ekonomik Etkileri: 1974-2014 Arası. *Tesam Akademik Dergisi*, Sayı 2 (2), Sayfa 167-195.
- Tarım Sektörü Raporu, 2017. T.C. Çalışma ve Sosyal Güvelik Bakanlığı, http://www.uis.gov.tr/media/1316/tarim_sektoru_ikinci_idk.pdf, Erişim Tarihi: 10 Ağustos 2017.
- Taş Y, Özcan S, 2013. Türkiye’de İç Göçün Yoksulluğa ve İstihdama Etkileri. *International Conference on Eurasian Economies, Session 1B: Büyüme ve Gelişme*, Sayfa 289-298, Petersburg, Russia.

- Toksöz G, Erdoğan S, Kaşka S, 2012. Türkiye'ye Düzensiz Emek Göçü ve Göçmenlerin İşgücü Piyasasındaki Durumları. Uluslararası Göç Örgütü (IOM) Yayını, Türkiye Ofisi.
- Türkiye Cumhuriyeti İçişleri Bakanlığı Göç İdaresi Genel Müdürlüğü, 2015. Göç Raporu, Yayın No: 32, Ankara.
- Türkiye Cumhuriyeti İçişleri Bakanlığı Göç İdaresi Genel Müdürlüğü, 2016a. Göç Raporu, Yayın No: 34, Ankara.
- Türkiye Cumhuriyeti İçişleri Bakanlığı Göç İdaresi Genel Müdürlüğü, 2016b. Göç Raporu, Yayın No: 35, Ankara.
- Türkiye Cumhuriyeti İçişleri Bakanlığı Göç İdaresi Genel Müdürlüğü, 2017. Göç Raporu, Yayın No: 40, Ankara.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2017. <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=kategorist>, Erişim Tarihi: 20 Ağustos 2017.

Gıda Kodekslerinin Tarım ve Gıda Ürünleri Dış Ticareti Bakımından İncelenmesi

Sinan DURU^{1*}, Aykut GÜL², Seyit HAYRAN²

ÖZET: Gıda insanlığın yaşamanın sürdürmesi için enerji sağlayan ve tüketimi zorunlu bir maddedir. 1994 yılında Dünya Ticaret Örgütü'nün (WTO) kurulmasıyla tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde tarife engellerinin azaltılması, teknik ve düzenleyici engellerin artırılması kararı alınmış ve gıda kodeks standartlarının önemi artmıştır. Gıda kodekslerinin zorunlu hale getirilmesi ve bilimsel geçerliliğe dayalı olarak güncellenmesi ihracat gelirlerinin büyük bir kısmı tarım ve gıda ürünleri olan az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeleri olumsuz yönde etkilemiş, gelişmiş ülkelerin payını artırmıştır. Bu çalışmada gıda kodekslerinin dünyada ve ülkemizde gelişimi, WTO'nun kurulmasıyla uygulanmaya başlanan Sağlık ve Bitki Sağlığı (SPS) ve Ticarete Teknik Engeller (TBT) Anlaşmalarının uluslararası tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde etkileri incelenmiş ve bu gelişmeler ışığında Türkiye'nin tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde rekabet gücünün ve payını artması için öneriler getirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Dış ticaret, Dünya Ticaret Örgütü, gıda kodeksi, Türkiye

Evaluation of Food Codex in Terms of Agriculture and Food Products Foreign Trade

ABSTRACT: Food is compulsory material that provides energy for the maintenance of human life. With the establishment World Trade Organization in 1994, the decision to reduce tariff barriers, increase technical and regulatory barriers in foreign trade of agricultural and food products was taken and the importance of food codex standards increased. The necessity of making food codexs and updating based on scientific validity a large part of the export revenues was agricultural and food products negative affect to underdeveloped and developing countries, increased share of developed countries. In this study the development of food codex in the world and Turkey has been revealed and the effects of The WTO Agreement on the Application of Sanitary and Photosanitary Measures (SPS) and The Agreement on Technical Barriers to Trade (TBT) which were initiated by the establishment of the WTO have been investigated and these developments have been proposed as solutions to increase the competitive power and share of Turkey's agricultural and food product foreign trade.

Key Words: Foreign Trade, World Trade Organization, Food Codex, Republic of Turkey

¹ Sinan DURU (Orcid ID: 0000-0003-1126-5752), T.C. Ticaret Bakanlığı, Güney Anadolu Bölge Müdürlüğü, Mersin

² Aykut GÜL (Orcid ID: 0000-0002-8708-8433), Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Adana

² Seyit HAYRAN (Orcid ID: 0000-0002-0223-8034), Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Adana

*Sorumlu Yazar: Sinan DURU, e-mail: s.duru85@hotmail.com

GİRİŞ

Kodeks, köken olarak latince ve tıp literatüründe geçen bir kelime olup Türk Dil Kurumu Büyük Türkçe Sözlüğünde “tedavi edici etkisi kesin olarak kabul edilen ilaçların özellikleriyle ilgili resmi kuruluş tarafından onaylı başvuru kaynağı olarak” geçmektedir (Anonim, 2018a). Codex Alimentarius ise gıda kanunu veya gıda kodu anlamına gelmekte olup, tüketiciler ve üreticiler tarafından gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan bir kelimedir (Randell and Whitehead, 1997).

Gıda kodeksleri, merkezi Roma’da bulunan Birleşmiş Milletlere bağlı kuruluşlar olan Dünya Gıda Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Teşkilatı’nın (WHO) 1963 yılında ortaklaşa oluşturdukları Gıda Kodeks Komisyonu (Codex Alimentarius Comission) tarafından düzenlenmektedir. Gıda Kodeks Komisyonunun kurulması, FAO’nun 1961 yılındaki on birinci toplantısı ile WHO’nun 1963 yılındaki on altıncı toplantısında kararlaştırılmıştır (Ravi, 2008). Komisyon, gıda kodekslerini Dünya Ticaret Örgütü (WTO) kuralları altında tarım ve gıda ürünlerinin uluslararası ticarete küresel güvenlik standartlarını sağlamak ve tüketici sağlığını korumak amacıyla belirlemektedir (Millstone and Zwanenberg, 2002).

Gıda kodekslerinin hazırlanmasında yetkili olan CAC (Codex Alimentarius Commission), yatay, dikey ve bölgesel olmak üzere 20 ayrı komiteden oluşmaktadır. Dikey komiteler süt ve süt ürünleri, işlenmiş sebze ve meyve, hububat gibi ürünler için standartlar oluştururken, yatay komiteler ise etiketleme, hijyen, pestisit kalıntıları, gıda katkı ve bozulmaları, kodeks genel prensipleri için çözüm yolları oluşturmaktadır (Lupien, 2000). Komite toplantıları bilimsel ve uzman kişilerin teknik odaklı bilgilerine dayalı öneriler doğrultusunda çalışmaktadır (George, 2018). Komiteler dışında JMPR (Pestisit Kalıntısı Uzmanlar), JECFA (Gıda Katkı Maddeleri Uzmanlar Kurulu),

JEMRA (Mikrobiyolojik Risk Değerlendirilmesi Uzmanlar Kurulu) ve JEMNU (Özel Beslenme Amaçlı Gıdalar Uzmanlar Kurulu) olmak üzere 4 ayrı uzmanlar kurulu bulunmaktadır (Anonim, 2018b).

Gıda kodekslerinin hazırlanması normal şartlarda 8 adımda veya komisyonun 2/3 oy çokluğu kararına göre hızlandırılmış şekliyle 5 aşamadan oluşmaktadır. Taslak metinlerin hükümetlere veya uluslararası kuruluşlara gönderilmesi için en az 2 adımın oluşması gerekmekte olup, bu aşamadan sonra kurum veya üye ülkelerin görevlendirdiği uzmanlar çözüm önerilerinin tartışılması amacıyla toplanmaktadır (Slorach, 2006). Beşinci basamakta komisyonun ara görünüşü alınıp son basamakta komisyon onaylayarak standart son halini almaktadır (Anonim, 2018b).

Gıda Kodeksi Komisyonu’na bir başkan ve 3 başkan yardımcısı 3 yıllık dönem için seçilmekte olup, komisyon ve yardımcı organların desteklenmesi için 6 profesyonel ve 7 destek personeli bulunmaktadır (Ravi, 2008). Türkiye’nin de kurucu üye olduğu ve 45 ülkenin kuruluşunda yer aldığı komisyona günümüzde 187 ülke ve organizasyon olarak Avrupa Birliği (AB) üyedir. Üye ülkeler belirlenen standartları uygulama ve denetimi sağlamakta yükümlüdür. Ayrıca 219 adet gözlemci bulunmakta olup, bunların 56’sı uluslararası hükümet sivil toplum üyesi, 147’si uluslararası sivil toplum üyesi ve 16’sı Birleşmiş Milletler temsilcisidir (Anonymous, 2018).

Konu ile ilgili daha önceki çalışmalarda küreselleşmeyle birlikte önemi artan gıda kodekslerini oluşturan Codex Alimentarius’un tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde artan önemi (Livermore, 2006), uluslararası ticarete uygulanan gıda kalite ve güvenliğini standartlarında Codex Alimentarius’un rolü (Randell and Whitehead, 1997), Codex Alimentarius Commission’un gıda standartlarını hazırlamasında temel bilimleri, kılavuzları ve tavsiyeleri almasında ne derece etkili olduğu

(Lupien, 2000) ve WTO'nun kurulmasıyla uluslararası tarımsal ticarete oluşturulan önlemlerin önemi ve yapısından (Disdier et al., 2006) bahsedilmiştir.

Bu çalışmada gıda kodekslerinin tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde tarihsel gelişimi, WTO'nun kurulmasıyla oluşturulan Sağlık ve Bitki Sağlığı (SPS) ve Ticarete Teknik Engeller (TBT) Anlaşmalarıyla gıda kodekslerinin gönüllü uygulamadan zorunlu uygulanmasına ne şekilde geçildiğinden bahsedilmeye çalışılmış, gıda kodekslerinin ülkemizde gelişimi ve mevcut mevzuat düzenlemeleri üzerinde durulmuş ve çözüm önerileri getirilmiştir.

MATERYAL VE METOD

Çalışmanın ana materyalini tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde uygulanan gıda kodeksleri ile ilgili ulusal ve uluslararası kurum, kuruluş, uzman veya araştırmacılar tarafından hazırlanan araştırma, rapor, tez ve makaleler oluşturmuştur. Taranan kaynakların gıda kodekslerinin tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde WTO'nun kurulmasıyla zorunlu olarak uygulanmaya başlandığı 1994 yılından sonra olmasına özen gösterilmiş olup, özellikle 1994 yılında WTO'nun kurulmasıyla nihai halini alan Sağlık ve Bitki Sağlığı (SPS) ve Ticarete Teknik Engeller (TBT) anlaşmaları üzerine durulmuştur. Ayrıca çalışmayı desteklemek amacıyla 1993-2017 yılları arasındaki WTO'nun uluslararası tarım ve gıda ürünleri ihracatına ilişkin istatistiki verilerden yararlanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Gıda Kodekslerinin Dünya Tarım ve Gıda Ürünleri Dış Ticaretinde Düzenlemeleri

Gıda kodekslerin temel amacı tüketicileri korumak ve gıda ticaretinde adil pratiklik sağlamaktır (Livermore, 2006). Gıda kodeks standartları, GLOBAL G.A.P. ve BRC gibi özel zorunlu standartlar ile adil ticaretin temelini oluşturmaktadır (Klingbeil and Todd, 2018). CAC, tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde

düşük kaliteli ve güvenilir olmayan ürünlerin konu olmaması amacıyla standartların gönüllü kullanımını teşvik etmek için "Uluslararası Gıda Ticareti Etik Kanunu'nu (Code for International Trade in Food)" oluşturmuştur (Önen, 2008). Kodeks standartları gıdaların güvenliği ve kalitesinin sağlanması amacıyla gıda endüstrisi, gıda teknolojileri, üniversiteler, tüketiciler ve diğer gruplar için temel bilgi kaynağı olarak kullanılmaktadır (Ireland and Moller, 2000). Bu bilgi kaynaklarının kullanılmasıyla ve yeni bilimsel verilerin ortaya çıkmasıyla gıda standartları düzenli olarak gözden geçirilmektedir (MacLean et. al., 2010).

