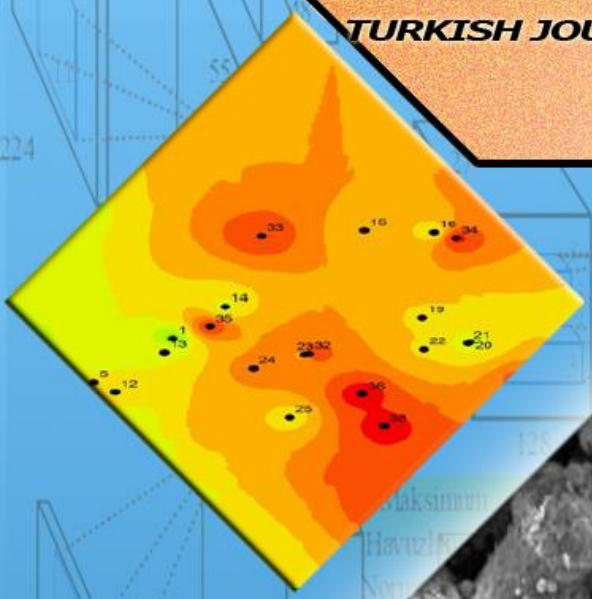
e-ISSN 2149-6366

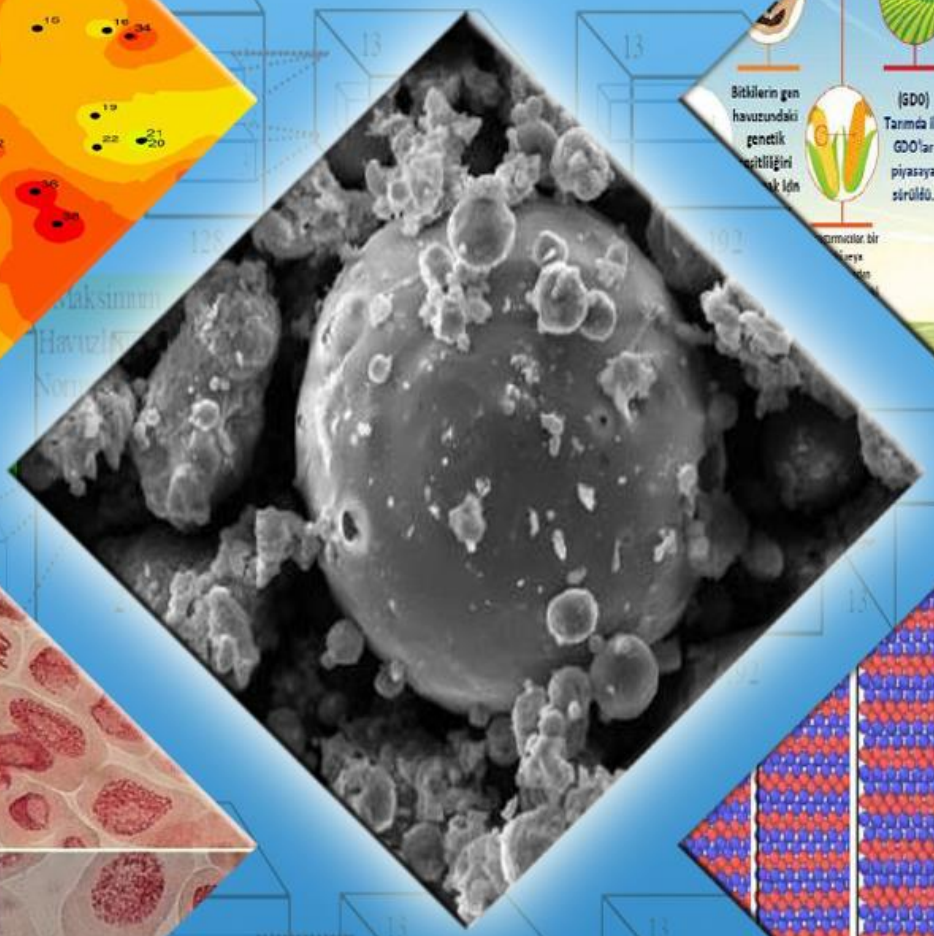
Cilt 9, Sayı 2, Aralık 2020
Volume 9, Issue 2, Dec 2020

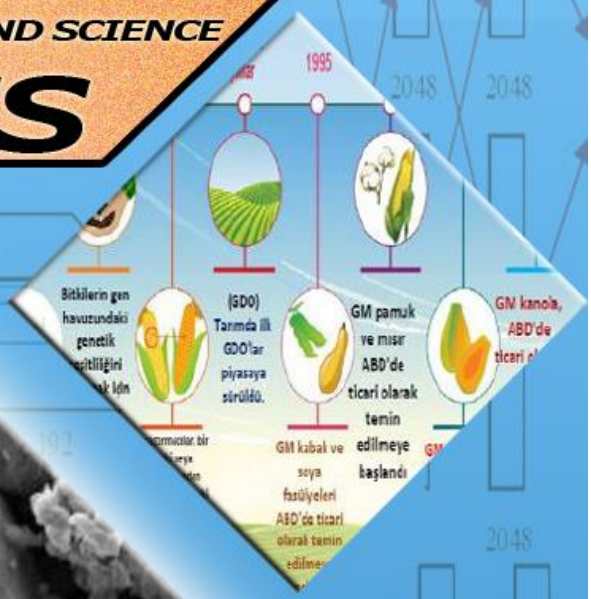
TDFD
TÜRK DOĞA ve FEN DERGİSİ

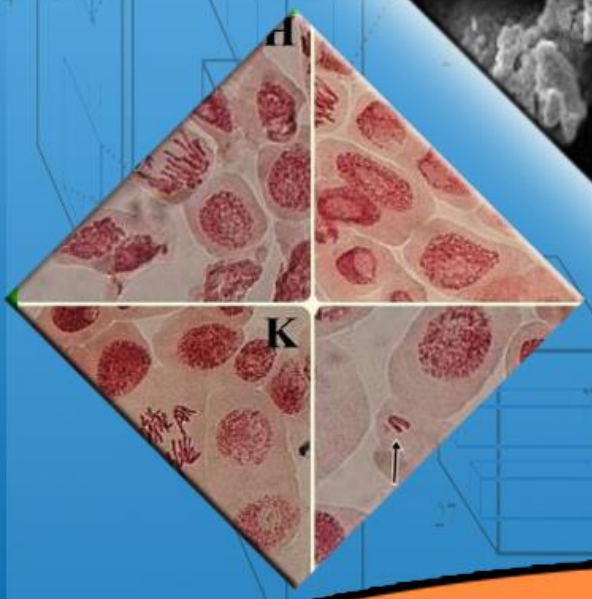
TURKISH JOURNAL OF NATURE AND SCIENCE

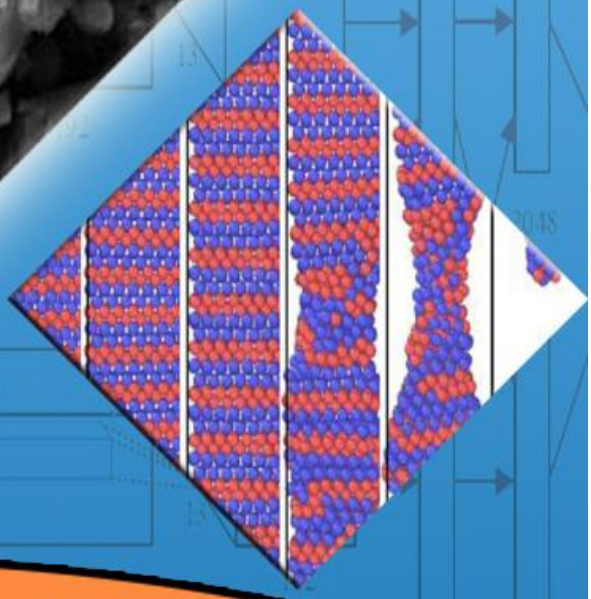
TJNS











www.dergipark.gov.tr/tdfd

Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından yayımlanmaktadır.
Published by Bingol University Institute of Science

TÜRK DOĞA VE FEN DERGİSİ

Amaç

Türk Doğa ve Fen Dergisi, Dergipark tarafından yayınlanan Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne ait ulusal ve hakemli bir dergidir. Türk Doğa ve Fen Dergisi, Türkiye ve dünyanın her yerinden gelen doğa ve fen bilimlerinin her alanında özgün, yayımlanmamış, yayımlanmak üzere başka yere gönderilmemiş makale, derleme ve sempozyum değerlendirmesi gibi çalışmaların bilim alemine sunulması amacıyla kurulmuştur.

Kapsam

Türk Doğa ve Fen Dergisinde Mühendislik, Ziraat, Veterinerlik, Fen ve Doğa Bilimleri alanlarından olmak üzere Türkçe ve İngilizce hazırlanmış orijinal makale, derleme ve sempozyum değerlendirmesi gibi çalışmalar yayımlanır. Türk Doğa ve Fen Dergisi sadece online sistemde yayınlanmakta olup ayrıca kağıt baskısı bulunmamaktadır.

Merhaba…

Türk Doğa ve Fen Dergisi, Dergipark tarafından yayınlanmakta olup Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne aittir. Bahar ve güz dönemi olmak üzere yılda iki defa çıkarılan ulusal hakemli bir dergi olarak ilk sayısını 2012 bahar döneminde yayımlamıştır. Türk Doğa ve Fen Dergisi, Türkiye ve dünyanın her yerinden gelen doğa ve fen bilimlerinin her alanında özgün, yayımlanmamış, yayımlanmak üzere başka yere gönderilmemiş makale, derleme ve sempozyum değerlendirmesi gibi çalışmaların bilim alemine sunulması amacıyla kurulmuştur. İlk sayısından bugüne kesintisiz olarak faaliyetlerini sürdürmektedir.

Türk Doğa ve Fen Dergisi sadece online sistemde yayınlanmakta olup ayrıca kağıt baskısı bulunmamaktadır. Dergimize gelen her çalışma öncelikle Turnitin intihal programında taranmaktadır. Dergimizde editörlerin, hakemlerin ve yazarların, uluslararası yayım etik kurallarına uyması ve makalelerin yazım kurallarına uyumlu olması zorunluluğu vardır.

Yazarlar yayımlanmak üzere dergimize gönderdikleri çalışmaları ile ilgili telif haklarını zorunlu olarak Bingöl Üniversitesi Türk Doğa ve Fen Dergisi'ne devretmiş sayılırlar. Yazarlardan herhangi bir ücret talep edilmemektedir. Yazarların değerlendirmeleri, dergimizin resmi görüşü olarak kabul edilemez. Çalışmaların her türlü sorumluluğu yazarlarına aittir. Araştırma ürünleri için etik kurul raporu gerekli ise, çalışma üzerinde bu raporun alınmış olduğu belirtilmeli ve kurul raporu sisteme kaydedilmelidir. Araştırma ile ilgili intihal, atıf manipülasyonu, sahte veri uydurma vb. suistimallerin tespit edilmesi halinde yayım ve etik ilkelerine göre davranılır. Bu durumda çalışmanın yayımlanmasını önlemek, yayımdan kaldırmak ya da başka işlemler yapmak için gerekli işlemler takip edilmektedir.

Dergimizde, kaynak gösteriminde uluslararası Vancouver sistemine geçilmiştir. Ayrıca dergimiz, Creative Commons ile lisanslanmak suretiyle dergimizde yayımlanan makalelerin paylaşımı, kaynak gösterimi ve yayımlanmasında dergi ve yazar haklarını korumaya almıştır. 2018 yılı güz döneminden itibaren makaleler, uluslararası yazar kimlik numarası ORCID No'su ile yayımlanmaktadır.

Dergi ekibi, dergimizin ulusal ve uluslararası indekslerce taranan bir dergi olması yönünde çalışmalarını titizlikle sürdürmektedir. Dergimize gösterilen ilgi bu yönde bizleri teşvik etmeye devam edecektir.

Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından yayımlanmaktadır

EDİTÖRLER (YAYIN) KURULU

BAŞEDİTÖR

Dr. Öğr. Üyesi Ekrem DARENDELİOĞLU

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
E-Mail: edarendelioglu@bingol.edu.tr

EDİTÖR YARDIMCISI

Dr. Öğr. Üyesi Adnan AYNA

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
E-Mail: aayna@bingol.edu.tr

EDİTÖRLER

Fen ve Doğa Bilimleri

Doç. Dr. İkram ORAK

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler
E-Mail: iorak@bingol.edu.tr

Prof. Dr. Selami SELVİ

Balıkesir Üniversitesi, Altınoluk Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü
E-Mail: sselvi2000@yahoo.com

Prof. Dr. Refik KESKİN

Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü
E-Mail: rkeskin@sakarya.edu.tr

Prof. Dr. Halim ÖZDEMİR

Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü
E-Mail: hozdemir@sakarya.edu.tr

Doç. Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU

Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç Meslek Yüksekokulu, Bitki Morfolojisi ve Anatomisi Bölümü
E-Mail: ucakilcioglu@yahoo.com

Doç. Dr. Zafer ŞİAR

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü
E-Mail: zsiar@bingol.edu.tr

Doç. Dr. Kamuran DİLSİZ

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü
E-Mail: kdilsiz@bingol.edu.tr

Doç. Dr. Şükran KONCA

Bakırçay Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Temel Bilimler, Matematik Bölümü
E-Mail: sukran.konca@bakircay.edu.tr

Doç. Dr. İdris YAZGAN

Kastamonu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji

E-Mail: idrisyazgan@gmail.com

Dr. Öğr. Üyesi Abdulcabbar YAVUZ

Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği
E-Mail: ayavuz@gantep.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Şükrü KURT

Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Temel Bilimler
E-Mail: mustafa.kurt@erzurum.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Sinan SAĞIR

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fizik

E-Mail: sinansagir@kmu.edu.tr / sinan.sagir@cern.ch

Dr. Öğr. Üyesi Murat AYDEMİR

Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Temel Bilimler

E-Mail: murat.aydemir@erzurum.edu.tr

Mühendislik Bilimleri

Dr. Öğr. Üyesi Özgür ÖZGÜN

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü
E-Mail: oozgun@bingol.edu.tr

Prof. Dr. Figen KOREL

İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: figenkorel@iyte.edu.tr

Prof. Dr. Kubilay ASLANTAŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü
E-Mail: aslantas@aku.edu.tr

Prof. Dr. Hamit Özkan GÜLSOY

Marmara Üniversitesi Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü
E-Mail: ogulsoy@marmara.edu.tr

Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU

İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: adnan.hayaloglu@inonu.edu.tr

Doç. Dr. İbrahim GÜNEŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü
E-Mail: gunes@aku.edu.tr

Doç. Dr. Sırma YEĞİN

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: sirma.yegin@ege.edu.tr

Doç. Dr. Hasan OĞUL

Sinop Üniversitesi, Mimarlık ve Mühendislik Fakültesi, Nükleer Enerji Mühendisliği
E-Mail: hogul@sinop.edu.tr

Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN

İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: murat.yilmaztekin@inonu.edu.tr

Doç. Dr. Ferhat AYDIN

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü
E-Mail: ferhata@subu.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Nurullah DEMİR

Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
E-Mail: ndemir@bingol.edu.tr

Doç. Dr. Kazım HANBAY

Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü
E-Mail: khanbay@bingol.edu.tr

Dr. Erhan Sulejmani

University of Tetova, Faculty of Food Technology and Nutrition
E-Mail: erhan.sulejmani@unite.edu.mk

Dr. Hacène Medjoudj

Larbi Ben M'Hidi University of Oum El Bouaghi, Food Science Department
E-Mail: medjoudjh@yahoo.com

Sağlık Bilimleri

Doç. Dr. Aydın Şükrü BENGÜ

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler
E-Mail: abengu@bingol.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Dilhun Keriman ARSERİM UÇAR

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü
E-Mail: dkucar@bingol.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Abdullah TUNÇ

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü
E-Mail: atunc@bingol.edu.tr

Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜNDOĞDU

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri
E-Mail: rgundogdu@bingol.edu.tr

Dr. Alexander HERGOVICH

UCL Cancer Institute, Department of Cancer Biology, Faculty of Medical Sciences, UCL, London, UK
E-Mail: a.hergovich@uc.ac.uk

Dr. Valenti GOMEZ

UCL Cancer Institute, Department of Oncology, Faculty of Medical Sciences, UCL, London, UK
E-Mail: valentin.gomez@ucl.ac.uk

Veterinerlik Bilimleri

Doç. Dr. Cüneyt ÇAĞLAYAN

Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü
E-Mail: ccaglayan@bingol.edu.tr

Prof. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Temel Bilimler
E-Mail: fmehmet.kandemir@atauni.edu.tr

Doç. Dr. Akin KIRBAŞ

Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü
E-Mail: akindahiliye55@yahoo.com

Doç. Dr. Emrah Hicazi AKSU

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü
E-Mail: emrahaksu@atauni.edu.tr

Ziraat Bilimleri

Prof. Dr. Kağan KÖKTEN

Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü
E-Mail: kahafe1974@yahoo.com

Prof. Dr. Mustafa SÜRMEN

Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü
E-Mail: mustafa.surmen@adu.edu.tr

Prof. Dr. Banu YÜCEL

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı, Zootekni Bölümü
E-Mail: banu.yucel@ege.edu.tr

Doç. Dr. Hakan İNCİ

Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü
E-Mail: hinci@bingol.edu.tr

Doç. Dr. Rıdvan POLAT

Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı
E-Mail: rpolat@bingol.edu.tr

TEKNİK EDİTÖRLER

Öğr. Gör. Mücahit ÇALIŞAN

Bingöl Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Bilgisayar Teknolojileri
E-Mail: mcalisan@bingol.edu.tr

Dr. Eray ÇALIŞKAN

Bingöl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
E-Mail: ecaliskan@bingol.edu.tr

Dr. Ersin KARAKAYA

Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü
E-Mail: karakayaersin1982@gmail.com

Dr. Nimetullah KORKUT

Bingöl Üniversitesi, BİNUZEM, Bilgisayar Teknolojileri
E-Mail: nkorkut@bingol.edu.tr

DİL EDİTÖRÜ
Öğr. Gör. Ahmet KESMEZ
Bingöl Üniversitesi, Yabancı Diller Yüksekokulu, İngilizce Bölümü
E-Mail: akesmez@bingol.edu.tr

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

İÇİNDEKİLER/CONTENTS

Synthesis and Characterization of Pollen Extract Mediated Gold Nanostructures

Polen Özütü Aracılı Altın Nanoparçacıkların Sentezi ve Karakterizasyonu

Fatma BAKAR[1,2], Hamide Ayçin SÖNMEZ[2], Senanur EVECEN[2], Buse TURAN[1], Mehmet Ali DEMİR[1], Abdurrahman GÜMÜŞ[3], Talip ÇETER[4], İdris YAZGAN[1*]

[1] Center of Materials and Biosensors, Department of Biology-Kastamonu University, Turkey
[2] Kastamonu Science and Art Center, Turkey
[3] Department of Electrical and Electronics Engineering, İzmir İstitute of Technology, İzmir Turkey
[4] Center for Aerobiology, Department of Biology-Kastamonu University, Turkey
Fatma BAKAR ORCID No: 0000-0002-3999-0983
Hamide Ayçin Sönmez ORCID No: 0000-0002-2580-9792
Senanur Evecen ORCID No: 0000-0001-6325-2123
Buse Turan ORCID No: 0000-0003-4196-8969
Mehmet Ali Demir ORCID No: 0000-0001-7726-431X
Abdurrahman Gümüş ORCID No: 0000-0003-2993-5769
Talip Çeter ORCID No: 0000-0003-3626-1758
İdris YAZGAN ORCID No: 0000-0002-0264-1253

**Corresponding author: iyazgan@kastamonu.edu.tr*

(Alınış: 07.11.2020, Kabul: 30.11.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020) **1**

Yeni Antrasen Bazlı Kopolimer Sistemi ve Grafen Kompozitlerinin Hazırlanması, Termal ve Elektriksel Özelliklerinin İncelenmesi

Preparation of New Anthracene Based Copolymer System and Graphene Composites, Investigation of Thermal and Electrical Properties

Fatih BİRYAN[1*]

[1] Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ, Türkiye
Fatih BİRYAN ORCID No: 0000-0001-9198-3329

**Sorumlu yazar: fatihbiryan@gmail.com*

(Alınış: 02.11.2020, Kabul: 18.11.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020) **9**

The Effect of Optimum Insulation Thickness on Energy Saving and Global Warming Potential

Optimum Yalıtımı Kalınlığının Enerji Tasarrufu ve Küresel Isınma Potansiyeli Üzerine Etkisi

Mehmet Kadri AKYÜZ[1*]

[1] Dicle University, School of Civil Aviation, Department of Airframe and Powerplant Maintenance, Diyarbakır, Turkey
Mehmet Kadri AKYÜZ ORCID No: 0000-0003-0229-2943

**Corresponding author: mkadri.akyuz@dicle.edu.tr*

(Alınış: 26.10.2020, Kabul: 23.11.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020) **18**

γCuTi Nanotellerinin Germe Oranı ve Boyuta Bağlı Mekanik Davranışı

Strain Rate and Size Dependent Mechanical Behavior of γCuTi Nanowires

Vildan GÜDER[1*], Murat ÇELTEK[2]

[1] Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Edirne, Türkiye
[2] Trakya Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Edirne, Türkiye
Vildan GÜDER ORCID No: 0000-0002-8673-2127
Murat ÇELTEK ORCID No: 0000-0001-7737-0411

**Sorumlu yazar: vildanguder@trakya.edu.tr*

(Alınış: 09.08.2020, Kabul: 10.10.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

24

5-Fluorourasil (5-FU) ve C60 Nanopartikülünün Meme Kanseri (MCF-7) Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik ve Apoptotik Etkilerinin Araştırılması

Investigation of Cytotoxic and Apoptotic Effects of 5-Fluorouracil (5-FU) and C60 Nanoparticle on Breast Cancer (MCF-7) Cell Line

Havva AYBEK[1], Can Ali AĞCA[2], Mehmet ÇİFTCİ[3*]

[1] Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri MYO, Eczane Hizmetleri Bölümü, Türkiye
[2] Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Türkiye
[3] Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye
Havva AYBEK ORCID No: 0000-0002-3831-4780
Can Ali AĞCA ORCID No: 0000-0002-0244-3767
Mehmet ÇİFTCİ ORCID No: 0000-0002-1748-3729

**Sorumlu Yazar: mciftci@bingol.edu.tr*

(Alınış: 17.09.2020, Kabul: 02.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

35

Farklı Mineral Katkılı Hafif Harçların Mekanik ve Fiziksel Özelliklerine Yüksek Sıcaklığın Etkisi

The Effect of High Temperature on the Mechanical and Physical Properties of Light Mortars with Blast Furnace Slag and Colemanite Addition

Behcet DÜNDAR[1*,] Emriye ÇINAR[2]

[1]İnşaat Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Osmaniye, Türkiye
[2]İnşaat Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Osmaniye, Türkiye
Behçer DÜNDAR ORCID-ID: 0000-0003-0724-9469
Emriye ÇINAR ORCID-ID: 0000-0002-9435-2968

**Sorumlu yazar: behcetdundar@osmaniye.edu.tr*

(Alınış: 30.04.2020, Kabul: 19.10.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

42

Effect of Boron Wastes on the Engineering Properties of Perlite Based Brick

Bor Atıklarının Perlit Esaslı Tuğlanın Mühendislik Özelliklerine Etkisi

Selçuk ÇİMEN[1], Hakan ÇAĞLAR[2], Arzu ÇAĞLAR[3], Ömer CAN[4]*

[1]Bayburt University, Graduate Education Institute, Department of Civil Engineering Bayburt, Turkey
[2]Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Civil Engineering, Kırşehir, Turkey
[3]Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Architecture, Kırşehir, Turkey,
[4]Bayburt University, Faculty of Engineering, Department of Civil Engineering Bayburt, Turkey
Selçuk ÇİMEN ORCID No: 0000-0003-4536-7693
Hakan ÇAĞLAR ORCID No: 0000-0002-1380-8637
Arzu ÇAĞLAR ORCID No: 0000-0003-3928-8059
Ömer CAN ORCID No: 0000-0002-8182-2967

**Sorumlu yazar: ocan@bayburt.edu.tr*

(Alınış: 02.05.2020, Kabul: 26.10.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

50

Cytotoxic and Genotoxic Effects of Some Azo Dyes in *Allium cepa* Root Tip Cells

***Allium cepa* Kök Ucu Hücrelerinde Bazı Azo Boyarmaddelerin Sitotoksik ve Genotoksik Etkileri**

Mehmet GÜMÜŞ[1*], H. Erhan EROĞLU[2], Nisa GÜMÜŞ[2], Emre YAĞCI[2]

[1]Yozgat Bozok Üniversitesi, Akdağmadeni Sağlık Yüksekokulu, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, Yozgat, Türkiye
[2]Yozgat Bozok Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Yozgat, Türkiye
Mehmet GÜMÜŞ ORCID No: 0000-0001-9262-7940
H. Erhan EROĞLU ORCID No: 0000-0002-4509-4712
Nisa GÜMÜŞ ORCID No: 0000-0002-5067-3874
Emre YAĞCI ORCID No: 0000-0001-9460-4857

**Sorumlu yazar: mehmet.gumus@bozok.edu.tr*

(Alınış: 05.09.2020, Kabul: 02.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

57

AASHTO-93 Yönteminin Mekanistik Ampirik Tasarım Yöntemleri İle Uyumunun Belirlenmesi

Determining the Compatibility of AASHTO-93 Method with Mechanistic Empirical Design Methods

Murat BOSTANCIOĞLU[1*]
[1] Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Sivas, Türkiye
Murat BOSTANCIOĞLU ORCID No: 0000-0001-6820-2213

**Sorumlu yazar: bostancioglu@cumhuriyet.edu.tr*

(Alınış: 05.05.2020, Kabul: 19.10.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

64

Şebeke Sisteminde Trihalometan Oluşum Potansiyelinin "Arcgis" İle Değerlendirilmesi

Evaluation Of Trihalomethane Formation Potential In The Network System with "Arcgis"

Süheyla YILDIZ TONGUR[1*]

[1*] Konya Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 42250, Konya, Türkiye
Süheyla TONGUR ORCID No: 0000-0002-8647-6338

**Sorumlu yazar: stongur@ktun.edu.tr*

(Alınış: 05.05.2020, Kabul: 26.11.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

76

Rutinin Ratlarda Kolistin Kaynaklı Testis Hasarında Oksidatif DNA Hasarı, NF-κB Aracılı Enflamasyon ve Apoptoz Üzerindeki Koruyucu Etkileri

Protective Effects of Rutin on Oxidative DNA Damage, NF-κB-Mediated Inflammation, and Apoptosis in Colistin-Induced Testicular Damage of Rats

Selim ÇOMAKLI[1*], Mustafa İLERİTÜRK[2], Esra MANAOĞLU KİRMAN[1]

[1] Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Bölümü, Erzurum, Türkiye
[2] Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Erzurum, Türkiye
Selim ÇOMAKLI ORCID No: 0000-0002-8744-7686
Mustafa İLERİTÜRK ORCID No: 0000-0002-4581-4492
Esra MANAVOĞLU KİRMAN ORCID No: 0000-0003-3877-7686

**Sorumlu yazar: selim.comakli@atauni.edu.tr*

(Alınış: 12.10.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

83

Siirt Ekolojik Koşullarında Katı Solucan Gübresi Uygulamalarının Nohut (*Cicer arietinum* L.)'un Verim ve Verim Özelliklerine Etkileri

The Effects of Solid Vermicompost Applications on the Yield and Yield Components of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) in The Ecological Conditions of Siirt

Özge UÇAR[1*], Sipan SOYSAL[2], Murat ERMAN[3]

[1] Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Siirt, Türkiye
[2] Siirt Üniversitesi, Kurtalan Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Siirt, Türkiye
[3] Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Siirt, Türkiye
Özge UÇAR ORCID No: 0000-0002-4650-4998
Sipan SOYSAL ORCID No: 0000-0002-0840-6609
Murat ERMAN ORCID No: 0000-0002-1435-1982

**Sorumlu yazar: ozgeonderr@hotmail.com*

(Alınış: 06.10.2020, Kabul: 04.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

91

Yüksek ve Düşük Kalsiyum İçeren Uçucu Küller ile Üretilen Geopolimer Harçların Fiziksel ve Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

Investigation of Physical and Mechanical Properties of Geopolymer Mortars Produced with High and Low Calcium Content Fly Ash

Mehmet KAYA[1*]

[1]Yozgat Bozok Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Yozgat, Türkiye
Mehmet KAYA ORCID No: 0000-0002-8116-0123

**Sorumlu yazar: mehmet.kaya@yobu.edu.tr*

(Alınış: 18.08.2020, Kabul: 07.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

96

Örtüşme ve Deforme Durumlarında Kapsül Ağ ile Evrişimsel Sinir Ağ Sınıflama Performanslarının Karşılaştırılması

Comparison of Capsule Network and Convolutional Neural Network Classification Performances in Overlap and Deformation Conditions

Kazım FIRILDAK[1*], Muhammed Fatih TALU[2]

105

[1] Fırat Üniversitesi, Kovancılar Meslek Yüksek Okulu, Bilgisayar Teknolojileri Bölümü, Elazığ, Türkiye
[2] İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Malatya, Türkiye
Kazım FIRILDAK ORCID No: 0000-0002-1958-3627
Muhammed Fatih TALU ORCID No: 0000-0003-1166-8404

**Sorumlu yazar: kfirildak@firat.edu.tr*

(Alınış: 19.06.2020, Kabul: 02.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Bazı Upland Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Çeşitlerinin Çimlenme Döneminde Farklı Tuz (NaCI) Seviyelerine Karşı Toleranslarının Belirlenmesi

Determination the Tolerance of Some Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Varieties for Different Salt (NaCI) Levels at the Germination Stage

Sadettin ÇELİK[1*]

112

[1]Bingöl Üniversitesi, Genç Meslek Yüksekokulu, Ormancılık bölümü Bingöl, Türkiye
Sadettin ÇELİK ORCID No: 0000-0002-0588-1391

**Sorumlu yazar: sadettincelik@bingol.edu.tr*

(Alınış: 07.07.2020, Kabul: 14.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Bortezomib ile Kalp Hasarı Oluşturulan Ratlarda Berberinin Oksidatif ve Nitrozatif Stres Üzerine Etkisi

The Effect of Berberine on Oxidative and Nitrosative Stress in Rats with Bortezomib-Induced Heart Damage

Cihan GÜR[1*], Fatih Mehmet KANDEMİR[1], Aydın GENÇ[1]

118

[1]Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye
Cihan GÜR ORCID No: 0000-0001-6775-7858
Fatih Mehmet KANDEMİR ORCID No: 0000-0002-8490-2479
Aydın GENÇ ORCID No: 0000-0001-5367-0743

**Sorumlu yazar: cihan.gur@atauni.edu.tr*

(Alınış: 12.10.2020, Kabul: 14.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Investigation of Protecting Effect of Boric Acid against Mercury II Chloride Toxicity in Rat Brain Tissue

Civa II Klorürün Sıçan Beyin Dokusunda Oluşturduğu Toksisiteye Karşı Borik Asidin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi

H.Turan Akkoyun[1*], A.Şükrü Bengu[2], Mahire Bayramoglu Akkoyun[3], Aykut Ulucan[2], M.Sait Izgi[4], Ömer Sahin[4], Suat Ekin[5], Şule Melek[6]

[1]Siirt University, Faculty of Veterinary Science, Department of Physiology, Siirt, Turkey
[2]Bingöl University, Department of Medical Services and Technics, Bingöl, Turkey
[3]Siirt University, Faculty of Veterinary Science, Department of Biochemistry, Siirt, Turkey
[4]Siirt University, Faculty of Engineering, Department of Chemical Engineering, Siirt, Turkey
[5]Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Van, Turkey
[6]Bingol Universıty, Faculty of Veterinary Science, Department of Surgery, Bingöl, Turkey
H.Turan AKKOYUN ORCID No: 0000-0002-4547-8003
A.Şükrü BENGÜ ORCID No: 0000-0002-7635-4855
Aykut ULUCAN ORCID No: 0000-0001-8844-8237
Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN ORCID No: 0000-0001-5150-5402
M.Sait İZGİ ORCID No: 0000-0003-3685-3219
Ömer ŞAHİN ORCID No: 0000-0003-4575-3762
Suat EKİN ORCID No: 0000-0002-6502-5028
Şule MELEK ORCID No: 0000-0002-0677-722X

**Corresponding Authors: turanakkoyun@siirt.edu.tr*

(Alınış: 02.11.2020, Kabul: 14.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

127

Balıkesir Florasının Peyzaj Açısından Değerlendirilme Olanakları

Evaluation Possibilities of Balıkesir Flora in Terms of Landscape

Rıdvan POLAT[1*]

[1] Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Bingöl, Türkiye
Rıdvan POLAT ORCID No: 0000-0003-0261-3671

**Sorumlu yazar: rpolat@bingol.edu.tr*

(Alınış: 25.11.2020, Kabul: 16.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

134

A Proposal for the Conservation and Integration of Historic Diyarbakır City Walls: the Urfa Gate, Towers and City Walls

Tarihi Diyarbakır Surları: Urfa Kapı, Burçları ve Sur Duvarları Örneği için Koruma ve Tamamlama Önerisi

Nursen IŞIK[1*], Fatma Meral HALİFEOĞLU[2], Süleyman İPEK[3]

[1] Dicle Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Mimarlık Bölümü, Diyarbakır, Türkiye
[2] Dicle Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Mimarlık Bölümü, Diyarbakır, Türkiye
[3] Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Mimarlık Bölümü, Bingöl, Türkiye
Nursen IŞIK ORCID No: 0000-0002-6125-1896
Fatma Meral HALİFEOĞLU ORCID No: 0000-0003-2032-3774
Süleyman İPEK ORCID No: 0000-0001-8891-949X

**Sorumlu yazar: isikcn@gmail.com*

(Alınış: 23.04.2020, Kabul: 16.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

146

Alchemilla persica'nın Farklı Polaritelerdeki Ekstraktlarının Antisitotoksik, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Determination of Anticytotoxic, Antioxidant and Antimicrobial Activities of _Alchemilla persica_ Extracts in Different Polarities

Bülent KAYA[1*]

[1] Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl, Türkiye
Bülent KAYA ORCID No: 0000-0002-1216-6441

*Sorumlu Yazar: b_kaya_tr@yahoo.com

(Alınış: 07.11.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

157

Ursodeoksikolik Asit'in Farelerde Pentilentetrazol ile Oluşturulan Akut Epileptik Nöbetler Üzerine Etkisinin Araştırılması

Investigation of the Effect of Ursodeoxycholic Acid on Pentylenetetrazole-induced Acute Epileptic Seizures in Mice

Sebahattin KARABULUT[1*], Ahmet Şevki TAŞKIRAN[2]

[1] Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi ve Teknik Hizmetler Bölümü, Sivas, Türkiye
[2] Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Bölümü, Sivas, Türkiye
Sebahattin KARABULUT ORCID No: 0000-0002-3261-4125
Ahmet Şevki TAŞKIRAN ORCID No: 0000-0002-5810-8415

*Sorumlu yazar: sbkarabulut@cumhuriyet.edu.tr

(Alınış: 01.07.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

170

Generalized Jacobi Elliptic Function Method for Traveling Wave Solutions of Some Nonlinear Schrödinger's Equations

Bazı Doğrusal Olmayan Schrödinger Denklemlerinin Hareketli Dalga Çözümleri İçin Genelleştirilmiş Jacobi Eliptik Fonksiyon Yöntemi

İbrahim Enam İNAN[1], Ünal İÇ[2*]

[1]Firat University, Faculty of Education, Mathematics and Science Education, 23119 Elazig, Turkey
[2]Firat University, Faculty of Education, Mathematics and Science Education, 23119 Elazig, Turkey
İbrahim Enam İNAN ORCID No: 0000-0003-3681-0497
Ünal İÇ ORCID No: 0000-0003-4367-7559

*Corresponding author: unalic@firat.edu.tr

(Alınış: 07.05.2020, Kabul: 17.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

175

İnsan Serum Paraoksonaz-1 (PON1) Enzim Aktivitesi Üzerine Zoledronik Asit'in _İn Vitro_ İnhibisyon Etkisinin Araştırılması

Investigation of _In Vitro_ Inhibition Effect of Zoledronic Acid on Human Serum Paraoxonase-1 (PON1) Enzyme Activity

Hakan SÖYÜT[1*], Yakup ULUTAŞ[2], Ekrem KÖKSAL[2]

[1] Uludağ Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Temel Eğitim Bölümü, Bursa, Türkiye
[2] Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Erzincan, Türkiye
Hakan SÖYÜT ORCID No: 0000-0002-0361-7458
Yakup ULUTAŞ ORCID No: 0000-0002-9839-9536
Ekrem KÖKSAL ORCID No: 0000-0002-1026-972X

*Sorumlu yazar: hakansoyut@uludag.edu.tr

(Alınış: 22.06.2020, Kabul: 12.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

185

Vinç Kancalarının Farklı Malzeme Özellikleri ve Yükleme Kapasitelerine Göre Yorulma Dayanımlarının İncelenmesi

Evaluation of Fatigue Strength of Crane Hooks Considering Material Properties and Load Capacities

Ali SARI[1], Ömer Faruk NEMUTLU[2*]

[1] İstanbul Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye
[2] Bingöl Üniversitesi, Enerji, Çevre ve Doğal Afet Çalışmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Bingöl, Türkiye
Ali SARI ORCID No: 0000-0002-6888-1276
Ömer Faruk NEMUTLU ORCID No: 0000-0001-7841-3911

**Sorumlu yazar: ofnemutlu@bingol.edu.tr*

(Alınış: 25.07.2020, Kabul: 15.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

190

Genetiği Değiştirilmiş Bitkilerin Biyogüvenlik Riskleri

Biosafety Risks of Genetically Modified Plants

Yunus Emre ARVAS[1*], İsmail KOCAÇALIŞKAN[2]

[1] Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
[2] Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye
Yunus Emre ARVAS ORCID No: 0000-0001-6622-5083
İsmail KOCAÇALIŞKAN ORCID No: 0000-0002-7892-206X

**Sorumlu yazar: yunusearvas@gmail.com*

(Alınış: 02.10.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

201

Gıdaların Raf Ömürleri İçin Yeni Bir Yaklaşım: Arı Ürünleri İle Yenilebilir Kaplamalar

A New Approach to Shelf Life Of Food: Edible Coatıngs With Bee Products

Esra MESCİ [1*], Nevzat ESİM [2]

[1] Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Arı ve Arı Ürünleri Ana Bilim Dalı, Bingöl, Türkiye
[2] Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl, Türkiye
Esra MESCİ ORCID No: 0000-0003-2020-9891
Nevzat ESİM ORCID No: 0000-0001-5121-092X

**Sorumlu yazar: nesim@bingol.edu.tr*

(Alınış: 13.10.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

211

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 1-8, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 1-8, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.822928 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Synthesis and Characterization of Pollen Extract Mediated Gold Nanostructures

Fatma BAKAR[1,2], Hamide Ayçin SÖNMEZ[2], Senanur EVECEN[2], Buse TURAN[1], Mehmet Ali DEMİR[1], Abdurrahman GÜMÜŞ[3], Talip ÇETER[4], İdris YAZGAN[1*]

[1] Center of Materials and Biosensors, Department of Biology-Kastamonu University, Turkey
[2] Kastamonu Science and Art Center, Turkey
[3] Department of Electrical and Electronics Engineering, İzmir İstitute of Technology, İzmir Turkey
[4] Center for Aerobiology, Department of Biology-Kastamonu University, Turkey
Fatma BAKAR ORCID No: 0000-0002-3999-0983
Hamide Ayçin Sönmez ORCID No: 0000-0002-2580-9792
Senanur Evecen ORCID No: 0000-0001-6325-2123
Buse Turan ORCID No: 0000-0003-4196-8969
Mehmet Ali Demir ORCID No: 0000-0001-7726-431X
Abdurrahman Gümüş ORCID No: 0000-0003-2993-5769
Talip Çeter ORCID No: 0000-0003-3626-1758
İdris YAZGAN ORCID No: 0000-0002-0264-1253

**Corresponding author: iyazgan@kastamonu.edu.tr*

(Alınış: 07.11.2020, Kabul: 30.11.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Keywords
Gold nanostructure, Gold nanorod, Pollen grain extract, Green synthesis

Abstract: There is an increasing demand in the synthesis of shape and size-controlled gold nanostructures (Au NSs) with greener methods. Therefore, we aimed to synthesize differently shaped and sized Au NSs using a greener technique under ambient conditions. In this study, we utilized pollen extracts of Corylus avellana, Juniperus oxycedrus and Pinus nigra species (collected from Kastamonu region of Turkey) for the synthesis. The extraction was performed in water in order to recover "water soluble" content from the pollen grains. The extracts were used to stabilize, and direct shape and size of the HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) buffer synthesized Au NSs. UV-vis, powder X-ray diffraction (PXRD), scanning electron microscopy (SEM) characterizations proved synthesis of spherical, anisotropic and large Au NSs with this benign approach. The obtained Au NSs were possible to separate small and large Au NSs through centrifugation. Chemistry of pollen extracts played a key role on the morphology and stability of the Au NSs. The findings, for the first time, is revealing the synthesis of large Au nanorod bundles (>300 nm) along with hexagonal and spherical Au NSs under ambient conditions using pollen grain extracts, whose maturation took 24h.