Günümüzde tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde tarife engellerin azaltılması, teknik ve düzenleyici engellerin artırılması tartışılmaktadır (Otsuki et. al., 2001). Bu amaçla 1994 yılında GATT'ın WTO'ya dönüştürülmesiyle yürürlüğe giren "The WTO Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures (SPS) (Sağlık ve Bitki Sağlığı)" ile "The Agreement on Technical Barriers to Trade (TBT) (Ticarete Teknik Engeller)" Anlaşmaları kodeks standartlarının hazırlanmasında referans oluşturmuştur (Anonim, 2018b). Her iki anlaşma ticarete görünmez engeller olarak adlandırılan ürünün şekil, tasarım, fonksiyon, performans, içerik gibi tarife dışı özelliklerini içermektedir (Alagöz ve Ceylan, 2015). Bu anlaşmalar ile kurulduğunda gönüllü olarak uygulanan gıda standartlarını oluşturan CAC, SPS Anlaşması standartlarının bilimsel geçerliliğe dayalı olması, risk değerlendirme kararı gibi daha fazla sorumluluk vermesiyle gıda standartların uyumlu hale getirilmesi gereken üç uluslararası kuruluşun biri haline gelmiştir (Ewers, 2000; Winickoff and Bushey, 2010).

Tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde risk faktörlerinin belirsizliği ve tüketici tercihlerinin farklılığı nedeniyle farklı risk belirleme kriterleri ortaya çıkmıştır. Bu risk kriterlerinde uygulama birliği sağlanması amacıyla WTO, WHO ve CAC bilimsel verileri esas almaya başlamıştır

(Mert, 2002). Risk kriterlerinin belirlenmesinde risk analizi yöntemi uygulanmakta olup risk değerlendirme, risk yönetimi ve risk iletişimi olmak üzere 3'e ayrılmaktadır (Karunasagar, 2015). İnsan sağlığı açısından sadece modern tarımsal üretimin insan sağlığı için oluşturacağı doğrudan riskleri tahmin etmeyi değil, aynı zamanda doğrudan olmayan ve beklenmeyen riskleri de belirtmeyi amaçlamaktadır. Özellikle genetiği değiştirilmiş gıdalarda bu risk daha ön plana çıkmaktadır (Haslberger, 2003).

Kodeks standartları üye ülkeler için doğrudan düzenleyici etkisi olmamasına rağmen WTO tarafından uluslararası gıda ticaretinde otorite olarak varsayılmaktadır (Somogyi et. al., 2011). Ülkeler tarafından hazırlanan dış ticaret standartları dışında ülke içi tüketimde geçerli olan gıda standartları kodeks standartları baz alınarak oluşturulmaktadır. Kodeks standartlarının bir amacı da uluslararası ticareti kolaylaştırmak amacıyla yerel standartların tekdüze hale getirilmesine yardımcı olmaktır (Livermore, 2006). Hazırlanacak standartlar açık, şeffaf, tarafsız, fikir birliğine dayalı, etkili, uygun ve akıcı, gelişme boyutuna sahip olmalıdır (Gültekin, 2010).

TBT Anlaşması ilk kez 1979 yılında Tokyo Round görüşmelerinde oluşturulmuş olup son halini 1994 yılında Uruguay Round görüşmelerinde almıştır. TBT Anlaşması temelinde etiket uygulamaları ve diğer ticari kısıtlamaların uygulamasına rehberlik edecek ilkeleri oluşturur (Wilson, 2017). TBT Anlaşması teknik düzenlemeler, standart ve uygunluk değerlendirme prosedürü olmak üzere üç teknik engellemeden oluşmaktadır (Kim, 2014). TBT Anlaşması büyük ölçüde ürün özelliklerini belirten yönetmelikler de dahil olmak üzere "teknik düzenlemeler" disiplinini içermektedir (Hamlyn, 2017). TBT Anlaşması, standartlar, test ve sertifikasyon düzenlemelerdeki ihtiyaç olmayan prosedürleri en az seviyeye indirmiştir (Yue et al., 2005). Bu prosedürler yasal zorunluluk içermekte olup net bir şekilde

açıklanmamasıyla dış ticarete korumacı amacıyla kullanımını kolaylık sağlamaktadır (Alagöz ve Ceylan, 2015).

SPS Anlaşması, Codex Alimentarius Komisyonu (CAC), Uluslararası Salgın Hayvan Hastalıkları Ofisi (OIE) ve Uluslararası Bitki Koruma Konvansiyonu Sekretaryası (IPPC) tarafından oluşturulmuş olup, kendi yetki alanları dahilinde kabul edilen düzenlemelere uymaktadır (Stewart et al., 2011). Bu üç kuruluş insan sağlığı için üç kardeş olarak adlandırılmaktadır (WHO, 2018). SPS Anlaşmasıyla gıda katkıları ve toksinler resmi olarak kabul edilerek literatüre tanımlanmıştır (Sims, 2015). Bu tanımlamalar ile SPS Anlaşması parazit, bakteri, virüs, prion, ağır metaller ve pestisit kalıntıları ile hayvansal ilaçların tehlikelerini kontrol altına almayı amaçlayarak önemli bir görev üstlenilmeye çalışılmış ancak ticareti engellemesi nedeniyle üst düzey tartışmaları alevlendirilmiştir (Zahrnt, 2009). SPS Anlaşması ticaret için standart olmasının yanı sıra doğal çevre ve biyoçeşitliliği koruyarak biyogüvenliğin geniş çaplı uygulanması için zemin hazırlamaktadır (Black, 2017).

SPS Anlaşması ile standart, denetim ve sertifikasyon işlemleri bütün ülkelerde tekdüze hale getirilmesi zorunlu hale getirilmiştir (Randell and Whitehead, 1997). Standartlar, SPS Anlaşmasına göre tekdüze hale getirilirken uluslararası standartlarla uyumlu halde olması, eşdeğerliğin tanınması, tedbirlerin bölgeselleştirmesi ve şeffaflık baz alınmaktadır (Beckman et al., 2017). Tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde denetim ve sertifikasyon sistemlerinin geliştirilmesi CAC tarafından ilk kez 1991 yılında ele alınmıştır (Anonymous, 2012). İthalat ve ihracat işlemleri kodeks kurallarıyla uyumu 1997 yılında başlamış olup, denetim ve belgelendirme işlemlerine dair prosedürler 2010 yılında son kez revize edilmiştir (Halabi and Fu Lin, 2017).

Çizelge 1. Dünya Tarım ve Gıda Ürünleri İhracat Değerleri (Milyon Dolar)

Ülkeler	1993	1994	1995	2005	2015	2017
AB	224.427	314.629	397.207	691.791	1.084.812	1.203.587
ABD	108.708	117.411	139.329	144.800	296.084	307.099
Çin	21.793	26.985	27.296	53.347	134.806	141.488
A.G.Ü	2.657	3.759	5.891	12.698	42.215	49.087
Türkiye	7.213	8.224	8.767	15.806	33.743	32.645
Diğerleri	384.177	387.147	435.489	610.232	1.318.584	1.477.157
Toplam	748.975	858.155	1.013.979	1.528.674	2.910.244	3.211.063

Kaynak: Dünya Ticaret Örgütü

Dünya tarım ve gıda ürünleri ihracatının 1993-2017 dönemindeki değişimi incelendiğinde 5 kata yakın artış göstermiştir. Türkiye’de bu dönemde tarım ve gıda ürünleri ihracatı 4.5 kat artış gözlenirken, toplam payı %1 civarındadır. Az gelişmiş ülkelerin ise bu dönemde toplam ihracatı 18 kat artış göstermiş, dönem sonunda toplam payı ise %1,5’un üzerine çıkmıştır. Bu artışa karşın değer olarak en büyük artış Avrupa Birliği’nde gerçekleşmiş olup, toplam payı %30’dan %55’e yükselmiştir (Tablo 1). Bunun en büyük nedenleri Avrupa Birliği’nin dönem başında 12 olan üye sayısının dönem sonunda 28’e yükselmesi ve dünyanın en büyük tarım ve gıda ürünleri ihracatçılarından biri olan Hollanda’nın re-export (ithal ürünün doğrudan ihraç edilmesi, yeniden ihracat) yöntemiyle Asya ve ABD’den ithal edilen ürünü Avrupa ülkelerine ihraç etmesinden dolayıdır (Anonim, 2018c). Ayrıca SPS ve TBT anlaşmalarının uluslararası tarım ve gıda ürünleri ticaretinde zorunlu uygulanmaya başlanması bu artışın nedenlerinden biridir.

Kodeks standartları, özellikle iyi üretim uygulamaları, denetim, ithalat ve ihracat kontrolleri ile misyonun diğer yönlerinin uygulanmasında, özellikle yoksul ülkelerin standartlara uyması için gerekli kaynaklara sahip olmaması nedeniyle pahalıdır (Halabi, 2015). Tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde oluşan veya oluşabilecek bazı risklere karşı gelişmiş ülkelerin veya Avrupa Birliği gibi bazı kuruluşların kurallarında CAC’dan önce önlem

alması WTO’nun SPS Anlaşmasına aykırı hareket ettiği tartışmalarını meydana getirmiştir (Karaman ve Acar, 2006). Gelişmekte olan ülkelerin tarım ve gıda ürünleri ihracatının ağırlıklı olarak gelişmiş ülkeler olması ancak bu ülkelerde yapılan ihracatlarda SPS Anlaşmasına uygun standartlara uyum maliyetinin yüksek olması nedeniyle düşük maliyetli üretim avantajlarına karşın rekabet gücünü azaltmıştır (Dong and Helen, 2007). Ayrıca iç piyasada SPS ve TBT Anlaşmalarının öneminin artması ülkenin tarım ve gıda ithalatını azaltmakta hatta bazı yabancı tedarikçilerin piyasadan çıkmasına neden olmaktadır (Yang et al., 2018).

Türkiye’de Gıda Kodeksi Gelişimi ve Tarım ve Gıda Ürünleri Dış Ticaretinde Düzenlemeleri

Ülkemizde kodekse ilişkin ilk kanun 1926 yılındaki 767 Sayılı “Türk Kodeksi Hakkında Kanun”dur. Bu kanun ilaç kullanımıyla ilgili olup, ilk gıda kanunları 1928 yılındaki “Hayvanların Sağlık Zabıtası Hakkında Kanun” ve 1930 yılındaki 1593 sayılı “Umumi Hıfzısıhha Kanunu” olmuştur. Daha sonrasında 1942 yılında “Gıda Nizamnamesi”, 1952 yılında “Gıda Maddeleri Tüzüğü” yürürlüğe girmiştir (Cufaoğlu ve ark., 2015). Ülkemizin 1963 yılında kurulan Gıda Kodeksi Komisyonuna (Codex Alimentarius Comission) taraf olmasıyla ilk kez 13 Şubat 1964 yılında yürürlüğe giren “Türk Milli Gıda Kodeksi Yönetmeliği” 1982 yılında “ Tarım ve Orman Bakanlığı Türk Milli Gıda Kodeks Komitesi Yönetmeliği” adını

almış, daha sonrasında 1994 yılında “Ulusal Gıda Kodeks Komitesi Yönetmeliği” adını almıştır.

WTO'nun 1994 yılında kurulmasıyla oluşturulan SPS ve TBT Anlaşmaları ile 1995 yılında Gümrük Birliği'ne üyelik kapsamında 1995 yılında 560 sayılı Kanun Hükmünde Kararname (KHK) ile yürürlüğe giren “Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararname” ile gıda kodeksinin hazırlanacağı belirtilmiş olup 7. maddeye dayanarak 16 Kasım 1997 tarihinde “Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği” ile Gıda Mevzuatı ve Ulusal Kodeks oluşturulmuştur. Bu yasanın hazırlanmasında FAO, WHO, Kodeks Alimentarius Komisyonu, ABD Gıda ve İlaç Dairesi ile Avrupa Birliği'nin tavsiye kararları baz alınarak hazırlanmıştır (Anonim, 2003).

Gıda kodekslerine ilişkin mevzuatlar Tarım ve Orman Bakanlığı'na yürütülmektedir. Kişi başına düşen milli gelirin artışı tüketici tercihlerini değiştirmiş gıda güvenirliliği ve kodekslerinin önemi artmasıyla mevzuatta birçok değişiklik yaşanmaktadır (Anonim, 2014). Ülkemizde 90 yıllık süreçte birçok mevzuat yayınlanmış olup şu anda gıda kodeksine ilişkin geçerli 97 adet mevzuat bulunmaktadır. Bu mevzuatların 15 tanesi yönetmelik, 1 tanesi hazırlama yönetmeliği, 1 tanesi ışınlama yönetmeliği ve 80 tanesi ise tebliğlerden oluşmaktadır (Anonim, 2018b).

Ürün standartları Kodeks Alimentarius içindeki özel standartlar olup etiketleme, numune alma, gıda katkıları, mikrobiyal, hijyen konularında, kısaca gıdanın üretiminden tüketime kadar yapılan işlemler için standartlar içermektedir. Bu standartların ülkemizde uyumlu hale getirilmesi Türk Standartlar Enstitüsü tarafından hazırlanan standartlar olup gıda ürünleri ihracat ve ithalat denetimlerinde yetkili olan Ticaret Bakanlığı ile Tarım ve Orman Bakanlığı'na standartların uygulanmasında yetkili oldukları ilgili bölümlerde uygulanmaktadır. İhracat ve ithalat

kontrollerinde WTO'nun kurulmasıyla oluşturulan SPS Anlaşması gereklilikleri (analiz için numune alma, pestisit, kalıntı vb.) Tarım ve Orman Bakanlığı, TBT Anlaşması gereklilikleri (etiket, ürünlerin standartlara uygunluğu gibi Ticari Kalite Denetimleri) ise Ticaret Bakanlığınca yürütülmektedir.

Ülkemizde tarım ve gıda ürünleri ihracatında alıcı olan ithalatçı ülke veya firmanın herhangi bir talebi bulunmuyorsa Tarım ve Orman Bakanlığı'na gıda kodekslerine uygunluğu “Türk Gıda Kodeksi” hükümlerine göre tespit edilmekte, numune alınması aşamasında gereken ürünlerde numune alınmakta ve denetim sonucunda gıda güvenirliliğine uygunluğunu gösteren sağlık sertifikası düzenlenmektedir (Anonim, 2011). TBT Anlaşması kapsamında yaş meyve sebze, bitkisel yağ, yumurta, bal, kuru ve kurutulmuş ürünler gibi bazı ürünlerde Ticaret Bakanlığı tarafından standartlara uygun olduğunu belirlemek amacıyla Ticari Kalite Denetimi yapılmakta ve İhracatta Uygunluk Belgesi düzenlenmektedir (Anonim, 2018d). Ayrıca Ticaret Bakanlığı 1705 Sayılı Ticarete Tağışın Men'i ve İhracatın Murakamesi ve Korunması Hakkında Kanun kapsamında bal, bitkisel yağ ve meyve suyunda standartlara uygunluğunu denetlemek ve tağış olup olmadığını tespit etmek için numune alınmakta ve analiz edilmektedir.

Türkiye, AB gibi uluslararası tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde pestisitler için kullanılan Maksimum Kalıntı Limiti (MRL) uluslararası kodeks standartlarına göre daha katı ve sıkıdır (Beghin, 2014). TÜİK verilerine göre ülkemizin 2017 yılındaki tarım ve gıda ürünleri ihracatı 16.4 milyar dolar olarak gerçekleşmiş olup bu ihracatın 5 milyar doları Avrupa Birliği'ne gerçekleşmiştir (Anonim, 2017). Bu değer daha yüksek olabilmesi için SPS ve TBT Anlaşmalarının tamamıyla benimsenerek ülkemizin kodeks uygulamalarını sıkı şekilde uygulaması gereklidir.

SONUÇ

WTO kuruluna kadar gıda kodekslerinin tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde uygulanması ülkelerin Codex Alimentarius'a üye olduğu için değil pazar rekabetinde dezavantajlı konuma düşmemesi için gönüllü olarak uygulanmaktaydı. 1994 yılında WTO'nun kurulmasıyla imzalanan SPS ve TBT Anlaşmalarıyla gıda kodeksleri tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde zorunlu hale gelmiştir. Bu anlaşmaların zorunlu hale gelmesi CAC hazırladığı kodeks standartların bilimsel geçerliliğe dayanmasına katkı sağlamış, yıllık hacmi 3 trilyon doları bulan tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinin yanı sıra yurt içinde kullanılmasıyla tüketici sağlığının korunmasında da önemli bir kriter olmuştur.

Ülkemizde pazar rekabetinde avantaj sağlaması için kodeksler baz alınarak oluşturulan standartlara uyumun denetimi yetkili kurum ve kuruluşlarca daha etkin olmalıdır. Ancak bu denetimler dış ticareti engelleyici olmaktan uzak ve etkin bir şekilde yürütülmelidir. Ayrıca mevzuata uymayan kişi ve kuruluşlara uygulanacak yaptırımların daha caydırıcı olması ülkemizi tarım ve gıda ürünleri dış ticaretinde rekabet gücüne olumlu katkı sağlayacaktır.

Tarım ve gıda ürünleri üretiminde risklerin artmasıyla standartların önemi artmakta ve koşullara göre güncellenmektedir. 1994 yılında WTO'nun kurulması ile SPS ve TBT Anlaşmasının standartlarının uygulama zorunluluğunun getirilmesi gıda kodekslerinin ve standartların önemini artırmıştır. TBT Anlaşması tüm sektörlerde uygulanmasına karşın, SPS Anlaşmasının tarım ve gıda ürünleri sektöründe uygulanması ve gıda güvenliği ile ilgili olması gıda güvenliği kavramını ortaya çıkarmıştır. Gıda Güvenliği ile ilgili HACCP, Global G.A.P, gıda katkıları ve pestisit ile ilgili düzenlemeler bu anlaşmaların yürürlüğe girmesiyle oluşturulmuştur. Gıda kodekslerinin bilimsel geçerlilik ile standartların güncellenmesi dış ticaret gelirinin büyük bölümü uluslararası tarım

ve gıda ürünleri ihracatı olan az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeleri olumsuz etkilemiştir. SPS ve TBT anlaşmaları yürürlüğe girdikten sonraki dönemde gelişmiş ülkelerin tarım ve gıda ürünleri ihracat payını daha fazla artırmış olup uluslararası ticaret bu ülkelerin lehine kaymıştır. Bu süreçte Türkiye'nin toplam payı ise %1'in altında kalmıştır. Bu payın artması için ülkemizin kodeks standartlarını güncellemesinde görev alan Ulusal Gıda Kodeks Komisyonunun hızlı karar almada daha etkin hale gelmesi için yasal düzenlemelerin yapılması olumlu katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Alagöz M, Ceylan O, 2015. Dünya Ticaretinde Tarife Dışı Engeller: 2008 Krizi Sonrası Yaşanan Gelişmeler. Selçuk Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Sosyal Ekonomik Araştırmalar Dergisi, 15(30): 59-85.
- Anonim, 2003. Ulusal Gıda ve Beslenme Stratejisi Çalışma Grubu Raporu. Devlet Planlama Teşkilatı İktisadi Sektörler ve Koordinasyon Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Anonim, 2011. Bitkisel Gıda ve Yemin İhracatında Sağlık Sertifikası Düzenlenmesi ve İhracattan Geri Dönen Ürünler İçin Uygulama Yönetmeliği. TC Resmi Gazete, Ankara.
- Anonim, 2014. 10.Kalkınma Planı Gıda Ürünleri ve Güvenirliği Özel İhtisas Komisyon Raporu. Kalkınma Bakanlığı, 102s. Ankara.
- Anonim, 2017. <https://biruni.tuik.gov.tr/disticaretapp/menu.zul>. Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara. (Erişim Tarihi: 03.09.2018)
- Anonim, 2018a. Güncel Türkçe Sözlük . Türk Dil Kurumu, Ankara.
- Anonim, 2018b. https://www.tarim.gov.tr/GKGM/Belgeler/Mevzuat/TGK_Mevzuat_Listesi. (Erişim Tarihi: 18.07.2018).
- Anonim, 2018c. Hollanda Ülke Raporu (Yaş Meyve Sebze Sektörü Açısından). Uludağ İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği Arge Şubesi. 32s. Bursa.

- Anonim, 2018d. Bazı Tarım Ürünlerinin İhracatında ve İthalatında Ticari Kalite Denetimi Tebliğ (Ürün Güvenliği ve Denetimi: 2018/21). Ekonomi Bakanlığı, 6s. Ankara.
- Anonymous, 2012. Food Import and Export Inspection and Certification Systems. World Health Organization. Codex Alimentarius Commission, 112 p., Rome-Italy.
- Anonymous, 2018. Codex Standards in the WHO South-East Asia Region. World Health Organization, 58p., Rome-Italy.
- Anonymous.2019.https://www.wto.org/english/res_e/statis_e/statis_bis_e.htm?solution=WTO&path=/Dashboards/MAPS&file=Map.wcdf&bookmarkState={%22impl%22:%22client%22,%22params%22:{%22langParam%22:%22en%22}}. (Date of access:02 February 2019).
- Beckman J, Dyck J, Heerman KER, 2017. The Global Landscape of Agricultural Trade, 1995-2014. United States Department of Agriculture Economic Research Service Economic Information Bulletin Number 181, 104p., Washington-USA.
- Beghin JC, 2014. The Protectionism of Food Safety Standards in International Agricultural Trade. Agricultural Policy Review, 1(5): 7-9.
- Black R, 2017. Reflections on Biosecurity Legislation in Developing Countries: Increasing Market Access or Maintaining Unequal Terms of Trade. 13 February 2017, Institute of Advanced Legal Studies. London-England. (Submitted)
- Cufaoğlu G, Doğru AK, Ayaz ND, 2015. Türk Gıda Mevzuatında Risk Analizi. Etlik Vet Mikrobiyal Dergisi, 26(1): 23-28.
- Disdier AC, Fontagne L, Mimouni M, 2006. The Impact of Regulations on Agricultural Trade: Evidence from SPS and TBT Agreements. American Journal of Agricultural Economics, 90(2): 336-350.
- Dong F, Jensen HH, 2007. Challenges for China's Agricultural Exports: Compliance with Sanitary and Phytosanitary Measures. Choicesmagazine, 22(1):19-24.
- Ewers J, 2000. Dueling Risk Assessments: Why the WTO and Codex Threaten U.S. Food Standards. The National Agricultural Law Center. University of Arkansas System Division of Agriculture, Vol 30: 387-412.
- George A, 2018. Antimicrobial Resistance, Trade, Food Safety and Security. One Health, 5(2018): 6-8.
- Gültekin S, 2010. Tarımsal Ticarete Teknik Engeller, Sağlık, Bitki Sağlığı Önlemleri ve Standartlar. Girişimcilik ve Kalkınma Dergisi, 5(2):31-44.
- Halabi SF, 2015. The Codex Alimentarius Commission, Corporate Influence, and International Trade: A Perspective on FDA's Global Role. 41 Am. J.L. & Med, 41: 406-421.
- Halabi SF, Lin CF, 2017. Assessing the Relative Influence and Efficacy of Public and Private Food Safety Regulation Regimes: Comparing Codex and Global GAP Standards 72 Food & Drug L.J.262.
- Hamlyn OA, 2017. Beyond Rhetoric: Closing the Gap Between Policy and Practice in the EU's Regulation of Risky Technologies. University College London, PhD Thesis (Printed).
- Haslberger AG, 2003. Codex Guidelines for GM Foods Include the Analysis of Unintended Effects. Nature Biotechnology. 21(7): 739-741.
- Ireland JD, Moller A, 2000. Review of International Food Classification and Description. Journal of Food Composition and Analysis, 13(2000): 529-538.
- Karaman S, Acar B, 2006. Uluslararası Gıda Ürünleri Ticareti ve Aflatoksin Yasal Düzenlemeleri. Doğu Üniversitesi Dergisi, 7(2): 190-197.
- Karunasagar I, 2015. International Risk Assessment Leading to Development of Food Safety Standards. Procedia Food Science, 6(2016): 34-36.
- Kim M, 2014. A Legal Analysis of "Standard" in the WTO Agreement on Technical Barriers to Trade. Seoul National University, Phd Thesis (Printed).
- Klingbeil DF, Todd EWC, 2018. A Review on the Rising Prevalence of International Standards: Threats or Opportunities for the Agri-Food Produce Sector in Developing Countries, with a Focus on Examples from the MENA Region. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 7(3): 33.