Polen Özütü Aracılı Altın Nanoparçacıkların Sentezi ve Karakterizasyonu

Anahtar Kelimeler
Altın nanoyapı, Altın nanorod, Pollen tane özütü, Yeşil kimya sentezi

Öz: Altın nanoyapıların (AuNYların) morfoloji ve boyut kontrollü sentezlerinin yeşil kimya ile sentezine ihtiyaç giderek artmaktadır. O nedenle biz bu çalışma da AuNYlarının boyut ve morfoloji kontrollerinin oda şartlarında sentezini çalıştık. Kastamonu bölgesinden toplanan Corylus avellana, Juniperus oxycedrus ve Pinus nigra türlerine ait polen özütlerini kullanarak sentezler gerçekleştirildi. Polen tanelerinden özütleme saf su içerisinde gerçekleştirilerek su da çözünen bileşenlerin izolasyonu hedeflendi. Özütler, HEPES (4-(2-hidroksimetil)-1-piperazinetan sülfonik asit) tamponu aracılığıyla sentezlenmiş AuNYların kararlılığı ve şekil/boyut yönlendirilmesinde rol oynamıştır. UV-Vis, toz X-ışınları krınım tekniği ve taramalı elektron mikroskobu çalışmaları sentezlenen AuNYların sferik, anizotropik ve büyük yapı morfolojilerine sahip olduğunu göstermiştir. AuNYlar santrifüj kullanılarak boyutlarına göre ayrılmışlardır. Polen kimyasının sentezlenen AuNYların kararlılığı ve morfolojilerinde anahtar rol oynadıklarını göstermiştir. Araştırmalarımıza göre bu çalışma ile hekzagonal ve sferik AuNYlara ek olarak >300 nm nanorod demetlerin polen tane ekstraksiyonları ile oda sıcaklığında sentezi ilk defa gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen AuNYların morfolojik kararlılıkları 24 saat içerisinde tamamlanmıştır.

1. INTRODUCTION

Green synthesis of metallic nanomaterials are of great interests owing to their sustainable production and being free from environmentally toxic chemicals [1]. Utilization of plant extracts [2–5], simple sugars [6], microorganisms [7] and carbohydrate polymers [6] are among the greener approaches. Among these approaches, the use of plant extracts are the most widely preferred route in the synthesis of metallic nanostructures including gold [6], silver [8], copper [9] and platinum [10]. Similarly, pollen grains have been shown as a reactor in metallic nanomaterials synthesis [11] as well as that their extracts provide proper chemistry in the synthesis of shape and size directed metallic nanostructures [12,13].

There is an increasing demand in synthesis of shape and size controlled Au NSs along with surface chemistry control in accordance with the application requirements [14]. Pollen grains contain carbohydrates, proteins, amino acids and phenolic compounds [15]. Extraction methods can allow targeted isolation of chemical constituents from pollen grains [16]. Even though pollen grains are of seasonal allergens [17,18], they have been exploited for biotechnological applications [19]. Despite the fact that pollen extracts are rich of bioactive molecules that can provide stabilization and capping for metallic nanostructures during their wet-chemistry mediated synthesis [13], their utilization has been rather limited. Limited studied regarding on polen extracted nanostructure materials have been found in the literature.

In this study, we utilized extracts of pollen grains from Corylus avellana, Juniperus oxycedrus and Pinus nigra species collected in Kastamonu province of west black-sea region of Turkey. “Water soluble” organic constituents and biomolecules (e.g. protein and sugars) have differences among these species pollen grains based on the obtained IR data. Water-based extraction applied to the pollen grains to collect “water soluble” molecules to prevent extra steps so as to solubilize the synthesized nanostructures. It is known that aqueous extraction of pollen grains, independent from the pollen species, reveal release of amino acids [20], carbohydrates and proteins [15]. HEPES buffer was used to initiate Au NSs formation while the extracts served as the directing, capping and stabilizing agents. The type of pollen extracts with its addition method brought dramatic effects on the Au NSs size and morphology.

2. MATERIALS AND METHODS

N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N′-(2-ethanesulfonic acid) (HEPES, ≥ 99.5%) and gold (III) chloride trihydrate (HAuCl4·3H2O, 99.995 %), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, ≥ 97 %) reagent, absolute ethanol (≥ 99.8%) were purchased from Sigma-Aldrich. De-ionized (DI) water with resistivity of 18.2 MΩ was produced by Humana Zeneer power 1 used throughout the study.

2.1 Extraction of Active Ingredients from Pollens

The plants belong to different families as Corylus avellane (CA) is a member of Betulacea, Juniperus oxycedrus (JO) is member of Cupressaceae family [21] while Pinus nigra (PN) is a member of Pinaceae family [22], whose pollen grains were used in the study that were collected in 2017 in Kastamonu. 1 g of pollen from each species were added into 10 mL DI water, which was kept at 60 °C for 4 h. Every 30-min, the mixture was gently vortexed to enhance release of the water-soluble active ingredients. The mixture was then centrifuged at 5000 rpm for 10 min to precipitate pollen debris. Supernatant part was finally filtered through a 0.22 µm sterile filter. The extract was frozen at -82 °C, followed by lyophilization in Christ Alpha 1-2 LD Freeze Dryer lyophilizer. ATR-FTIR (Bruker, Alpha II) in the region between 4000-400 cm-1 was used to characterize the functional groups of the extracts.

2.2 Antioxidant Capacity of the Pollen Extracts

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay was used to characterize antioxidant potential of the pollen extracts using 0.16 M DPPH prepared in absolute ethanol. All pollen extracts were used at 0.75 mg/mL concentration, and incubation time was kept as 5-min.

2.3 Au NS Synthesis

Ratio of pollen extracts and HEPES buffer (pH 7.4) were optimized to obtain colloidally stable nanostructures. Concentration of HEPES buffer was tested between 100 mM and 10 mM while pollen concentration varied between 5 mg/mL to 0.75 mg/mL. HAuCl4·H2O concentrations were tested at 0.5 mg/mL to 0.15 mg/mL. **Table 1** summarizes the synthesis conditions for Au nanostructures.

Table 1: Pollen extracts mediated synthesis of Au nanostructures using HEPES as reducing agent.

Sample Name	HEPES[1] (µL)	DI water (µL)	*Pollen extract*[2] (µL)	$HAuCl_4 \cdot H_2O$[3] (µL)
Approach 1 Pollen extracts introduced to the media with HEPES before $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ introduction				
HP1	1000	960	0	40
HP2	1000	940	0	60
PN1	1000	700	260	40
PN2	1000	700	240	60
JO1	1000	700	260	40
JO2	1000	700	240	60
CA1	1000	700	260	40
CA2	1000	700	240	60
***Approach 2**: Pollen extract introduced to the media 1-min after mixing HEPES and* $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$				
PN3	1000	700	260	40
JO3	1000	700	260	40
CA3	1000	700	260	40
PN4	1000	700	240	60

2.5 Characterization of Au NSs

UV-Vis spectrometry (T60 PG Instrument), powder X-Ray diffraction (Philips X'Pert Pro), Scanning Electron Microscopy (SEM) (FEI QUANTA 250 FEG) were used to characterize surface plasmon resonance, crystal structure and morphology, respectively. 400-mesh (01896N) Ted-Pella grids were used for SEM analysis.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

3.1 Antioxidant Potential and Functionality of the Pollen Extracts

Due to the fact that the goal of the study was to synthesize gold nanostructure with a fast kinetic in aqueous system under ambient conditions, DPPH reduction by the pollen extracts was confined to 5-min. A common approach (Equation 1) to reveal extracts radical scavenging capability is to calculate relative DPPH reduction was followed in the study.

$$\%\ Reduction = [\frac{(Abi-Abs)}{Abi}]X100 \qquad \text{Equation 1:}$$

where Ab_i refers to the absorbance of DPPH concentration while Abs refers to the absorbance for the sample after 5-min incubation [23]. % DPPH reduction for the pollen extracts were found as 80.7, 38.6 and 80.5 for CA, JO and PN respectively.

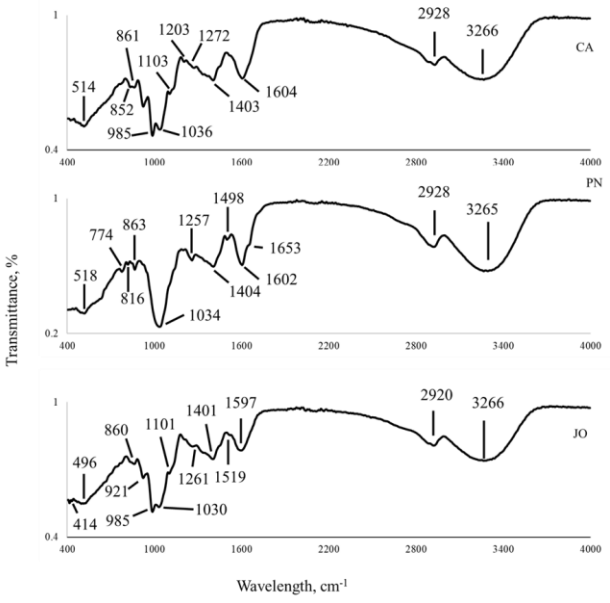


Figure 1: IR spectra of aqueous extracts of CA, PN and JO pollen grains.

It is clear that CA and PN possessed the same DPPH reduction capacity while JO gave less than half of DPPH in comparison to CA and PN. Differences in antioxidant capacity of the pollen extracts can be related to the presence of different antioxidant compounds that pollen grains have. It is possible that high antioxidant activity of CA and PN can be resulted from high load of conjugated [15] and polyphenols [24]. For instance, CA pollen grains contain high load of carotenoids [15]. Besides, water mediated extraction can trigger release of proteins, sugars, amino acids, carotenoids, glycosylated flavonoids and free amino acids [15]. As detained below, CA extract has carotenoids, conjugated constituents that give CA extract high radical scavenging activity. Similarly, PN and JO extracts gave conjugated structures (e.g. flavonoids). The differences between the antioxidant activities are possibly related to type of flavonoids and their amounts along with such other structures including carotenoids and the side groups in proteins.

FTIR studies revealed (**Figure 1**) that CA, PN and JO pollen grain aqueous extracts have proteins (~1600 cm-1 for C=O stretching of amide group, and C–O, C–N and C–C stretching vibrations for ~1030 cm-1) [25,26] and saccharides (920-700 cm-1 for vibration of C–OH groups and ~1030 cm-1 stretching vibration for C-C group) [25]. It is important to mention that the peak at ~1600 cm-1 can also represent the presence of carotenoids [15]. Among the extracts, only CA gave bright yellow color, so the peak for CA is more from carotenoid, but the same thing cannot be said for JO and PN extracts. Interestingly, all the spectra revealed the presence of RNA with the band at ~860 cm-1 of C-O-P-O-C [15]. Flavonoid peaks locate between 669-411 cm-1 [27]; 514 cm-1 of CA extract, 518 cm-1 of PN and 496 and 414 cm-1 of JO were obtained. Even though, clear peaks were not observed for phenolic acids, shoulders between 1800-1500 cm-1 reveals presence of phenolic acids [25] for all the extracts.