- Livermore MA, 2006. Authority and Legitimacy in Global Governance: Deliberation, Institutional Differentiation, and The Codex Alimentarius. *New York University Law Review*, 81(2): 766-801.
- Lupien JR, 2000. The Codex Alimentarius Commission: International Science – Based Standards, Guidelines and Recommendations. *AgBioForum*, 3(4): 192-196.
- MacLean WC, Van Dael P, Clemens R, Davies J, Underwood E, O’Risky L, Rooney D, Schrijver J, 2010. Upper Levels of Nutrients in Infant Formulas: Comparison of Analytical Data with the Revised Codex infant Formula Standard. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(2010): 44-53.
- Mert İ, 2002. Küreselleşme ve Su Ürünlerinde Kalite Kontrol. *Sumae Yunus Araştırma Bülteni*, 2(1): 6-8.
- Millstone E, Zwanenberg PV, 2002. The Evolution of Food Safety Policy – Making Institutions in the UK, EU and Codex Alimentarius. *Social Policy & Administration*, 36(6): 593-609.
- Otsuki T, Wilson JS, Sewadeh M, 2001. Saving two in a billion: quantifying the trade effect of European food safety standards on African Export. *Food Policy*, 26(2001): 495-514.
- Önen E, 2008. DTÖ Yükümlükleri Kapsamında Türkiye ile Avrupa Birliği Arasındaki Tarım Ürünleri Ticareti ve Bu Ticarete Önem Arz Eden Tarife Dışı Engeller. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Dış İlişkiler ve Avrupa Birliği Kooordinasyon Dairesi Başkanlığı. AB Uzmanlık Tezi 159 s., Ankara.
- Randell AW, Whitehead AJ, 1997. Codex Alimentarius: Food Quality and Safety Standards for International Trade. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16(2): 313-321.
- Ravi AP, 2008. Why Would International Administrative Activity Be Any Less Legitimate. A Study of the Codex Alimentarius Commission, 9 GER. L.J. 1693, 1703 (2008)
- Sims AK, 2015. Obesity Prevention: Assessing the Role of State and Non-State Actors under International Law. *Chicago Journal of International Law*, 16(1): 215-248.
- Slorach SA, 2006. Assuring Food Safety: The Complementary Tasks and Standards of the World Organisation for Animal Health and the Codex Alimentarius Commission, *Rev. sci. Off. int. Epiz.*, 25(2): 813-821.
- Somogyi A, Hathcock J, Biesalski HK, Blumberg JB, Antoine JM, Edwards G, Prock P, 2011. Scientific Issues Related to Codex Alimentarius Goals: A Review of Principles, with Examples. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 60(2011): 161-164.
- Stewart RB, Badin MRS, 2011. The World Trade Organization: Multiple Dimension of Global Administrative Law. *International Journal of Constitutional Law*, 9(3-4): 556-586.
- Yang Q, Honda K, Otsuki T, 2018. Structure Demand Estimation of the Response to Food Safety Regulations in the Japanese Poultry Market. *OSIPP Discussion Paper, DP-2018-003*. 35p.
- Yue C, Beghin JC, Jensen HH, 2005. Tariff Equivalent of Technical Barriers to Trade with Imperfect Substitution and Trade Costs. *American Journal of Agricultural Economics*, 88(4): 947-960.
- Wilson Nobert LW, 2017. Labels, Food Safety, and International Trade. *Asian Development Bank Institute (ADBI) Working Paper Series, No:657, 13p.*, Tokyo-Japan.
- Winickoff DE, Bushey DM, 2010. Science and Power in Global Food Regulation: The Rise of the Codex Alimentarius. *Science, Technology & Human Values*, 35(3): 356-381.
- Zahrnt V, 2011. Transparency of Complex Regulation: How Should WTO Trade Policy Reviews Deal with Sanitary and Phytosanitary Policies? *World Trade Review*, 10(2): 217-247.

Kükürt Uygulamalarına Bağlı Olarak Hıyar Bitkisinin (*Cucumis Sativus L.*) Antioksidant Enzim Aktivitesindeki Değişimler

Adem GÜNEŞ^{1*}

Osman SÖNMEZ¹

ÖZET: Ülkemiz topraklarının yüksek pH ve kireç içeriği, ya da yanlış gübreleme nedeniyle bazı bitki besin elementlerinin elverişliliği düşmekte ve stres koşulları oluşmaktadır. Ülkemizde örtü altı sebze yetiştiriciliğinde üretim ve ekiliş alanı bakımından önemli yer tutan hıyar (*Cucumis sativus L.*) bitkisinde kalite ve verim açısından olumsuz toprak koşulları ve bitki besin element elverişliliği büyük önem arz etmektedir. Olumsuz koşullara bağlı olarak oluşan oksijen radikallerinin olumsuz etkilerini gidermek için bitkide savunma mekanizmasının geliştirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, yüksek pH düzeyine sahip toprakta yetiştirilen hıyar bitkisine (*Cucumis sativus L.*) kontrol ve 5 farklı dozda elementel toz kükürt (0, 20, 40, 80, 120 ve 200 kg da⁻¹) uygulanmış ve deneme 4 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. 4 kg'lık saksılarda kükürt uygulaması yapılarak karıştırılmış ve topraklar 3 aylık inkübasyon periyoduna bırakılmıştır. İnkübasyon periyodu sonucunda fide dikimi yapılmıştır. 2. hasat döneminden sonra, antioksidan enzim analizi için yaprak örnekleri alınmış ve antioksidant enzim analizleri yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda elementel toz kükürt uygulamasının optimum olarak 80-100 kg da⁻¹ dozunda, bitki antioksidant enzim içeriğini artırdığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cucumis sativus*, kükürt, antioksidant enzim

The Changes of Antioxidant Enzyme Activity of Cucumber Plant (*Cucumis Sativus L.*) Depending on Sulfur Application

ABSTRACT: Due to the high pH and lime content of our country, or due to the wrong fertilization, the availability of some plant nutrients decreases and stress conditions occur. In our country cucumber (*Cucumis sativus L.*) plant, which is important in terms of production and cultivation area, the soil conditions and plant nutrient availability are of great importance in terms of quality and yield. In order to eliminate the negative effects of oxygen radicals due to adverse conditions, the defense mechanism must be developed in the plant. For the purpose of cucumber plant grown in soil with high pH six elemental sulphur doses (0, 20, 40, 80, 120 and 200 kg da⁻¹) were applied. Sulphur doses were applied to pots filled with 4 kg soil and soils were exposed to 3-month incubation period. Seedlings were planted after the incubation period. At the end of the 2. harvest, sample were taken for antioxidant enzyme activity analysis, the leaves of the plants were removed and taken to the laboratory. Results revealed that in particular, sulfur applications have been shown to promote enzyme activity in plants up to a certain dozen. As a result of this study, it was determined that the optimum antioxidant activity of the plant would increase with sulfur application in the 80-100 kg da⁻¹ S application doses.

Keywords: Cucumber, Sulfur, antioxidant enzyme

¹Adem GÜNEŞ (Orcid ID: 0000-0003-0411-6134), Osman SÖNMEZ (Orcid ID: 0000-0002-9134-6466), Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Kayseri, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Adem GÜNEŞ, e-mail: adem_gunes25@hotmail.com

Bu çalışma 25-27 Nisan 2018 tarihinde Şanlıurfa'da düzenlenen "1. Uluslararası Gap Tarım ve Hayvancılık Kongresinde" sözlü özet bildiri olarak sunulmuştur.

Geliş tarihi / Received: 17.10.2018
Kabul tarihi / Accepted: 29.01.2019

GİRİŞ

Bitkiler olumsuz toprak koşullarına karşı strese maruz kaldığında, reaktif oksijen türlerinin üretimi ile antioksidan enzimlerin aktivitesi arasındaki denge bozulur ve genellikle oksidatif hasar meydana gelir. Bu sitotoksik aktif oksijen türleri, lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin oksidatif hasarı yoluyla normal metabolizmayı ciddi biçimde bozabilmektedir (Greenway ve Munns, 1980; McCord, 2000; Baysal ve ark., 2010). Ancak bitkilerdeki antioksidant miktarının artması, oksidatif strese olan toleransı artırmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda, katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), peroksidaz (POD) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidatif enzimlerin aktiviteleri ile stress koşullarına karşı dayanıklılık arasında önemli korelasyonlar bulunmuştur (Mittova ve ark., 2002, 2003).

Sıcaklık, kuraklık ve tuzluluk gibi stress şartlarına bağlı olarak artan oksidatif stress koşulları altında üretilen reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerini ve zarar düzeylerini azaltmak için bitkiler antioksidant enzimler üretmektedir. Bu antioksidant enzimler ROS sonucu oluşturulan H_2O_2 gibi bileşenlerin H_2O 'ya dönüşmesini sağlayarak, bitkilerin direncini artırmaktadırlar. Yapılan çalışmalarda stress koşullarına karşı toleranslı çeşitlerde duyarlı olanlara göre daha yüksek antioksidant enzim aktivitesi bildirilmiştir (Sudhakar ve ark., 2001; Demiral ve Türkan, 2004).

Kükürt, bitkide bir çok enzimin ve antioksidan molekülün önemli parçasıdır. Bitki enzimatik antioksidanları (SOD, POD, CAT, APX ve GR) ve karotenoidler ve tokoferoller gibi enzimatik olmayan antioksidanlar (Gill and Tuteja, 2010), bitkide savunma sistemini artırmaktadır. Kükürt ise, ROS'a karşı en önemli hücre içi savunma metabolitlerinden biri olan glutathiyonun (GSH) temel bileşenlerinden biridir (Kopriva ve Koprivova, 2005; Ohkama-Ohtsu ve Wasaki, 2010). Bazı kükürt bileşikleri,

reaktif oksijen türlerine karşı savunma hattı oluşturmaktadır (Rezk ve ark., 2004). Oksidatif stress kaynaklı verim kayıpları, kükürt uygulamasının etkisi ile minimize edilebilmektedir (Manna ve ark., 2013). S, kök hücreler tarafından alındıktan sonra, bitkinin ilgili organlarına taşınmaktadır (Nazar ve ark., 2011; Kopriva ve ark., 2015).

Toprak verimliliği, toprak pH'sı ile yakından ilgilidir, çünkü bitkilerin büyümesini etkilemektedir. Sulama, ilaçlama ve bilinçsiz gübre kullanımı gibi tarımsal faaliyetlere bağlı olarak yetiştirme ortamının pH'sında değişimler meydana gelebilmektedir. Ortam pH'sının uygun seviyesini korumak, bitkilerin optimal büyüme seviyesini göstermek için son derece önemlidir (Dewayne, 2014; Affandi ve ark., 2018).

Ülkemizde, seracılık sebze yetiştiriciliğinde ekim alanı ve üretim miktarı bakımında, hıyar ikinci sırada gelmektedir. Hıyar bitkisi farklı özelliklere sahip topraklarda yetişebilse de, nötr pH ve hümik asitce zengin toprakları tercih etmektedir. Hıyar bitkisi topraktaki ekstrem koşullara karşı hassas olup, optimum verim için, toprak besin maddelerinin, özellikle K ve N'un yeteri miktarda bulunması ve besin element dengesinin optimum düzeyde olması gerekmektedir. Bitkide besin element dengesinin korunabilmesi için toprakta yeterli miktarda S'nin diğer bitki besinleriyle birlikte uygulanması çok önemlidir (Scherer, 2001). Topraktaki S miktarı, ürün miktarı ve kalitesi açısından oldukça önemlidir (Jez, 2008). S bitkide, protein ve klorofil oluşumuna katkıda bulunmakta, glutatyon gibi sistein içeren peptitlerin veya çok sayıda ikincil metabolitin bir bileşeni olmakta ve kök büyümesini artırmaktadır. Ayrıca S, bitkide biyokimyasal süreçlerde etkin rol oynayarak, vitamin ve enzimlerin oluşumunda rol oynar (Kacar ve Katkat, 2007; Scherer ve ark., 2008; Abdallah ve ark., 2010; Motior ve ark., 2011).