Particularly, the bands at 1519 cm-1 of JO and at 1653 cm-1 of PN (more of a shoulder peak) represent presence of proteins [28], which means that JO and PN extracts have more protein content than CA extract. Besides, the band at 1653 cm-1 of PN represents presence of α-helical proteins [28], which is not present in the other extracts. In contrast to this, any band at ~ 720 for cm-1 (characteristic peak for CH2 rocking of lipids) was not observed for any of the extracts. So, it is possible to speculate that the peak at ~2928 cm-1 is the sign for presence of cellulose instead of lipids. It is noteworthy to mention that band intensities for the same group is proportional to the concentration of the functional group [26]. Particularly at ~1030 cm-1 PN gave stronger band, which could refer to that PN extracts exhibiting, or possessing, a higher amount of saccharides in comparison to CA and JO extracts.

Comparison of the fingerprint region (1800-500 cm-1) for all the extracts gave different signatures: for instance, PN spectrum gave clear band at 774 cm-1, which is seen as a shoulder in the JO spectrum. Similarly, PN spectrum gave characteristic α-glycosidic bond at 816 cm-1 while the band at 1257 cm-1 refers to in-plane bending vibration of -OH group [29]. CA spectrum gave characteristic absorption at 1203 cm-1 ascribed to phosphate groups (nucleic acids and phospholipids) [30] while CA and JO gave strong absorption at 985 cm-1 due to the presence of carbohydrates (from C-O or C-C bonds) [31]. In contrast to this, all the extracts gave absorption band at ~ 860 cm-1 , typical of anomeric region of carbohydrates [31], while PN extract gave the sharpest peak. The bands at ~1100 cm-1 are due to C-O

of alcohol group in CA and JO. The band at 852 cm-1 of CA extract refers to the presence of aromatic groups [32] of sporopollenin.

3.2 Synthesis and Characterization of Au Nanostructures

HEPES buffer, inherently a week reducing agent, is among the buffers widely utilized in synthesis of metallic nanostructures. Even though it can reduce Au3+ ions to metallic Au, during formation of stabilized Au NSs, its molar ratio to Au3+ ions poses critical importance as much as its pH [33]. In our study, we tested HEPES buffer at pH 6.0 and 7.4 (25 mM in both cases) to initiate Au NSs nucleation. As given in **Table 1**, we selected 25 mM pH 7.4, which improved nanostructure synthesis kinetics as well as that the pH was kept near to neutral. During the study, HEPES triggered Au NSs synthesis within 5-minutes.

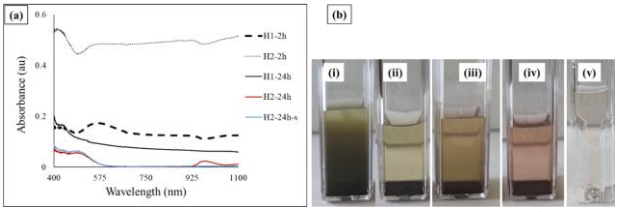


Figure 2: UV-Vis spectra (a) and digital micrographs (b) of HEPES synthesized Au NSs. (i) H1-2h, (ii) H1-24h, (iii) H2-2h, (iv) H2-24h and (v) H2-24-s, where s refers to the supernatant after centrifugation at 5000 rpm for 15 min.

As illustrated in **Figure 2**, at higher HEPES/Au3+ ratio a clear two SPR peaks at around 570 nm and 890 nm were obtained (H1-2h) with a green color, which started precipitating within 2 h (**Figure 2b-i**). As shown in **Figure 2b-ii**, all NSs precipitated within 24 h, where the supernatant did not give any SPR peak (H1-24h) around characteristic Au nanostructure range wavelengths (> 500 nm). In contrast to this, at lower HEPES/Au3+ ratio a wide SPR peak from 560-900 nm was obtained that refers to NSs over 200 nm [34]. Even though at lower ratio, precipitation was maximum within 2 h (**Figure 2b-ii**), its supernatant (**Figure 2b-iv**) gave 2 SPR peaks at ~ 503 nm (more of spherical with < 10 nm size) and at 980 nm (highly anisotropic Au NSs) (H2-24h). Centrifugation resulted in loss of the peak at 980 nm (H2-24h-s) along with decreased intensity of the supernatant's color (**Figure 2b-v**). Therefore, it can be said that at proper HEPES/Au3+ ratio (at pH 7.4 with 25 mM/4.41 mM) stable colloidal Au NSs can be obtained under the tested conditions. Anisotropic Au NSs in precipitates are shown in **Figure 3**.

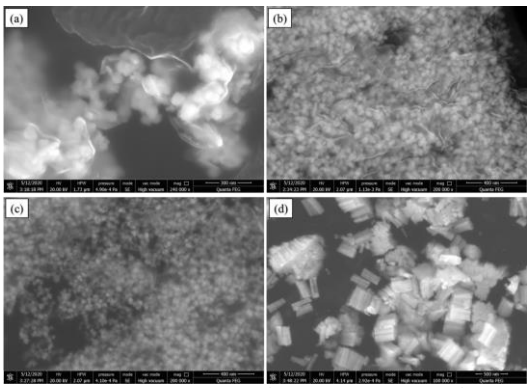


Figure 3: SEM micrographs of precipitated Au NSs for (a) HP2-24h-s, (b) PN2-24h-s, (c) JO2-24h-s and (d) PN4-24h-s.

Pollen grain extracts were applied to stabilize HEPES synthesized Au NSs in two ways as the extracts were mixed with HEPES buffer, followed by HAuCl4·H2O solution addition. In the second approach, pollen extracts were added to HEPES-HAuCl4·H2O mixture 1 min later. Both approaches allowed synthesis of stable spherical and anisotropic Au NSs (**Figure-3** and **-4**). The extracts at 1.95 mg/mL and 1.8 mg/mL concentrations were used for 2.94 mM and 4.41 mM Au3+ ion concentration, respectively.

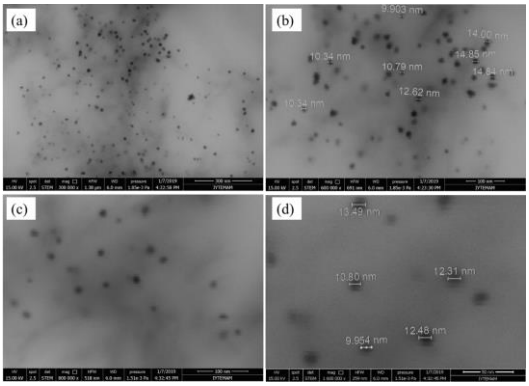


Figure 4: SEM micrographs of JO1-24h-s (a and b) and PN4-24h-s (c and d).

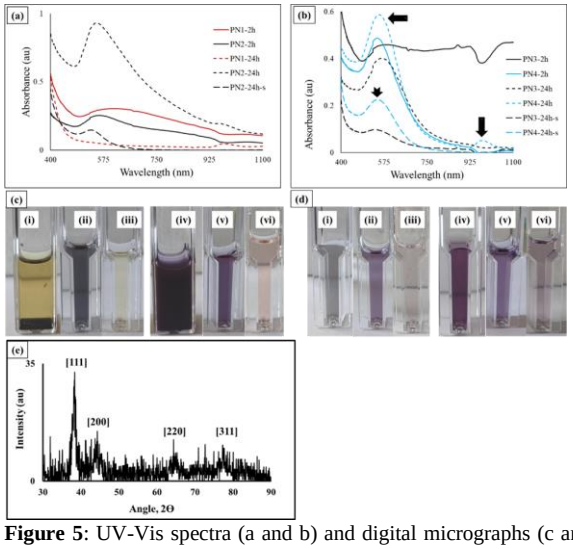


Figure 5: UV-Vis spectra (a and b) and digital micrographs (c and d) of *PN* extract stabilized Au NSs. In c, (i) PN1-2h, (ii) shaken and diluted PN1-2h, (iii) diluted PN1-24h, (iv) PN2-2h, (v) diluted PN2-24h and (vi) PN2-24h-s. In (d), (i) diluted PN3-2h, (ii) diluted PN3-24h, (iii) PN3-24h-s (iv) diluted PN4-2h, (v) diluted PN4-24h, and (vi) PN4-24h-s (s refers to the supernatant after centrifugation at 5000 rpm for 15 min). e) XRD pattern of PN4 indexed to *fcc* Au crystal structure (ICDD PDF no: 000-004-0784).

Introduction of pollen grain extracts posed dramatic effect on Au NSs formation and stability. **Figure 5a** reveals that PN1-2h have a wide SPR spectrum between 500-950 nm (Au NSs > 200 nm) that gave greenish color when the precipitate was shaken (**Figure 5c-ii**), which got lost upon 24 h incubation (PN1-24h). PN1 precipitated within 2h (**Figure 5c-i**) and gave a clear solution within 24 h (**Figure 5c-iii**). At higher PN extract/Au3+ ratio (PN2-2h and PN2-24h), stable Au NSs were obtained (**Figure 5c-iv** and **-v**). Even though PN2 protected its stability, centrifugation changed its color from purple (**Figure 5c-v**) to light pink (**Figure 5c-iii**). SPR peaks at 555 nm and 967 nm (PN2-24h) disappeared and only SPR peak at 540 nm (PN2-24h-s) remained through centrifugation (notched arrow in **Figure 5b**). This is attributed to enhanced gravity related precipitation of larger NSs (see **Figure 4**).

Figure 5b shows that PN3-2h gave a broad SPR spectrum from 520-950 nm, which then turned into a sharp single peak at 570 nm. Based on the literature, this observation can be related to that single NS gathered to form larger assemblies (greenish color, **Figure 5d-i**), followed by detachment to single Au NSs through adsorption/reaction of PN extracts on the formed Au NSs (purple color, **Figure 5d-ii**). Centrifugation, as expected, resulted in blue shifts (from 570 nm to 540 nm), whose color turned into pale pink (**Figure 5d-iii**). Interestingly, lower PN extract/Au3+ ion ratio gave faster maturation for Au NSs synthesis as seen in **Figure 5** (PN4-2h and PN4-24h) and in **Figure 5d** (**Figure 5d-iv and -v**). Similar to PN3, centrifugation altered the color of the supernatant (**Figure 5d-vi**). However, it should be noted that PN4-24 gave extra peak at 977 nm, representing nanorod formation (**Figure 3-d**). SPR peaks at NIR region can allow nanostructure to be considered for biomedical analyses [35], which type of NSs can be obtained using the pollen extracts, followed by benchtop centrifuge. Formation of nanorod bundle is probably related to presence of both α-helices and β-sheet protein content of PN extracts since proteins can serve as temple in gold nanorod synthesis [36].

It is known that HEPES mediated Au NSs give fcc crystal structure [22], so as an illustration crystal structure of pollen directed Au NSs synthesized in HEPES, PN4 was selected to exemplify the crystal structure of the synthesized Au NSs as shown in **Figure 5e**. Miller indices of (111), (200), (220) and (311) is the representation of fcc crystal structure (ICDD PDF: 000-004-0784; International Centre for Diffraction Data) [23].

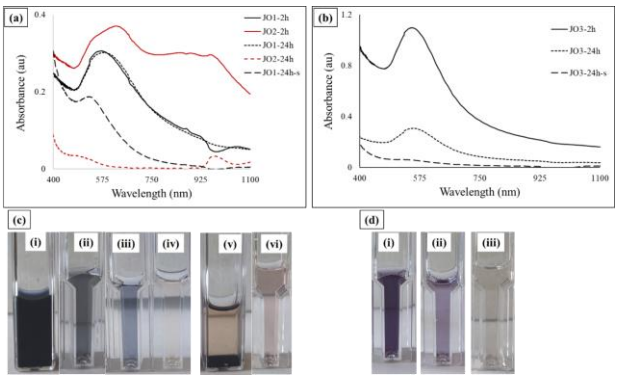


Figure 6: UV-Vis absorption spectra (a and b) and digital micrographs (c and d) of *JO* extract stabilized HEPES synthesized Au NSs. In c, (i) JO1-2h, (ii) diluted JO1-2h, (iii) diluted JO1-24h, (iv) JO1-24h-s (v) JO2-2h, and (vi) JO2-24h-s. In (d), (i) diluted JO3-2h, (ii) diluted JO3-24h, (iii) JO3-24h-s, where s refers to the supernatant after centrifugation at 5000 rpm for 15 min.

JO pollen grain extracts triggered maturation within two hours incubation (JO1-2h and JO1-24h) with a sharp SPR peak at 580 nm, whose centrifugation triggered blue shift (SPR peak shifted to 532 nm). No precipitation occurred within 24 h (**Figure 6c-i** and **-iii**) while centrifugation altered the color from blueish to pale pink (**Figure 6c-iv**). In contrast to this, at lower ratio (JO2) fully precipitated (**Figure 6c-v**), whose shaken version gave greenish color (**Figure 6c-vi**) with an SPR spectrum resembling formation of dimer/trimer from single Au NSs [34]. Maturation of JO2 (JO2-24h) gave two SPR peaks at 502 nm and 975 nm, which refer to anisotropic Au NSs formation, whose centrifugation resulted in colorless supernatant with no SPR peak (data not shown). As shown in **Figure 6b**, addition of the extract after mixing HEPES and HAuCl4·H2O solutions gave stable purple colored solution (**Figure 6d-i and -ii**) with SPR peaks at ~ 562 nm, whose centrifugation caused blue shift to 532 nm (JO3-24h-s) with very pale pink color (**Figure 6d-iii**).

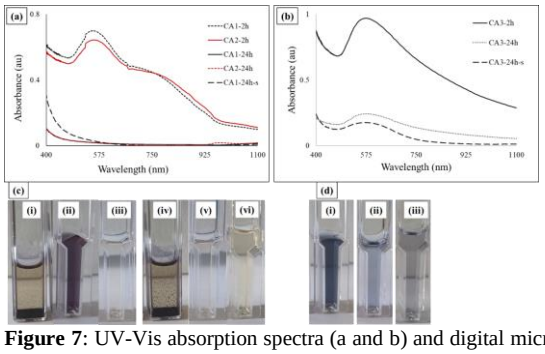


Figure 7: UV-Vis absorption spectra (a and b) and digital micrographs (c and d) of CA extract stabilized HEPES synthesized nanostructured. In c, (i) CA1-2h, (ii) shaken and diluted CA1-2h, (iii) CA1-24h, (iv) CA2-2h, (v) CA2-24h and (vi) CA2-24h-s. In (d), (i) diluted CA3-2h, (ii) diluted CA3-24h, (iii) CA3-24h-s, where s refers to the supernatant after centrifugation at 5000 rpm for 15 min.

CA pollen grain extracts for both tested concentrations according to Approach 1 did not give stable Au NSs. Both CA1 and CA2 precipitated (**Figure 7c-i** and **-iv**) within 2 h, whose shaken mixture (**Figure 7c-ii**) gave two SPR peaks (CA1-2h and CA2-2h). Incubation up to 24 h resulted in clear supernatant (**Figure 7c-iii** and **-v**) and further centrifugation gave similar color (**Figure 7c-vi**). The supernatants at 24 h incubation (CA1-24h, CA2-

24h and CA2-24h-s) did not give any SPR peaks belonging to AuNSs. In contrast to these, CA pollen grain extracts triggered stable Au NSs formation in Approach 2. Two hours incubation (CA3-2h) gave SPR peak at 574 nm with strong bluish color while ripening gave red shift to 584 nm (CA3-24h), whose centrifugation reversed the SPR peak back to 547 nm (CA3-24h-s). Even though the intensity of the color changed during centrifugation to pale blue (**Figure 7d-iii**), the difference between **Figure 7c-i** and **-ii** is only related to the amount of aliquot placed into the cuvette for UV-Vis analysis. However, stability of CA mediated AuNSs were not high (completely clumped within 48 h and require extensive vortexing) so further morphological analysis were not performed. This could be related to that CA extract gave lesser amount of proteins and carbohydrates than PN and JO extract, where proteins and carbohydrates can serve as stabilizing agent [36,37].

In all cases 24 h was enough to complete Au NSs synthesis at room temperature. 48 h and 72 h incubation did not alter SPR peaks of any of the Au NSs in supernatants (data not shown). Au NSs in the precipitates are not expected to alter their morphology since they are isolated from the ligands found in the extracts. The pollen grain extracts were tested alone in the synthesis of Au NSs, but none of them initiated particle nucleation within 2 hours, that is why they were not tested alone. There was no correlation between antioxidant capacity and Au NSs formation/stability for the tested pollen grain extracts. In contrast to this, even though CA showed similar antioxidant capacity to PN extract, stable Au NSs were not obtained. However, chemical character of the pollen grain extracts posed dramatic effect on the Au NSs morphology and stability.

Since Au NSs synthesized using JO and PN extracts gave very characteristic SPR spectra and stable Au NSs, SEM and STEM based morphology analyses were performed for them. As seen from **Figure 4**, centrifugation mediated precipitation provided separation for large and smaller AuNSs. JO1-24h-s (**Figure 3**) gave spherical Au NSs with 11±2 nm size range while the precipitated of JO2-24h-s (Figure 4) gave 25±5 (~ 50 %) and 35±5 (~ 50 %) sized anisotropic Au NSs. Similarly, PN2-24h-s (**Figure 3**) gave ~ 12±2 nm sized spherical Au NSs, whose precipitate gave anisotropic Au NSs with sizes of 45±3 x 55±7 nm hexagonal and 25±3 x 32±3 nm hexagonal morphology (**Figure 4**). Besides, minor amount (<10 %) of spherical Au NSs with 15±5 nm diameter. Interestingly, precipitate of PN4-24-s gave rod shaped Au NSs with an average length of 302 ±5 nm and width of 55 ±10 nm (**Figure 4**), which gave two SPR peaks characteristics for nanorods (depicted with arrows in **Figure 5b**). This shows that introduction of pollen extract into HEPES/HAuCl4 mixture before reaction and/or after reaction can bring dramatic effect on the NS morphology and size. In the case of HEPES-mediated Au NSs synthesis (**Figure 4**), overwhelmingly tetragonal and hexagonal morphology with 70 x 80 ±5 nm, 80 x 80 ±5 nm size range and minor amount of rod-shaped with 143 x 35 nm sized Au NSs were obtained. It is possible that the supernatant of HP2 might have spherical and small sized (<20 nm) nanostructure based on **Figure 3**.

Due to the fact that colloidal Au NSs with high purity and possible minimum size and shape diversity are critical for their applications, their synthesis and post-synthesis procedures have been under thorough investigations [34]. Centrifugation is a valuable approach to selectively isolate metallic nanostructures based on size and shape [38]. Centrifugation applied to the Au NSs synthesized in the presence of pollen extracts allowed separation of differently sized Au NSs with characteristic morphology. It is possible that further refinement for narrower size and shape separation with centrifugation [34], which can tune the collected Au NSs samples. Another important thing is that anisotropic NSs have critical places in catalysis, sensor support materials, optics and electronics [39,40]. Therefore, their directed synthesis and isolation are critical. Particularly, synthesis of rod shaped nanostructures possessing > 100 nm length requires extreme conditions and use of toxic chemicals like CTAB [41]. Hereby, we synthesized ordered very large Au NSs utilizing green chemistry through the use of pollen extracts.

4. CONCLUSION

Greener approaches in synthesis of metallic nanostructures are among the most widely studied routes for nanostructure studies. Hereby, we utilized water extracts of pollen grains from three different pollen species using HEPES buffer as initiator of gold (iii) ion. Type of pollen species and introduction method of pollen extract to direct shape and size growth posed dramatic effect on the synthesized AuNSs in relation to the chemical composition of the pollen extracts. Reduction capability of the pollen extract did not give any correlation for the speed of Au NSs synthesis and morphology control because of the fact that these groups provided radical scavenging activity, did not serve as stabilizing agent. 24 h was enough to have mature Au NSs under ambient conditions. Based on the results, it is possible to have fine control on morphology and size on the synthesized Au NSs by controlling the ratio of pollen extract/Au3+ ion, which can be further refined by using centrifugation at different centrifugal force. Based on our literature survey, this is the first study that reports on the synthesis of large gold nanorods using pollen extracts. Further qualitative and quantitative spectroscopic and chromatographic characterizations of the extracts are required to enlighten which functional groups play the most critical role in the size and shape directing effect on the Au NSs along with their stabilization..

Acknowledgements

Many thanks to Prof Muhammet S Toprak of KTH Royal Institute of Technology (Stockholm, Sweden) for his guidance and review of the manuscript. We also acknowledge BIOMER center of İzmir Institute of Technology and Central Research Laboratory of Kastamonu University for SEM studies. This study was supperted by Kastamonu University with the project number KÜ-BAP01/2018-33.

REFERENCES

[1] O. V. Kharissova, H.V.R. Dias, B.I. Kharisov, B.O. Pérez, V.M.J. Pérez, The greener synthesis of nanoparticles, Trends Biotechnol. 31 (2013) 240–248. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.003.

[2] P. Vijaya Kumar, S. Mary Jelastin Kala, K.S. Prakash, Green synthesis of gold nanoparticles using Croton Caudatus Geisel leaf extract and their biological studies, Mater. Lett. 236 (2019) 19–22. https://doi.org/10.1016/j.matlet.2018.10.025.

[3] V. V. Makarov, A.J. Love, O. V. Sinitsyna, S.S. Makarova, I. V. Yaminsky, M.E. Taliansky, N.O. Kalinina, "Green" nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants, Acta Naturae. 6 (2014) 35–44. https://doi.org/10.1039/c1gc15386b.

[4] M. Jamzad, M. Kamari Bidkorpeh, Green synthesis of iron oxide nanoparticles by the aqueous extract of Laurus nobilis L. leaves and evaluation of the antimicrobial activity, J. Nanostructure Chem. 10 (2020) 193–201. https://doi.org/10.1007/s40097-020-00341-1.

[5] A.A. Jenifer, B. Malaikozhundan, S. Vijayakumar, M. Anjugam, A. Iswarya, B. Vaseeharan, Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles (AgNPs) Using Leaf Extract of Solanum nigrum and Assessment of Toxicity in Vertebrate and Invertebrate Aquatic Animals, J. Clust. Sci. 31 (2020) 989–1002. https://doi.org/10.1007/s10876-019-01704-7.

[6] C. Engelbrekt, K.H. Sørensen, J. Zhang, A.C. Welinder, P.S. Jensen, J. Ulstrup, Green synthesis of gold nanoparticles with starch–glucose and application in bioelectrochemistry, J. Mater. Chem. 19 (2009) 7839. https://doi.org/10.1039/b911111e.

[7] N.N. Dhanasekar, G.R. Rahul, K.B. Narayanan, G. Raman, N. Sakthivel, Green chemistry approach for the synthesis of gold nanoparticles using the fungus Alternaria sp, J. Microbiol. Biotechnol. 25 (2015) 1129–1135. https://doi.org/10.4014/jmb.1410.10036.

[8] M. Jha, N.G. Shimpi, Green synthesis of zero valent colloidal nanosilver targeting A549 lung cancer cell : In vitro cytotoxicity, J. Genet. Eng. Biotechnol. 16 (2018) 115–124. https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.12.001.

[9] I. Chung, A.A. Rahuman, S. Marimuthu, A.V. Kirthi, K. Anbarasan, P. Padmini, G. Rajakumar, Green synthesis of copper nanoparticles using eclipta prostrata leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities, Exp. Ther. Med. 14 (2017) 18–24. https://doi.org/10.3892/etm.2017.4466.

[10] J.Y. Song, E.Y. Kwon, B.S. Kim, Biological synthesis of platinum nanoparticles using Diopyros kaki leaf extract, Bioprocess Biosyst. Eng. 33 (2010) 159–164. https://doi.org/10.1007/s00449-009-0373-2.

[11] Y. Xiaohui, S. Xiuqin, W. Yu, W. Wei, S. Yuhan, H. Lixue, Preparation of Spinous ZrO2 Microspheres with Tunable Shell and Chamber Structure by Controlling Pollen as a Nanoparticles Reactor, J. Nanosci. Nanotechnol. 11 (2011) 10369–10373. https://doi.org/10.1166/jnn.2011.5020.

[12] S. Hajebi, M. Homayouni, T. Mahboobeh, N. Moghaddam, F. Shahraki, Rapeseed flower pollen bio - green synthesized silver nanoparticles : a promising antioxidant , anticancer and antiangiogenic compound, JBIC J. Biol. Inorg. Chem. 24 (2019) 395–404. https://doi.org/10.1007/s00775-019-01655-4.

[13] H. Banu, N. Renuka, S.M. Faheem, R. Ismail, V. Singh, Z. Saadatmand, S.S. Khan, K. Narayanan, A. Raheem, K. Premkumar, G. Vasanthakumar, Gold and Silver Nanoparticles Biomimetically Synthesized Using Date Palm Pollen Extract-Induce Apoptosis and Regulate p53 and Bcl-2 Expression in Human Breast Adenocarcinoma Cells, Biol. Trace Elem. Res. 186 (2018) 122–134. https://doi.org/10.1007/s12011-018-1287-0.

[14] J.P. Sylvestre, S. Poulin, A. V. Kabashin, E. Sacher, M. Meunier, J.H.T. Luong, Surface chemistry of gold nanoparticles produced by laser ablation in aqueous media, J. Phys. Chem. B. 108 (2004) 16864–16869. https://doi.org/10.1021/jp047134.

[15] B.G. Pummer, H. Bauer, J. Bernardi, B. Chazallon, S. Facq, B. Lendl, K. Whitmore, H. Grothe, Chemistry and morphology of dried-up pollen suspension residues, J. Raman Spectrosc. 44 (2013) 1654–1658. https://doi.org/10.1002/jrs.4395.

[16] Z.F. Feng, X.F. Chen, D.L. Di, Online extraction and isolation of highly polar chemical constituents from Brassica napus L. pollen by high shear technique coupled with high-performance counter-current chromatography, J. Sep. Sci. 35 (2012) 625–632. https://doi.org/10.1002/jssc.201100992.

[17] N.M. Pinar, K. Gu, A. Yildiz, M. Smith, A 2-year aeropalynological survey of allergenic pollen in the atmosphere of Kastamonu , Turkey, Aerobiologia (Bologna). 28 (2012) 355–366. https://doi.org/10.1007/s10453-011-9240-0.

[18] Y. Türkmen, T. Çeter, N.M. Pinar, Analysis of airborne pollen of Gümüşhane province in northeastern Turkey and its relationship with meteorological parameters, Turk. J. Botany. 42 (2018) 687–700. https://doi.org/10.3906/bot-1712-39.

[19] M. Mujtaba, M. Kaya, T. Ceter, An investigation of pollen grain thermal diversity on species level, Commun. Fac. Sci. Univ. Ankara Ser. C Biol. 27 (2018) 170–176. https://doi.org/10.1501/commuc.