Yapılan önceki çalışmalarda, farklı stress koşullarında bitkilerin antioksidant enzim miktarları incelenmiştir. Ancak yüksek pH gibi olumsuz toprak koşullarında ıslah amacıyla uygulanan kükürt uygulamasına bağlı olarak bitkilerdeki antioksidant enzim aktivitesinde meydana gelen değişim üzerine çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışma, farklı dozlarda kükürt uygulamasının hıyar bitkisinin antioksidant enzim aktivitesi üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada orta derecede alkalın pH'ya sahip toprakların özelliklerinin bitkisel üretim açısından, optimum seviyelere getirilmesi amacıyla, tam şansa bağlı deneme desenine göre sera şartlarında yürütülmüştür. Bu amaçla hızlı gelişmesi, yüksek verimli ve sürekli hasat periyoduna sahip olması nedeniyle olumsuz toprak koşullarından çabuk etkilenebileceği düşünülen Vista F1 çeşidi hıyar bitkisine (*Cucumis sativus* L.) kontrol ve 5 farklı dozda elementel toz kükürt (0, 20, 40, 80, 120 ve 200 kg da⁻¹) uygulanmış ve deneme 4 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. 4 kg'lık saksılarda kükürt uygulaması yapılarak karıştırılmış ve topraklar 3 aylık inkübasyon periyoduna bırakılmıştır. İnkübasyon periyodu sonucunda fide dikimi yapılmıştır. Vejetasyon periyodu boyunca rutin bakım ve sulama işlemleri yapılmıştır. 2. hasat döneminden sonra, antioksidan enzim analizi için yaprak örnekleri alınmış ve antioksidant enzim analizleri yapılmıştır.

Bitkilerde Antioksidant Enzim (Peroksidaz, Katalaz, Süperoksit Dismutaz) Ekstraksiyonu

Enzimlerin ekstraksiyonu için, taze bitki yapraklarından 0,5 g alınarak havan içine konulup üzerine sıvı azot ilave edilerek toz haline gelinceye kadar öğütülmüştür. Sonra üzerine 5 ml soğuk homojenat tamponu (%1

PVP ve 1 mM EDTA ihtiva eden 0,1 M KH₂PO₄ pH: 7,0) ilave edilmiş ve karışım bir santrifüj tüpüne aktarılarak 15000xg ve +4°C'de 15 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatant antioksidan enzimlerin aktivite ölçümleri için kaynak olarak kullanılmıştır (Angelini ve Federico, 1989; Angelini ve ark., 1990).

Bitkilerde Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi

Reaksiyonda azalan H₂O₂ miktarını belirlemede kullanılacak olan H₂O₂ standart grafiği önceden hazırlanmıştır (Havir ve Mchale, 1987). Bunun için 5 mM H₂O₂ çözeltisinden 3 ml'lik spektrofotometre tüpüne konulmuştur. Tüpün hacmi saf su ile 1.5 ml'ye tamamlanıp her tüpe 1.475 ml, 103 mM KH₂PO₄ ve 30 µl su ilave edilmiştir. Küvet spektrofotometreye yerleştirildikten sonra 240 nm'de okunmak suretiyle standart grafik elde edilmiştir. 25°C'de, 1 dakika içinde, absorbansı 1 µM azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilip sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU g⁻¹ yaprak) olarak hesaplanmıştır (Gong ve ark., 2001).

Bitkilerde Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz (POD) aktivite tayini için spektrofotometre küvetine; 100 ml 0.1 M, NaH₂PO₄ (pH 5.5) ve 5 mM guaikol içeren substrat çözeltisinden 3 ml konulduktan sonra, üzerine 10 µl enzim ekstraktı ilave edilmiştir. 470 nm'de 5 dakika boyunca absorbans artışı 1 dakika aralıklarla kaydedilip absorbansın doğrusal olarak arttığı kısımdaki absorbans artışı 1 dakikaya oranlanmıştır. 25°C'de 1 dakikada, absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilip sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU g⁻¹ yaprak) olarak ifade edilmiştir (Angelini ve ark., 1990; Yee ve ark., 2002).

Bitkilerde Süperoksid dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi, nitro blue tetrazoliumun (NBT) fotokimyasal indirgenmesinin inhibisyonunu, spektrofotometrik olarak belirleme esasına dayanır. Bu yöntemde ölçüm için 3 ml spektrofotometre küvetine reaksiyon karışımından 2.84 ml alınıp ve üzerine 100 µl enzim ekstraktı pipetlenmiştir. Reaksiyon, tüp üzerine 2 µM'lık riboflavin çözeltisinden 60 µl pipetlenip karıştırıldıktan hemen sonra, beyaz bir ışık kaynağı önüne yerleştirmek suretiyle başlatılmıştır. Tüp, ışık kaynağının karşısında 15 dk tutularak, NBT'nin renk açılma yoğunluğu 560 nm'de köre karşı okunmuştur. Daha sonra enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilip değerler EU g⁻¹ yaprak olarak hesaplanmıştır (Agarwal ve Pandey, 2004; Yordanova ve ark., 2004).

İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler, SPSS programında ANOVA Duncan çoklu karşılaştırma testi ile istatistiksel açıdan değerlendirilmiş ve p<0.05 önemli düzey olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Farklı dozlarda uygulanan kükürt'ün hıyar bitkisinin antioksidant enzim içeriği üzerine olan etkisi incelendiğinde, kükürt uygulama dozuna bağlı olarak, bitki antioksidant enzim içeriğindeki değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05).

Kükürt dozlarının CAT enzim aktivitesi üzerine olan etkisi incelendiğinde, en yüksek CAT enzim aktivitesi 80 kg da⁻¹ kükürt uygulamasından elde edilmiştir (Şekil 1). Bu uygulama dozundan sonra, bitki CAT enzim aktivitesi düşük değerler göstermiştir. En yüksek S uygulama dozunda (200 kg da⁻¹) ise CAT enzim aktivitesi 52 EU g⁻¹ yaprak olarak ölçülmüştür. 80 kg da⁻¹ S uygulama dozunda CAT enzim aktivitesi (82 EU g⁻¹ yaprak)

kontrole göre %30 oranında artış göstermiştir (Şekil 1). 200 kg da⁻¹ S uygulama dozunda ise CAT enzim aktivitesi kontrole göre %17 oranında azalmıştır.

Farklı dozlarda S uygulamasına bağlı olarak, bitki POD enzim aktivitesi değerlendirildiğinde, en yüksek POD enzim aktivitesi 200 kg da⁻¹ kükürt uygulamasından elde edilmiştir (Şekil 2). Artan S uygulama dozlarına bağlı olarak bitki POD enzim aktivitesi varyasyonlar göstermiş olup, kontrole göre sürekli artış göstermiştir. 200 kg da⁻¹ S uygulama dozunda POD enzim aktivitesi (1474 EU g⁻¹ yaprak) kontrole göre %26 oranında artış göstermiştir (Şekil 2). En yüksek CAT enzim aktivitesinin elde edildiği 80 kg da⁻¹ S uygulama dozunda ise POD enzim aktivitesi %24 oranında artış elde edilmiştir.

Bitki SOD enzim aktivitesi üzerine S uygulaması farklı düzeylerde etki etmiş olup, artan S uygulama dozuna bağlı olarak SOD enzim aktivitesi kontrole göre artış göstermiştir (Şekil 3). En yüksek SOD enzim aktivitesi 120 kg da⁻¹ S uygulamasından elde edilmişti. Bu uygulama dozundan sonra, bitki SOD enzim aktivitesi düşmeye başlamıştır. En yüksek S uygulama dozunda (200 kg da⁻¹) ise SOD enzim aktivitesi 324 EU g⁻¹ yaprak olarak ölçülmüştür. 120 kg da⁻¹ S uygulama dozunda SOD enzim aktivitesi (386 EU g⁻¹ yaprak) kontrole göre %66 oranında artış göstermiştir (Şekil 3). 200 kg da⁻¹ S uygulama dozunda ise SOD enzim aktivitesi kontrole göre %40 oranında daha yüksek değer olarak ölçülmüştür.

Son çalışmalar, kükürtün bitkilerin uygun büyümesi, metabolik aktiviteleri ve gelişimi için önemli olduğunu göstermiştir. Kükürt, sistein ve metiyonin gibi amino asitlerin ve ayrıca birçok metabolitin amino asidinin önemli bir bileşeni olduğu için bitkilerin ihtiyaç duyduğu en temel makro besinlerden biridir (Leustek ve Saito, 1999). Kükürt, birçok enzimin önemli bir parçasıdır. Kükürt içeren bazı bileşikler

reaktiflere karşı bitkide etkili bir savunma sistemi oluşturabilmektedir (Rezk ve ark., 2004).

Shoja ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada, kükürt uygulamasına bağlı olarak enzim aktivitesinin artış gösterdiğini belirlemiştir. Özellikle kükürt, bor ve çinko uygulamasının super oksid dismutaz enzim aktivitesini artırdığı ve kolza bitkisinin verim ve verim bileşenlerinin artmasına yardımcı olduğu belirlenmiştir. Bybordi ve Mamedov (2010) yaptıkları çalışmada benzer sonuç elde etmiş ve kükürt uygulamasının SOD enzim aktivitesini kontrole göre artırdığını belirlemiştir. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant bileşikler kükürt noksanlığına bağlı olarak farklı düzeylerde oluşmuş ve yetersiz kükürt beslenmesi durumunda düzensiz antioksidant enzim aktivitesinin meydana geldiği yapılan bazı çalışmalarda ortaya konulmuş ve bu çalışma ile benzer sonuçlar göstermiştir (Chandra ve Pandey, 2014).

Diğer yapılan benzer çalışmalarda kükürt uygulamalarına bağlı olarak, çeşitli stress koşullarında üretilen serbest oksijen radikallerinin miktarlarında azalma ve bitki antioksidant enzim aktivitesinde ise artış meydana geldiği belirtilmiştir (Khan ve ark., 2014; Giordano ve Raven, 2014; Harsco, 2015). Astolfi ve Zuchi, (2013), Anjum ve ark. (2012), Zenda ve ark. (2017) gibi araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda, S uygulaması ile bitkide POD ve SOD enzim aktivitesinin stress koşullarında artış gösterdiği, organik bileşikler ile S bağlarının oluşarak bitkide dayanıklılığın arttığı, S uygulanmayan bitkilere göre S uygulamasının CAT, POD, SOD gibi enzim aktivitesini artırdığı belirtilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, literatür çalışmalarında elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermiştir.

SONUÇ

Kükürt, bitki gelişimi ve bir çok biyokimyasal olaylarda önemli bir bitki besin

elementidir. Özellikle çeşitli stres koşullarına maruz kalan bitkilerde, ortaya çıkan ROS türlerinin zararlı etkisini ortadan kaldırmak ve bitkinin tolerans derecesini artırmak için S uygulamaları önem arz etmektedir. Bu nedenle bu çalışma sonuçlarına göre, bitkilerde S uygulamasına bağlı olarak CAT, POD ve SOD gibi enzim aktivitesi artış göstermiştir. Özellikle toprak analiz sonuçlarına göre 80-100 kg da⁻¹ S uygulamasının, bitkide optimum enzim aktivitesini artıracak şekilde belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Agarwal S, Pandey V, 2004. Antioxidant enzyme response to NaCl stress in *Cassia angustifolia* *Biologia Plantarum*, 48(4): 555-560.
- Abdallah M, Dubousset L, Meuriot F, Etienne P, Avice JC, Ourry A, 2010. Effect of mineral sulphur availability on nitrogen and sulphur uptake and remobilization during the vegetative growth of *Brassica napus* L. *Journal of Experimental Botany*, 61(10): 2335-2346
- Affandi FL, Rusli SH, Suhaini AM, Baharulrazi N, 2018. Effect of pH on Growth Rate and Yield of *Cucumis sativus*. *The Italian Association of Chemical Engineering*. 63:133-138.
- Angelini R, Federico R, 1989. Histochemical evidence of polyamin oxidation and generation of hydrogen peroxide in the cell wall. *Journal of Plant Physiology*, 135: 212-217.
- Angelini R, Manes F, Federico R, 1990. Spatial and functional correlation between daimine-oxidase and peroxidase activities and their dependence upon deetilation and wounding in chick-pea. *Planta*, 182: 89-96.
- Anjum NA, Gill SS, Umar S, Ahmad I, Duarte AC, Pereira E, 2012. Improving Growth and Productivity of Oleiferous brassicas Under Changing Environment: Significance of Nitrogen and Sulphur Nutrition, and Underlying Mechanisms. *The Scientific World Journal Volume 2012*. Article ID 657808, pp:12.