[20] S. Seifert, V. Merk, J. Kneipp, Identification of aqueous pollen extracts using surface enhanced Raman scattering (SERS) and pattern recognition methods, J. Biophotonics. 9 (2016) 181–189. https://doi.org/10.1002/jbio.201500176.

[21] A. Acar, N.M. Pınar, F. Şafak, S. Silici, Analysis of Airborne Pollen Grains in Kayseri , Turkey, Karaelmas Fen ve Mühendislik Derg. 5 (2015) 79–88.

[22] B. Zimmermann, A. Kohler, Infrared spectroscopy of pollen identifies plant species and genus as well as environmental conditions, PLoS One. 9 (2014). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095417.

[23] J. Deng, W. Cheng, G. Yang, A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay, Food Chem. 125 (2011) 1430–1435. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.031.

[24] T. Hofmann, E. Visi-rajczi, L. Albert, Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays, Ind. Crop. Prod. 145 (2020) 111935. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111935.

[25] S. Castiglioni, P. Astolfi, C. Conti, E. Monaci, M. Stefano, P. Carloni, Morphological, physicochemical and FTIR spectroscopic properties of bee pollen loads from different botanical origin, Molecules. 24 (2019). https://doi.org/10.3390/molecules24213974.

[26] J. Depciuch, I. Kasprzyk, E. Drzymała, M. Parlinska-Wojtan, Identification of birch pollen species using FTIR spectroscopy, Aerobiologia (Bologna). 34 (2018) 525–538. https://doi.org/10.1007/s10453-018-9528-4.

[27] O. Anjos, A.J.A. Santos, T. Dias, L.M. Estevinho, Application of FTIR-ATR spectroscopy on the bee pollen characterization, J. Apic. Res. 56 (2017) 210–218. https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1289657.

[28] R. Lahlali, Y. Jiang, S. Kumar, C. Karunakaran, X. Liu, F. Borondics, E. Hallin, R. Bueckert, ATR-FTIR spectroscopy reveals involvement of lipids and proteins of intact pea pollen grains to heat stress tolerance, Front. Plant Sci. 5 (2014) 1–10. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00747.

[29] C.S. Pappas, P.A. Tarantilis, P.C. Harizanis, M.G. Polissiou, New method for pollen identification by FT-IR spectroscopy, Appl. Spectrosc. 57 (2003) 23–27. https://doi.org/10.1366/000370203321165160.

[30] J.D.I.K.O. Sadik, FTIR analysis of molecular composition changes in hazel pollen from unpolluted and urbanized areas, Aerobiologia (Bologna). 33 (2017) 1–12. https://doi.org/10.1007/s10453-016-9445-3.

[31] M. Kędzierska-Matysek, A. Matwijczuk, M. Florek, J. Barłowska, A. Wolanciuk, A. Matwijczuk, E. Chruściel, R. Walkowiak, D. Karcz, B. Gładyszewska, Application of FTIR spectroscopy for analysis of the quality of honey, BIO Web Conf. 10 (2018) 02008. https://doi.org/10.1051/bioconf/20181002008.

[32] F. Muthreich, B. Zimmermann, H.J.B. Birks, C.M. Vila-Viçosa, A.W.R. Seddon, Chemical variations in Quercus pollen as a tool for taxonomic identification: Implications for long-term ecological and biogeographical research, J. Biogeogr. 47 (2020) 1298–1309. https://doi.org/10.1111/jbi.13817.

[33] C. Engelbrekt, K.H. Sørensen, J. Zhang, A.C. Welinder, P.S. Jensen, J. Ulstrup, Green synthesis of gold nanoparticles with starch – glucose and application in bioelectrochemistry, J. Mater. Chem. 19 (2009) 7839–7847. https://doi.org/10.1039/b911111e.

[34] D. Steinigeweg, M. Schütz, M. Salehi, S. Schlücker, Fast and Cost-Effective Purifi cation of Gold Nanoparticles in the 20 – 250 nm Size Range by Continuous Density Gradient Centrifugation, Small. 7 (2011) 2443–2448. https://doi.org/10.1002/smll.201100663.

[35] X. Su, B. Fu, J. Yuan, Gold nanocluster-coated gold nanorods for simultaneously enhanced photothermal performance and stability, Mater. Lett. 188 (2017) 111–114. https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.11.051.

[36] R. Bhattacharya, C.R. Patra, S. Wang, L. Lu, M.J. Yaszemski, D. Mukhopadhyay, P. Mukherjee, Assembly of gold nanoparticles in a rod-like fashion using proteins as templates, Adv. Funct. Mater. 16 (2006) 395–400. https://doi.org/10.1002/adfm.200500347.

[37] I. Yazgan, A. Gümüş, K. Gökkuş, M.A. Demir, S. Evecen, H.A. Sönmez, R.M. Miller, F. Bakar, A. Oral, S. Popov, M.S. Toprak, On the effect of modified carbohydrates on the size and shape of gold and silver nanostructures, Nanomaterials. 10 (2020) 1–17. https://doi.org/10.3390/nano10071417.

[38] V. Sharma, K. Park, M. Srinivasarao, Shape separation of gold nanorods using centrifugation, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 106 (2009) 4981–4985.

[39] P. Priecel, H. Adekunle, R. Herrera, Z. Zhong, J. Antonio, Anisotropic gold nanoparticles : Preparation and applications in catalysis, Chinese J. Catal. 37 (2016) 1619–1650. https://doi.org/10.1016/S1872-2067(16)62475-0.

[40] N.D. Burrows, A.M. Vartanian, N.S. Abadeer, E.M. Grzincic, L.M. Jacob, W. Lin, J. Li, J.M. Dennison, J.G. Hinman, C.J. Murphy, Anisotropic Nanoparticles and Anisotropic Surface Chemistry, J. Phys. Chem. Lett. 7 (2016) 632–641. https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.5b02205.

[41] T. Ming, X. Kou, H. Chen, T. Wang, H.L. Tam, K.W. Cheah, J.Y. Chen, J. Wang, Ordered gold nanostructure assemblies formed by droplet evaporation, Angew. Chemie - Int. Ed. 47 (2008) 9685–9690. https://doi.org/10.1002/anie.200803642.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.818808 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Yeni Antrasen Bazlı Kopolimer Sistemi ve Grafen Kompozitlerinin Hazırlanması, Termal ve Elektriksel Özelliklerinin İncelenmesi

Fatih BİRYAN[1*]

[1]Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ, Türkiye
Fatih BİRYAN ORCID No: 0000-0001-9198-3329

**Sorumlu yazar: fatihbiryan@gmail.com*

(Alınış: 02.11.2020, Kabul: 18.11.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Kopolimer, Grafen kompozit, Termal davranış, Dielektrik, Elektriksel özellikler

Öz: Bu çalışma, antrasen içeren kalkon yan zincirli yeni kopolimer sisteminin termal ve elektriksel özelliklerini incelemeyi amaçlamıştır. Monomer ve kopolimerlerin yapıları FT-IR, ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR teknikleri kullanılarak karakterize edildi. Kopolimerlerin termal davranışları DSC ve TGA kullanılarak analiz edildi. Kopolimerdeki antrasen birimlerinin artmasıyla camsı geçiş sıcaklığının 123 °C'den 142 °C'ye yükseldiği gözlemlendi. Kopolimer matriksine % 4 grafen partikülleri ilave edilerek yarı-iletken kompozitler hazırlandı. Kopolimerlerin ve grafen kompozitlerinin dielektrik ölçümleri 100 Hz-20 kHz frekans aralığında empedans analizör tekniği kullanılarak incelendi. P(MMA-ko-AAPAc 0.43)'ın dielektrik sabiti grafenin ilavesiyle 5.21'den 273.28'e yükseldi. Kompozitlerin aktivasyon enerjisi değerleri, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak DC iletkenliği ölçülerek elde edildi. Aktivasyon enerjisi değerleri P(MMA-ko-AAPAc 0.16), P(MMA-ko-AAPAc 0.31) ve P(MMA-ko-AAPAc 0.43) için sırasıyla 0.320, 0.077 ve 0.040 eV olarak belirlendi.

Preparation of New Anthracene Based Copolymer System and Graphene Composites, Investigation of Thermal and Electrical Properties

Keywords
Copolymer, Graphene composite, Thermal behaviour, Dielectric, Electrical properties

Abstract: This study aimed to investigate the thermal and electrical behavior of the new copolymer system with chalcone side chain containing anthracene. The structures of monomer and copolymers were characterized using FT-IR, ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR techniques. The thermal behaviors of copolymers have been analyzed by using DSC and TGA. The glass transition temperature was increased from 123 °C to 142 °C with increasing the anthracene content in the copolymer. Semiconducting composites of copolymers have been prepared by adding 4% graphene particles to the copolymer matrix. The dielectric measurements of the copolymers were investigated using the impedance analyzer technique in the frequency range of 100 Hz-20 kHz. The dielectric constant is greatly increase from 5.21 to 273.28 for P(MMA-co-AAPAc 0.43) by the addition of 4% nanographene. The AC and DC conductivity of copolymer/graphene composites were measured. Furthermore, the activation energy values of the copolymer/4% graphene composites were obtained by measuring the DC conductivity as a function of temperature. The activation energy values of the copolymer/4% graphene composites were 0.320, 0.077 and 0.040 eV for P(MMA-co-AAPAc 0.16), P(MMA-co-AAPAc 0.31) and P(MMA-co-AAPAc 0.43), respectively.

1. GİRİŞ

Antrasen yan yana dizilmiş benzen halkalarından dolayı 14 delokalize elektronları ile genişletilmiş π-konjuge sisteme sahiptir. Antrasen üç aromatik halka içermesi, fotofiziksel ve benzersiz özellikleri sayesinde polimer bilimindeki birçok uygulamada uzun süredir çalışılmaktadır [1]. Atrasen konjuge yapısı kolay elektron haraketliliği sağladığından organik transistörler [2-4] ve OLED uygulamaları için ilgi çekici olmuştur [5-6]. Polimer yapısındaki antrasenin çarpıcı özelliklerini daha iyi anlamak için, metil metakrilat (MMA) gibi reaktif fonksiyonel gruplar içermeyen bir monomerle kopolimerlerinin hazırlanması faydalı olacaktır. Bu durumda, polimerizasyon sırasında büyüyen tekrar eden birimlerin antrasen ile etkileşime girmemesi önemlidir, çünkü bu polimer yapısının bozulmasına (ek dallanma, çapraz bağlanma) neden olabilir, bu da yapısal değişiklikleri tetikler ve dolayısıyla optik özellikleri değiştirir. MMA ana monomer olarak kullanıldığında, serbest radikal polimerizasyonu sırasında MMA'yı

polimerizasyon sistemine katarak büyüyen makromolekülün antrasen grubu ile etkileşime girdiği düşünülemez [7]. Daha önce yapılmış bir çalışmada MMA ile kopolimerizasyon için antrasen içeren bir monomer olarak 9-vinil antrasen kullanılmıştır [8]. Vinil grubunun a-karbon atomunun sterik etkisi sebebiyle polimerin dönüşümü ve molekül ağırlığı düşük kalmış ayrıca kopolimerdeki antrasen konsantrasyonu monomer karışımındakinden daha düşük olmuştur [9].

Bu çalışmada, antrasen halkası içeren bir hidroksi kalkon bileşiği ve bunun akriloil klorür ile reaksiyonu sonucunda yeni bir monomer sentezlenmesi amaçlandı. Ayrıca bu yeni monomer ile yapıdaki sterik engeli azaltmayı ve polimerizasyonu daha aktif hale getirmeyi hedefledik. Böylece yüksek konjugasyona sahip antrasen içeren kalkon grubunun kopolimerindeki konsantrasyon artışının termal ve elektriksel özellikler üzerindeki etkisi araştırıldı.

Polimerin yapısındaki konjugasyon ve polar fonksiyonel gruplar, dielektrik sabiti üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Dielektrik özellikler alternatif akıma (AC) bağlı olarak 100Hz ve 20 kHz frekans aralığında farklı sıcaklıklarda ölçüldü. Ayrıca kopolimerlerin ön denemelerinden sonra %4 grafen kompozitleri hazırlandı. Yarı iletken özellik göstermesi amaçlanan polimer grafen kompozitlerinin AC iletkenliğine ek olarak, DC iletkenlik ölçümleri de sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçüldü ve aktivasyon enerjileri hesaplandı.

2. MATERYAL VE METOT

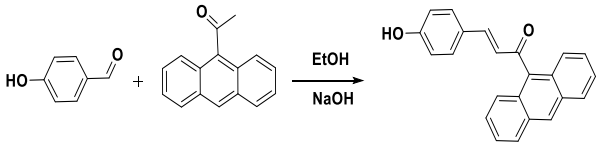
4-hidroksibenzaldehit, 9-asetil antrasen, akriloil klorür, metil metakrilat, sodyum hidroksit, tetrahidrofuran (THF), dimetilformamid (DMF), trietilamin (Et_3N), başlatıcı olarak kullanılan dikumil peroksit (DCP) ve etil alkol Sigma-Aldrich'ten temin edildi. Polimer kompozitlerin hazırlanmasında kullanılan nanografen (% 99.9, 5nm) Nanografi'den temin edilmiştir.