- Astolfi S, Zuchi S, 2013. Adequate sulfur supply protects barley plants from adverse effects of salinity stress by increasing thiol contents. *Acta Physiologiae Plantarum* 35(1): 175-181.
- Baysal GF, Tipirdamaz R, 2010. Physiological and antioxidant response of three cultivars of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salinity. *Turkish Journal of Biology*, 34: 287-296.
- Bybordi A, Mamedov G, 2010. Evaluation of application methods efficiency of zinc and iron for canola (*Brassica napus* L.). *Notulae Scientia Biologicae*, 2(1): 94-103.
- Cahandra N, Pandey N, 2014. Influence of Sulfur Induced Stress on Oxidative Status and Antioxidative Machinery in Leaves of *Allium cepa* L. *Hindawi Publishing Corporation International Scholarly Research Notices Volume 2014*, Article ID 568081.
- Demiral T, Türkan I, 2004. Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? *Journal of Plant Physiology*, 161: 1089-1100.
- Dewayne LI, 2014, Understanding soilless media test results and their implications on nursery and greenhouse crop management. *Agriculture and Natural Resources Publications*, 161, University of Kentucky, USA.
- Gill SS, Tuteja N, 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.
- Giordano M, Raven JA, 2014. Nitrogen and Sulfur assimilation in plants and algae. *Aquatic Botany* 118: 45-61.
- Gong Y, Toivonen PMA, Lau OL, Wiersma PA, 2001. Antioxidant system level in 'Braeburn' apple in related to its browning disorder. *Botany Bulletin in Academy*, 42: 259-264.
- Greenway H, Munns R, 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annuals Review Plant Physiology*, 31: 149-190.
- Harsco, 2015. 'Sustainable Management of Greens and Tees Under Abiotic Stress', cross over from soil to plant, *Product Information Bulletin*, Florida, USA. Available online at (Accessed 26 April 2017).
- Havir EA, Mchale NA, 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 84: 1291-1294.
- Jez J, 2008. Sulfur: A missing link between soils, crops, and nutrition. *Agron. Monogr.* 50. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.
- Kacar B, Katkat AV, 2007. *Plant Nutrition*. 3rd edn. Nobel Press; Ankara, Turkey
- Khan NA, Khan MIR, Asgher M, Fatma M, Masood A, Syeed S, 2014. Salinity tolerance in plants: Revisiting the role of sulfur metabolites. *Journal of Plant Biochemistry and Physiology* 2: 120.
- Kopriva S, Calderwood A, Weckopp SC, Koprivova A, 2015. Plant sulphur and Big Data. *Plant Science* 241: 1-10.
- Kopriva S, Koprivova A, 2005. Sulphate assimilation and glutathione synthesis in C4 plants. *Photosynthesis Research* 86(3): 363-372.
- Manna P, Das J, Sil PC, 2013. Role of sulfur containing amino acids as an adjuvant therapy in the prevention of diabetes and its associated complications. *Current Diabetes Reviews*, 9: 237-248.
- McCord JM, 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine*, 108: 652-659.
- Mittova V, Guy M, Tal M, 2002. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt dependent oxidative stress: increased activities of antioxidant enzymes in root plastids. *Free Radicals Research*, 36: 195- 202.

- Mittova V, Tal M, Volokita M, 2003. Up-regulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Plant Cell Environment*, 26: 845-856.
- Motior MR, Abdou AS, Fareed HD, Khaled AT, Awad MA, Golam F, Azirun MS, 2011. Influence of elemental sulfur on nutrient uptake, yield and quality of cucumber grown in sandy calcareous soil. *Australian Journal of Crop Science*, 5(12): 1610-1615.
- Nazar R, Iqbal N, Syeed S, Khan NA, 2011. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulphur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *Journal of Plant Physiology*, 168: 807-815
- Ohkama-Ohtsu N, Wasaki J, 2010. Recent Progress in Plant Nutrition, Research: Cross-Talk Between Nutrients, Plant Physiology and Soil Microorganisms. *Plant and Cell Physiology* 51(8): 1255-1264.
- Rezk BM, Haenen GR, van der Vijgh WJ, Bast A, 2004. Lipoic acid protects efficiently only against a specific form of peroxynitrite-induced damage. *Journal of Biology and Chemistry*, 279: 9693-9697.
- Scherer HW, 2001. Sulphur in crop production—Invited paper. *European Journal of Agronomy*. 14: 81-111.
- Scherer HW, Pacyna S, Spoth KR, Schulz M, 2008. Low levels of ferredoxin, ATP, and leghemoglobin contribute to limited N₂ fixation of peas (*Pisum sativum* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.) under S deficiency conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 44: 909-916
- Shoja T, Majidian M, Rabiee M, 2018. Effects of zinc, boron and sulfur on grain yield, activity of some antioxidant enzymes and fatty acid composition of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Acta Agriculturae Slovenica*, 111: 73-84.
- Sudhakar C, Lakshmi A, Giridarakumar S, 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 161: 613-619.
- Yee Y, Tam NFY, Wong YS, Lu CY, 2002. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguira gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany*, 1-13.
- Yordanova RY, Christov KN, Popova LP, 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 51: 93-101.
- Zenda T, LiuS, Yao D, LiuY, Duan H, 2017. Effects of sulphur and chlorine on photosynthetic parameters, antioxidant enzyme activities and yield in fresh corn grown under field conditions. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 11(6): 32-45.

Akkeçilerde İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I'in (IGF-I) Laktasyon Dönemindeki Değişimi

Naciye Melis TERZİ¹

Erkan PEHLİVAN¹

Gürsel DELLAL^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Hayvancılık İşletmesinde yetiştirilen 6 baş 2 yaşlı ve 5 baş 3 yaşlı olmak üzere toplam 11 baş dişi Akkeçide laktasyon döneminde IGF-I'in değişimi incelenmiştir. Çalışmada, IGF-I konsantrasyonlarını belirlemek için laktasyon dönemi boyunca keçilerin boyun toplardamarından her iki haftada bir düzenli olarak kan örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri 4000 devir/dak'da 5 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve serumlar -20 °C'de laboratuvar analizleri gerçekleştirilene kadar muhafaza edilmiştir. Kan serumunda IGF-I analizleri enzim immunoassay (EIA) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın gerçekleştirildiği döneme ait meteorolojik veriler Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden temin edilmiş ve bu değerlerden sıcaklık-nem indeksi (SNİ) hesaplanmıştır. Araştırmada, IGF-I konsantrasyonları bakımından dönemler ve yaş grupları arasındaki farklılıklar, tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniği ile değerlendirilmiştir. İstatistik analiz sonucunda, sadece incelenen dönemler arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli (P<0.01) bulunmuştur. Sonuç olarak, Akkeçilerde laktasyon döneminde, IGF-I konsantrasyonlarının fotoperiyot değişimlerinden önemli düzeyde etkilendiği ve gün uzunluğundaki artışa bağlı olarak IGF-I salınımının arttığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akkeçi, IGF-I, laktasyon, fotoperiyot, sıcaklık, SNİ.

Change of Insulin-Like Growth Factor-1 in Lactation Period in White Goats

ABSTRACT: In this study, change of IGF-I in lactation period was investigated on 11 heads female white goat (6 heads 2 aged and 5 heads 3 aged) raised at the farm of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ankara University, Turkey. To determine IGF-I concentrations, the blood samples were regularly taken from jugular vein of goats in every two weeks during lactation period. The blood samples were centrifuged at 4000xg for 5 min. and serum was stored at -20 °C until analysis time. IGF-I analysis in the blood serum were performed by enzyme immunoassay (EIA) method. Climatic values of the experimental period were obtained from the local meteorological service and the temperature-humidity index (THI) was calculated. In the study, the observed IGF-I concentrations with respect to periods and age groups was analyzed by the repeated measures of ANOVA analysis. Significant differences (P<0.01) were found among the periods for IGF-I concentrations. In conclusion IGF-I concentrations were significantly influenced by photoperiod changes and IGF-I releases were depend on increased length of day during lactation period in White goats.

Keywords: White goat, IGF-I, lactation, photoperiod, temperature, THI.

¹ Naciye Melis TERZİ (Orcid ID: 0000-0003-0516-0014), Erkan PEHLİVAN (Orcid ID: 0000-0003-2505-1456), Gürsel DELLAL (Orcid ID: 0000-0002-8129-982X), Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Ankara, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Gürsel DELLAL, e-mail: gdellal@agri.ankara.edu.tr

* Bu çalışma Naciye Melis TERZİ'nin Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makale yer alan hayvan deneyi için "Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun Tarih: 27.10.2015 Toplantı No 2015-18, Dosya No: 2015-145 ve Karar No:2015-18-196 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

Geliş tarihi / Received: 11.10.2018
Kabul tarihi / Accepted: 29.01.2019

GİRİŞ

Memeli çiftlik hayvanları, bir yıllık yaşam döngüsü içerisinde farklı fizyolojik dönemler (çiftleşme, gebelik, laktasyon) geçirmekteler ve bu dönemlerde esas olarak organizma üzerinde etkili olan hormonların seviyelerinde önemli değişimler meydana gelmektedir. Ortaya çıkan bu hormonal değişimler, hayvanların yaşamlarını devam ettirmeleri yanında üretim performanslarının ortaya çıkmasında da büyük önem taşımaktadır (Noyan, 1988; Yılmaz, 1999). Son yıllarda çiftlik hayvanlarında farklı fizyolojik dönemlerde ve dolayısıyla süt, et ve lif üretimi gibi verim performansları üzerinde büyüme faktörlerinin de çok önemli düzeylerde etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Büyüme faktörleri içerisinde etkisi en çok araştırılan faktörler İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF) I ve II olmuştur. IGF-I, GH'ya bağımlı olarak, bu hormonun anabolik ve mitojenik etkilerinin birçoğuna aracılık etmektedir. IGF-I, normal büyüme ve gelişimde, doku onarımı ve düzenlenmesinde, DNA sentezinde ve dokuların çeşitliliğinde önemli görevler üstlenir. IGF-I, vücutta hemen hemen her organın büyümesi ve fonksiyonunda görev almaktadır (Rasouli ve ark., 2017). IGF-I, hücre düzeyindeki bu biyolojik etkileri nedeniyle hayvan organizmasında üreme, büyüme, laktasyon, lif üretimi gibi ekonomik öneme sahip birçok fizyolojik süreçte de önemli rol oynamaktadır (McGuire ve ark., 1992). IGF-I'in en belirgin fizyolojik etkisi ise doğum sonrası vücut büyümesini uyarmasıdır (Hadsell ve ark., 2002). Bu şekilde, ergin döneme kadar olan büyümeye önemli bir katkı sağlanmaktadır. Ergin dönemde ise organ ve dokuların yapısallığının korunmasında etkili olmaktadır (Baştürk, 2007). IGF-I'in diğer bir önemli etkisi ise, meme büyümesi, gelişmesi ve laktasyon dönemi üzerinde görülmektedir. Nitekim Prosser (1996); IGF-I'in, memede hücre çoğalmasıyla birlikte süt veriminde artışa neden olduğunu ve bu

etkinin gerçekleşmesinin kan dolaşımından meme bezine geçen IGF-I miktarına bağlılık gösterdiğini saptamıştır. IGF-I'in aynı zamanda yavrunun doğum öncesi ve sonrası dönemdeki mide bağırsak sisteminin gelişiminde de önemli rol oynadığını bildirmiştir. Moyes ve ark., (2003) ise; doğum sonrası kan plazma IGF-I düzeylerinin laktasyonun başında süt üretimini ve ovaryum'da dominant folikül gelişimini olumlu yönde etkilediğini belirlemişlerdir. Memeli çiftlik hayvanlarında yapılan çalışmalarda; IGF-I'in kan düzeylerinin çevresel faktörlerden etkilendiği de ortaya konmuştur (Sarko ve ark., 1994). Nitekim, Spicer ve ark., (1994), damızlık çağına gelmemiş düvelerde artan gün ışığına bağlı olarak IGF-I seviyesinin arttığını bildirmiştir. Dahl ve ark., (1997), IGF-I'in keçiler ve kemirgenler üzerindeki galaktopoetik etkisinin, uzayan günlerde daha belirgin olduğunu ve süt ineklerinde ise, uzayan günlerde plazma IGF-I oranındaki artışa bağlı olarak laktasyon sırasında memeye taşınan IGF-I oranının artış gösterdiğini saptamışlardır. Moyes ve ark., (2003), hayvanların doğum sonrası dönemde negatif enerji dengesinde olmaları durumunda, plazma IGF-I düzeyinin azaldığını ortaya koymuştur. Squires (2003) ise; rodent olmayan canlılarda kısa süreli stresin, GH salınımına neden olurken IGF-I salgılanmasını azalttığını, bu durumun ise enerjinin büyüme fonksiyonundan daha çok yaşama gücü fonksiyonuna yönlendirilmesine neden olduğunu belirlemiştir. Bununla birlikte IGF-I salınımındaki azalışa neden olan mekanizmanın tam olarak belirlenememesine karşın, gün ışığındaki artışın, IGF-I'in salınımını ve buna bağlı olarak da süt üretimindeki artışı uyardığını bildirmiştir. Magistrelli ve ark., (2005) ise, rasyonla alınan enerji ve protein içeriğinin plazma IGF-I konsantrasyonu ile doğrudan ilişkili olduğunu saptamışlardır.

Memeli çiftlik hayvanlarında laktasyon döneminde IGF-I değişimini ve etkilerini inceleyen çok sayıda araştırma bulunmamakla

birlikte yapılan araştırmaların büyük çoğunluğunun sığırlarda gerçekleştirildiği ve özellikle sütçü keçilerdeki çalışma sayısının çok yetersiz olduğu söylenebilir. Bu nedenle bu çalışmada; Akkeçi ırkında laktasyon döneminde IGF-I düzeyinin değişimi ve bu değişim üzerinde fotoperiyot, sıcaklık ve sıcaklık nem indeksi (SNİ) gibi çevresel faktörlerin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmanın etik kurul onayı, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 27.10.2015 tarih ve 2015-18-196 nolu kararla alınmıştır.

Hayvan Materyali

Araştırma, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Hayvancılık İşletmesinde yetiştirilen 6 baş 2 yaşlı ve 5 baş 3 yaşlı olmak üzere toplam 11 baş ergin dişi Akkeçi'de yürütülmüştür. Araştırmaya başlamadan önce hayvanların 2 ay süreyle takipleri yapılmış bu süre içinde keçilere iç ve dış parazit kontrol ve mücadelesi uygulanmıştır. Araştırma süresince keçiler sağılmamış olup, oğlaklarıyla birlikte tutulmuşlardır. Araştırma dönemi boyunca keçilere kaba yem olarak buğday samanı (ortalama 1000 g/keçi/gün), kuru yonca otu (ortalama 500 g/keçi/gün) ve mısır silajı (ortalama 1500 g/keçi/gün) ve kesif yem (ortalama 1000 g/keçi/gün) grup yemlemesi şeklinde verilmiştir. Araştırmada kullanılan hayvanlar aynı yönetim ve besleme koşulları

altında, doğal fotoperiyot, nem ve sıcaklık ortamında tutulmuştur.

Kan Örneklerin Toplanması ve Laboratuvar Analizleri

Akkeçi'lerden laktasyon dönemi boyunca her iki haftada bir düzenli olarak saat 12:00'da anti koagülant içermeyen tüplere (VACUETTE® TUBE 9 ml Z Serum Clot Activator) boyun toplardamarından (vena jugularis) kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri analiz için 5 dakika santrifüj (4 000 devir/dak) edilerek serumları ayrılmıştır. Ayrılan serumlar steril tüplere aktarılmış ve laboratuvar analizleri gerçekleştirilene kadar -20°C'ye ayarlı derin dondurucularda muhafaza edilmiştir. Kan serumunda IGF-I analizleri Fine Test marka türe özgü "Goat IGF-I (Insulin-like growth factor 1) ELISA Kit (Cat. No: EG0002)" ile önerilen test prosedürüne uygun olarak saptanmıştır. Analizler Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı bünyesinde bulunan Üreme Biyolojisi ve Hayvan Fizyolojisi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Meteorolojik Veriler ve Sıcaklık-Nem İndeksi (SNİ)

Araştırma süresince hayvanlar üzerinde etkili olabilecek iklim değerleri Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden temin edilmiş (Çizelge 1) (Anonim, 2016) ve bu değerlerden sıcaklık-nem indeksi (SNİ) hesaplanmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 1. Araştırma dönemine ait iklim ve fotoperiyot değerleri

Aylar	Ortalama Sıcaklık (° C)	Ortalama Nispi Nem (%)	Fotoperiyot (saat:dakika)
Nisan	9.1	55.2	13:10
Mayıs	16.6	53.4	14:16
Haziran	18.4	67.5	14:40
Temmuz	24.2	42.4	14:33
Ağustos	24.5	46.1	13:38
Eylül	23.4	40.2	12:23

Çizelge 2. Araştırma süresince kan örneklerinin alındığı günlere ait ortalama sıcaklık (°C), ortalama nispi nem (%) ve SNİ değerleri

Dönemler	Ortalama Sıcaklık (°C)	Ortalama Nispi Nem (%)	SNİ
Nisan (1)	10.8	51.0	11.4
Nisan (2)	18.5	31.5	17.6
Mayıs (1)	13.9	45.9	14.0
Mayıs (2)	15.0	58.2	14.9
Haziran (1)	17.1	78.5	17.0
Haziran (2)	18.3	65.6	17.9
Temmuz (1)	23.7	50.1	22.3
Temmuz (2)	27.4	35.6	24.8
Ağustos (1)	26.1	43.6	24.1
Ağustos (2)	24.2	62.7	23.1
Eylül (1)	24.8	23.3	22.3
Eylül (2)	24.7	43.6	22.9

SNİ, sıcaklık stresinin şiddetinin belirlenmesinde, çevre sıcaklığı ve nispi nemin birlikte değerlendirildiği bir eşitliklerdir. Sıcaklık stresinin etkisinin belirlenmesi için çok sayıda eşitlik üretilmiştir. Bunlardan Marai ve ark., (2001) tarafından koyun ve keçiler için bildirilen eşitlik aşağıda gösterilmiştir.

$$SNİ = db \text{ } ^\circ C - \{(0.31 - 0.31 RH/100) (db \text{ } ^\circ C - 14.4)\}$$

SNİ= Sıcaklık nem indeks değeri

db °C = °C cinsinden kuru termometre değeri

RH = Nispi nem değeri

SNİ değerinin, 22.2 veya altında olması sıcaklık stresinin olmadığını; 22.2-23.3 arasında olması orta düzeyde sıcaklık stresini; 23.3-25.6 arasında olması şiddetli sıcaklık stresini ve 25.6'nın üzerinde olması ise aşırı şiddetli sıcaklık stresini ifade etmektedir (Marai ve ark., 2007).

İstatistiksel Analizler

Araştırmada, üzerinde durulan özellikler bakımından dönemler ve yaş grupları arasındaki farklılıklar, tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniği (Repeated Measures ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Farklı grupların saptanmasında DUNCAN testi kullanılmıştır.

Analizler SPSS 18 paket programında, çoklu karşılaştırmalar MSTAT-C paket programında yapılmıştır (Gürbüz ve ark., 2003).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Akkeçilerde laktasyon döneminde saptanan IGF-I konsantrasyonları Çizelge 3'de verilmiştir. Çizelge 3'den görülebileceği gibi 2 ve 3 yaşlı Akkeçilerde IGF-I'in laktasyon dönemine ait genel ortalama değerleri sırasıyla 62.88±1.97 ve 76.29±2.55 ng ml⁻¹ olarak belirlenmiş olup, aralarındaki farklılık istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Buna karşın, aynı çizelgeden görülebileceği gibi dönemler arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli (P<0.01) bulunmuştur. IGF-I'in laktasyon dönemi ortalaması ise 68.98±1.68 ng ml⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen değerler ile farklı keçi ırklarında laktasyon döneminde IGF-I düzeyini belirlemeye yönelik gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen değerler genel olarak benzerlik göstermiştir. Nitekim, IGF-I düzeylerini, Nielsen ve ark., (1990), 40 baş sütü keçide laktasyonun ilk döneminde 30.8-72 ng ml⁻¹ arasında, Rosi ve Rapetti (2004), 17 baş Saanen keçisinde laktasyonun ortasında yemlemeden önce, yemlemeden bir saat sonra ve 4 saat sonra

sırasıyla 65.2, 74.6 ve 77.3 ng ml⁻¹ ve Mabjeesh ve ark., (2007), 8 baş Saanen keçisinde

laktasyonun ortasında 76 ng ml⁻¹ olarak saptamışlardır.

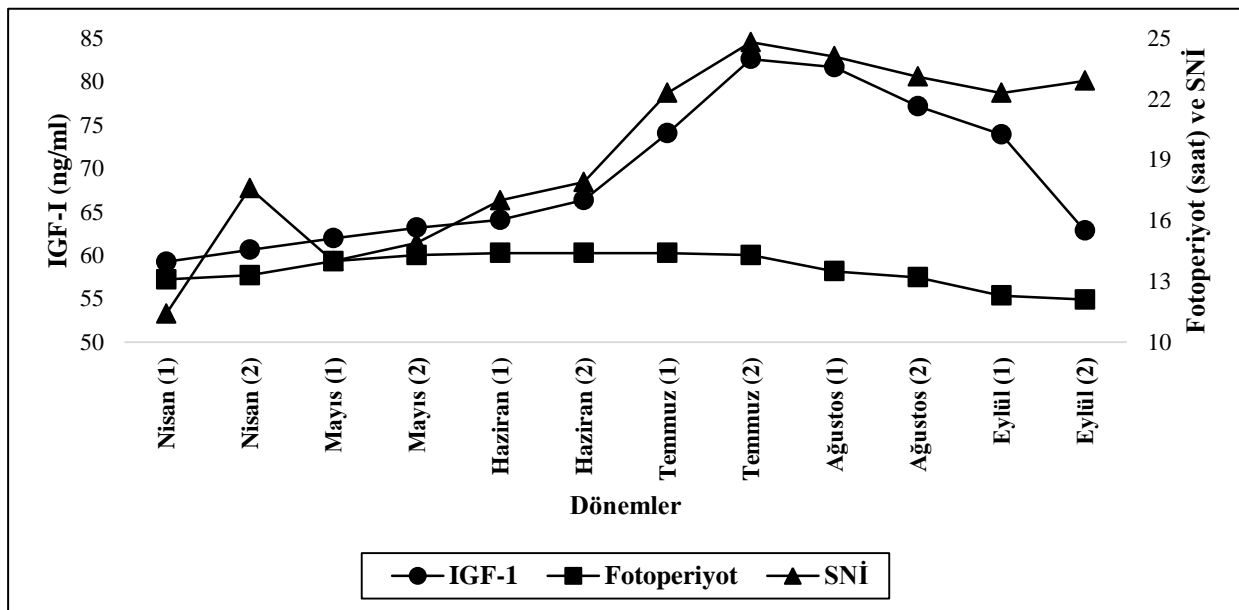
Çizelge 3. Akkeçilerde laktasyon döneminde IGF-1'in (ng ml⁻¹) ortalama değerleri

Dönemler	2 yaşlı (n=6)	3 yaşlı (n=5)	Genel (n=11)
	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}^*$
Nisan (1)	50.45±5.364	69.82±5.988	59.25±4.866c
Nisan (2)	52.51±5.135	70.38±5.066	60.63±4.447c
Mayıs (1)	55.19±5.205	70.08±5.675	61.96±4.329c
Mayıs (2)	59.82±4.870	67.19±5.710	63.17±3.708c
Haziran (1)	59.71±5.270	69.34±5.737	64.09±3.982c
Haziran (2)	63.63±6.033	69.64±6.887	66.36±4.411c
Temmuz (1)	70.28±7.552	78.60±8.707	74.06±5.571b
Temmuz (2)	79.74±8.740	86.05±8.130	82.61±5.816a
Ağustos (1)	76.98±6.711	87.30±11.851	81.67±6.358a
Ağustos (2)	71.25±5.580	84.30±13.953	77.17±6.940ab
Eylül (1)	62.05±6.601	88.20±15.339	73.92±8.460b
Eylül (2)	53.00±5.629	74.66±7.146	62.85±5.436c
Genel	62.88±1.975	76.29±2.549	68.98±1.680

* : Aynı sütunda farklı harfler arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.01).

Şekil 1'den görülebileceği gibi denemenin gerçekleştirildiği laktasyon döneminde, IGF-1 konsantrasyonlarında, Nisan ayından Temmuz ayının sonuna kadar önemli (P<0.01) düzeyde bir artış, bu aydan Eylül ayının sonuna kadar ise önemli (P<0.01) bir azalış gerçekleşmiştir. Bu

bulgu, Faulkner (1999)'in Saanen keçilerinde, Hashizume ve ark., (1999)'un Shiba keçilerinde ve Thammacharoen ve ark., (2014)'un melez sütçü keçilerde elde ettikleri bulgular ile uyum halindedir.



Şekil 1. Akkeçilerde laktasyon döneminde IGF-1'in (ng ml⁻¹) fotoperiyot (saat) ve SNİ ile birlikte değişimi.

Yine aynı şekilden görülebileceği gibi, denemenin gerçekleştirildiği dönemde IGF-I değişimine benzer olarak fotoperiyot ve SNİ değerleri de Temmuz ayına kadar artış, Temmuz ayının sonundan itibaren ise azalış göstermiştir. Memeli çiftlik hayvanlarında IGF-I konsantrasyonları üzerine sıcaklık ve sıcaklık stresinin etkisini belirlemek üzere yeterli düzeyde araştırma bulunmamakla birlikte, gerçekleştirilen çalışmalarda; Richards ve ark., (1995), çevre sıcaklığı ile IGF-I konsantrasyonları arasında negatif korelasyon olduğunu ve Aggarwal ve Upadhyay (2013) ise yaz ayları esnasında IGF-I konsantrasyonlarının azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada sıcaklık, SNİ ve IGF-I değişimine ilişkin elde edilen bulgular, yukarıda bildirilen araştırmaların bulgularıyla benzerlik göstermemiştir. Nitekim Şekil 1 incelendiğinde, IGF-I değişiminin, SNİ değişimine benzer bir seyir izlediği söylenebilir. Hesaplanan SNİ verilerine göre (Çizelge 2), bu çalışmada, deneme süreci boyunca Akkeçilerin, laktasyonun döneminin ilk yarısında sıcaklık stresinde olmadıkları, 7., 10., 11. ve 12. ölçümün alındığı dönemlerde orta düzeyde, 8. ve 9. ölçümün alındığı dönemlerde ise şiddetli sıcaklık stresinde oldukları görülmektedir. Aynı dönemlerdeki IGF-I konsantrasyonları incelendiğinde ise, şiddetli sıcaklık stresinin görüldüğü dönemlerde IGF-I düzeylerinin azalmaya başladığı görülebilir. Akkeçilerin IGF-I konsantrasyonları üzerine fotoperiyot ve sıcaklığın etkileri birlikte ele alındığında, sıcaklık faktörüne göre, fotoperiyotun etkisinin daha baskın olduğu ve sıcaklık faktörünün IGF-I üzerindeki etkisini daha çok sıcaklık stresi düzeylerinde gösterebildiği söylenebilir. Nitekim Hamzaoui ve ark., (2013) tarafından süt keçilerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, laktasyon döneminde artan sıcaklık stresine bağlı olarak IGF-I düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir.

Ruminantlarda gerçekleştirilen birçok araştırmada, IGF-I konsantrasyonlarındaki mevsimsel değişikliklerin, esas olarak fotoperiyot tarafından yönlendirildiği ileri sürülmektedir (Dahl ve ark., 2000). Nitekim, alageyiklerde yapılan bir çalışmada, kısa gün etkisi gösteren melatonin implantı uygulamasının, IGF-I salınımını baskıladığı bildirilmiştir (Suttie ve ark., 1992). Sığırlarda yapılan başka bir çalışmada ise 4 ay süreyle günlük 16 saat aydınlık uygulanan grupta bulunan sığırların IGF-I düzeylerinin, günde 8 saat aydınlık uygulanan grupta bulunanlardan önemli ölçüde yüksek olduğu bildirilmiştir (Spicer ve ark., 1994). Sonuç olarak, bu çalışmada IGF-I'in mevsimsel değişimine ilişkin elde edilen bulgular, diğer keçi ırklarında (Rhind ve McMillen, 1995; Mabjeesh ve ark., 2007; Ma ve ark., 2012; Jin ve ark., 2013) ve sığırlarda (Dahl ve ark., 1997) gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen bulgularla uyumlu bulunmuştur.

SONUÇ

Araştırma sonuçlarına göre; Akkeçilerde laktasyon döneminde IGF-I değişimi, diğer sütçü keçi ırklarındaki değişim ile uyum halindedir. Akkeçilerde laktasyon döneminde IGF-I konsantrasyonları üzerine yaş, önemli düzeyde bir etki göstermemiştir. Fotoperiyodik değişim, laktasyon dönemindeki IGF-I konsantrasyonu önemli düzeyde etkilemekte ve artan gün ışığı, IGF-I'in salınımını artırmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından "16L0447003" kodlu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aggarwal A, Upadhyay R, 2013. Heat Stress and Animal Productivity, DOI 10.1007/978-81-322-0879-2_3, Springer, India.
- Anonim, 2016. T. C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Veri Kontrol ve İstatistik Şube Müdürlüğü, Ankara.
- Baştürk E, 2007. Nodüler guatr oluşumunda insülin benzeri büyüme faktörünün (IGF-1) rolü. T.C. Sağlık Bakanlığı, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1. Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi.
- Dahl GE, Elsasser TH, Capuco AV, Erdman RA, Peters RR, 1997. Effects of long day photoperiod on milk yield and circulating insulin-like growth factor-1. *J Dairy Sci*, 80: 2784–2789.
- Dahl GE, Buchanan BA, Tucker HA, 2000. Photoperiodic effects on dairy cattle: A review. *J Dairy Sci*, 83: 885–893.
- Faulkner A, 1999. Changes in plasma and milk concentrations of glucose and IGF-1 in response to exogenous growth hormone in lactating goats. *Journal of Dairy Research*, 66: 207-214.
- Gürbüz F, Başpınar E, Çamdeviren H, Keskin S, 2003. Tekrarlanan ölçümlü deneme düzenlerinin analizi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Matbaası, Van.
- Hadsell DL, Bonnette SG, Lee AV, 2002. Genetic manipulation of the IGF-I axis to regulate mammary gland development and function. *J Dairy Sci*, 85: 365-377.
- Hamzaoui S, Salama KAA, Albanell E, Such X, Caja G, 2013. Physiological responses and lactational performances of late-lactation dairy goats under heat stress conditions. *J Dairy Sci*, 96: 6355–6365.
- Hashizume T, Takahashi Y, Numata M, Sasaki K, Ueno K, Ohtsuki K, Kawai M, Ishii A, 1999. Plasma Profiles of Growth Hormone, Prolactin and Insulin-like Growth Factor-I during Gestation, Lactation and the Neonatal Period in Goats. *J Reprod Dev*, 45: 273–281.
- Jin J, Sawai K, Hashizume T, 2013. Effects of photoperiod on secretory patterns of growth hormone in adult male goats. *Animal Science Journal*, 84: 790–797.
- Ma H, Zhang W, Song WH, Sun P, Jia ZH, 2012. Effects of tryptophan supplementation on cashmere fiber characteristics, serum tryptophan, and related hormone concentrations in cashmere goats. *Domestic Animal Endocrinology*, 43: 239–250.
- Mabjeesh SJ, Gal-Garber O, Shamay A, 2007. Effect of Photoperiod in the Third Trimester of Gestation on Milk Production and Circulating Hormones in Dairy Goats. *J Dairy Sci*, 90: 699–705.
- Magistrelli D, Valli A, Rosi F, 2005. Insulin and IGF-1 in goat milk: influence of the diet. *Ital J Anim Sci*, 4 (2): 386-388.
- Marai IFM, Ayyat MS, Abd El-Monem UM, 2001. Growth performance and reproductive traits at first parity of New Zealand White female rabbits as affected by heat stress and its alleviation under egyptian conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 33: 451-462.
- Marai IFM, El-Darawany AA, Fadiel A, Abdel-Hafez MAM, 2007. Physiological traits as affected by heat stress-a review. *Small Ruminant Research*, 71: 1-12.

- McGuire MA, Vicini JL, Bauman DE, Veenhuizen JJ, 1992. Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. *J Anim Sci*, 70: 2901-2910.
- Moyes TE, Stockdale CR, Humphys S, Macmillan KL, 2003. Differences in plasma concentration of insulin-like growth factor-1 between pregnant and nonpregnant dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development*, 15: 22.
- Nielsen MO, Skakkebaek NE, Giwercman A, 1990. Insulin-like growth factor I (somatomedin C) in goats during normal lactation and in response to somatotropin treatment. *Comp Biochem Physiol*, 95A (2): 303-306.
- Noyan A, 1988. *Fizyoloji*. Meteksan Ltd., 5. Baskı, S. 1007. Ankara.
- Prosser CG, 1996. Insulin-like growth factors in milk and mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 1 (3): 297-306.
- Rasouli S, Abdolmohammadi A, Zebarjadi A, Mostafae A, 2017. Evaluation of polymorphism in IGF-I and IGFBP-3 genes and their relationship with twinning rate and growth traits in Markhoz goats. *Ann Anim Sci*, 17 (1): 89-103.
- Rhind SM, McMillen SR, 1995. Seasonal Changes in Systemic Hormone Profiles and their Relationship to Patterns of Fibre Growth and Moulting in Goats of Contrasting Genotypes. *Aust J Agric Res*, 46:1273-1283.
- Richards MW, Spicer LJ, Wettemann RP, 1995. Influence of diet and ambient temperature on bovine serum insulin-like growth factor-I and thyroxine: relationships with non-esterified fatty acids, glucose, insulin, luteinizing hormone and progesterone. *Animal Reproduction Science* 37: 267-279.
- Rosi F, Rapetti L, 2004. Bioactive components in goat milk and plasma. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 13 (1): 701-704.
- Spicer LJ, Buchanan BA, Chapin LT, Tucker HA, 1994. Effect of 4 months of exposure to various durations of light on serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in prepubertal Holstein heifers. *J Anim Sci*, 72 (1): 178.
- Suttie JM, Breier BH, Gluckman PD, Littlejohn RP, Webster JR, 1992. Effects of melatonin implants on insulin like growth factor 1 in male red deer (*Cervus elaphus*). *Gen Comp Endocrinol*, 87: 111-119.
- Squires EJ, 2003. *Applied animal endocrinology*. CABI Publishing, ISBN: 0-85199-594-2, USA. pp. 234.
- Thammachoen S, Nguyen T, Suthikai W, Chanchai W, Chanpongsang S, Chaiyabutr N, 2014. Somatotropin supplementation decreases feed intake in crossbred dairy goats during the early phase of lactation. *Small Ruminant Research*, 121: 368-375.
- Yılmaz B, 1999. *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi*. Feryal Matbaacılık, 1. Basım, ISBN: 975-96982-0 X, Ankara.