FT-IR spektrumları için Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR spektroskopisi kullanıldı. Monomer spektrumu KBr ile pelleti, kopolimer spektrumları NaCl penceresi yüzeyinde ince filmi hazırlanarak kaydedildi. NMR spektrumları AVANCE III 400 MHz Bruker NMR spektrometresi ile ölçülmüştür. NMR analizi için 500 µL döteryum çözücülerinde (d_6-DMSO veya d-kloroform) yaklaşık 20 mg numune çözündürüldü. GPC ölçümleri için 1 mL/dakikalık bir akış hızında tetrahidrofuran (THF) çözücüsü ve kalibrasyon için standart polistiren kullanıldı

Polimer ve polimer kompozitlerinin termal analizleri, TGA ve DSC teknikleri kullanılarak azot atmosferinde gerçekleştirildi. TGA ve DSC analizleri için sırasıyla Shimadzu TGA-50 ve DSC-50 modelleri kullanıldı. TGA analizleri 5 mg numuneler kullanılarak oda sıcaklığından 600 °C'ye 10 °C/dk ısıtma hızında, DSC analizleri ise 20 mg numuneler kullanılarak oda sıcaklığından 200 °C'ye 20 °C/dk ısıtma hızında kaydedilmiştir. Polimer kompozitlerin dielektrik karakterizasyonu için, numuneler (yaklaşık 100 mg) 5 bar basınç altında peletler halinde oluşturulmuştur. Dielektrik özellikler, HIOKI IM3536 LCR metre ile oda sıcaklığında 100Hz-20kHz frekans aralığında ölçüldü. Polimer/grafen kompozitin DC iletkenliği ve I-V karakteristiği FYtronix Electric Characterization sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Kopolimerlerin ortalama molekül ağırlıkları bir vakumlu gaz giderici ve bir kırılma indisi detektörü ile donatılmış Agilent 1100 sistemine sahip yüksek basınçlı bir sıvı kromatografi pompası kullanılarak gerçekleştirildi.

2.1. 1-(Antrasen-9-il)-3-(4-hidroksifenil) prop-2-en-1-on (AHPP) Sentezi İçin Genel Yöntem (AHPP)

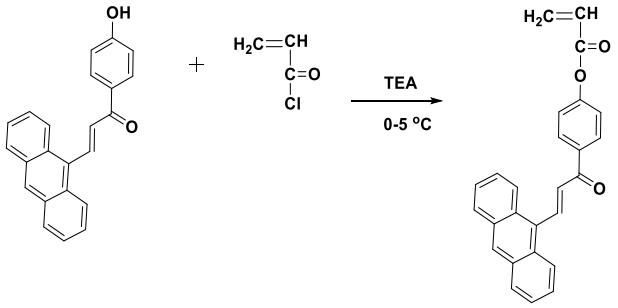
1-(Antrasen-9-il)-3-(4-hidroksifenil) prop-2-en-1-on bileşiği (AHPP), 4-hidroksibenzaldehidin, 9-asetil antrasen ile literatürdeki şartlara göre reaksiyonu sonucu hazırlandı [10]. AHPP'nin sentezi Şema 1'de gösterilmektedir.



Şema 1. 1-(Antrasen-9-il)-3-(4-hidroksifenil) prop-2-en-1-on bileşiğinin sentez şeması (AHPP)

2.2. 4-(3-(antrasen-9-il) akriloil) fenil akrilat monomerin (AAPAc) Hazırlanması

4-(3-(antrasen-9-il) akriloil) fenil akrilat monomeri (AAPAc), trietilamin varlığında 1-(Antrasen-9-il)-3-(4-hidroksifenil) prop-2-en-1 ve akriloil klorür'ün reaksiyonu sonucu sentezlendi. Susuz tetrahidrofuran (THF) içinde hazırlanmış 0.87 g (9.71 mmol) akriloil klorür çözeltisi, 0-5 °C sıcaklık arasında tetrahidrofuran içinde çözülmüş olan 3 g (9.25 mmol) AHPP ve 0.97 g (9.71 mmol) trimetilamin çözeltisine yavaş yavaş eklenmiştir. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 6 saat karıştırıldı. Elde edilen karışım süzüldü ve suda çöktürüldü. Son olarak, monomer 24 saat vakum altında kurutuldu. Monomerin sentezi Şema 2'de gösterilmektedir.

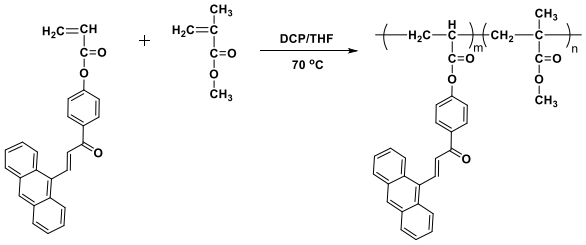


Şema 2. 4-(3-(antrasen-9-il) akriloil) fenil akrilat monomerin sentez şeması (AAPAc)

2.3. Kopolimerlerin Hazırlanması

Poly (AAPAc-ko-MMA), THF çözücünde, 70 °C'de 48 saat süreyle başlatıcı olarak DCP kullanılarak serbest

radikal polimerizasyon (SRP) prosedürüne göre hazırlandı. Aynı koşullar altında, farklı mol oranlarında kopolimerler sentezlendi. Kopolimerler, etil alkol içinde çöktürülerek saflaştırıldı. Kopolimerler vakum altında 40 ^{o}C'de bir gün kurutuldu. Kopolimerin yapısı Şema 3'te gösterilmektedir.



Şema 3. P(AAPAc-ko-MMA)'ın sentez şeması

Kopolimer sistemindeki MMA ve AAPAc'nin mol fraksiyonları, MMA birimleri için 3,63 ppm'de -OCH_3 protonlarının sinyalinin integral yüksekliğinden ve 6,99 ile 8,64 ppm arasında AAPAc'deki aromatik protonların integral yüksekliklerinden belirlendi. Kopolimer sistemdeki monomer oranları aşağıdaki denkleme göre hesaplandı:

$$C = \frac{MMA\ birimlerindeki\ -OCH_3\ protonlarının\ integral\ yüksekliği}{AAPAc\ birimlerindeki\ aromatik\ ve\ olafinik\ protpnların\ integral\ yüksekliği} = \frac{3m_2}{15m_1}$$

Kopolimerleri hazırlamak için başlangıçta kullanılan AAPAc ve MMA monomer bileşimleri ve integral yükseklikler Tablo 1'de özetlendi.

Tablo 1. Başlangıçta kullanılan AAPAc ve MMA monomer bileşimleri ve integral yükseklikleri

AAPAc	M_1[b]	AAPAc birimlerindeki aromatik ve olefinik protonların int. yüksekliği	MMA birimlerindeki $-OCH_3$ protonlarının integral yüksekliği	m_1[c]
	0.15	1.13	3.0	0.07
	0.30	3.41	3.0	0.16
	0.50	6.80	3.0	0.31
	0.60	11.64	3.0	0.43

m_1 and m_2 sırasıyla AAPAc ve MMA birimlerinin kopolimerdeki mol oranları

AAPAc ve MMA sisteminin başlangıç ve kopolimerindeki monomer bileşimi verileri Tablo 2'de verildi.

Tablo 2. Başlangıç ve kopolimerdeki monomer konsantrasyonu

Polimer	Monomerin başlangıç mol oranı		Monomerin kopolimerdeki mol oranı	
	(M_1)	(M_2)	(m_1)	(m_2)
P(MMA-ko-AAPAc 0.07)	0.15	0.85	0.07	0.93
P(MMA-ko-AAPAc 0.16)	0.30	0.70	0.16	0.84
P(MMA-ko-AAPAc 0.31)	0.50	0.50	0.31	0.69
P(MMA-ko-AAPAc 0.43)	0.60	0.40	0.43	0.57

M_1: AAPAc, M_2: MMA

2.4. P(AAPAc-ko-MMA)/Grafen Kompozitlerinin Hazırlanması

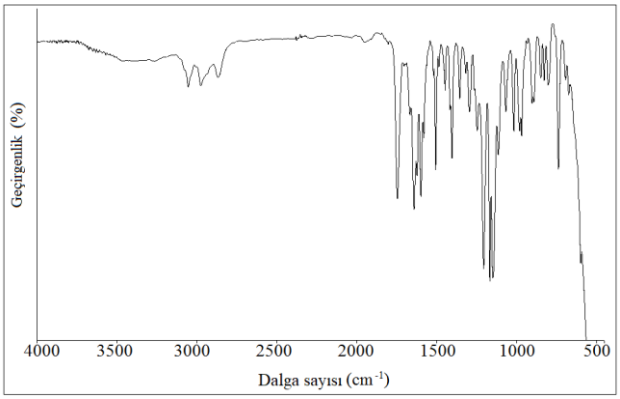
Kompozitleri hazırlamak için, önce tetrahidrofuran (THF) içinde çözülmüş poli(AAPAc-ko-MMA) üzerine kütlece % 4 grafen eklenerek mekanik olarak karıştırıldı. Daha sonra, grafenin kopolimer matris içinde homojen dağılımı için yaklaşık 2 saat süreyle ultrasonik dispersiyona tabi tutuldu. Sonunda çözücü tamamen uzaklaştırıldı ve kompozitler gece boyunca vakum altında 40 °C'de kurutuldu.

3. BULGULAR

3.1. Karakterizasyon

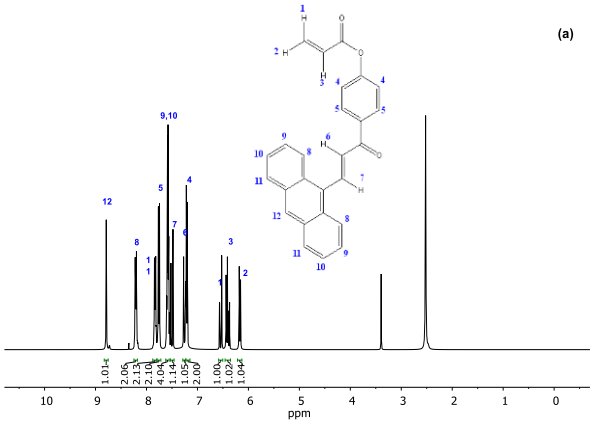
Monomerin FT-IR spektrumu (AAPAc) Şekil 1'de gösterilmektedir. AAPAc'nin ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumları sırasıyla Şekil 2(a) ve Şekil 2(b) 'de verilmiştir. Monomerin (AAPAc) karakteristik pikleri aşağıdaki gibi özetlenmiştir:

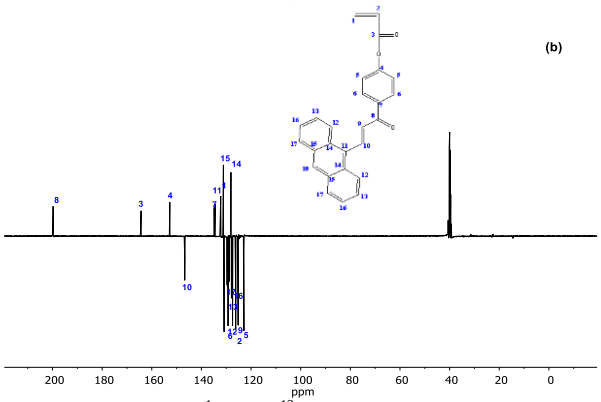
FT-IR: (υmax, cm^{-1}): 3055 (aromatik halkadaki C=C–H gerilme titreşimi), 2976-2858 (alifatik –C-H gerilmesi),1744 (akrilat grubundaki ester -C=O gerilmesi), 1640 (keton C=O gerilmesi), 1621 (vinil grubundaki -C=C gerilmesi), 1595 (aromatik halkadaki C =C gerilmesi).



Şekil 1. Monomerin FT-IR spektrumu **(AAPAc)**

^{1}H-NMR (DMSO, δppm): 6.17 (1H, H2), 6.42 (1H, H3), 6.53 (1H, H1), 7.19 (2H, H4), 7.29 (1H, H6), 7.52 (1H, H7), 7.58 (4H, H9 ve H10), 7.76 (2H, H5), 7.83 (2H, H11), 8.22 (2H, H8), 8.79 (1H, H12)

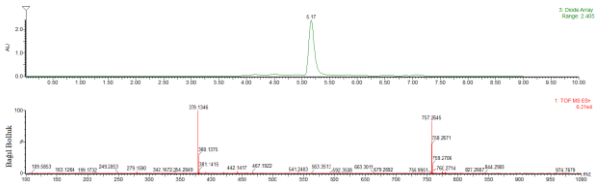




Şekil 2. a) Monomerin ^{1}H ve **b)** ^{13}C NMR spektrumları (AAPAc)

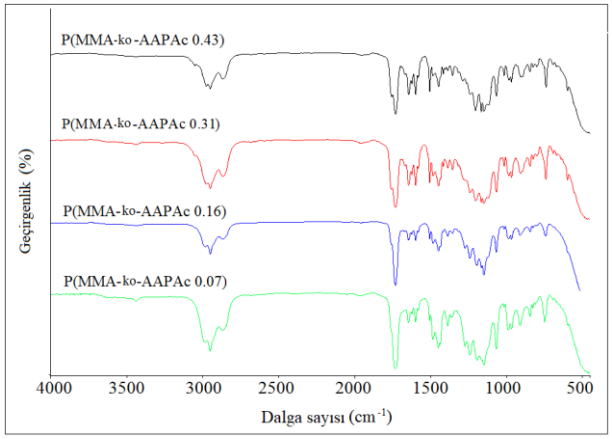
^{13}C-NMR (DMSO, δppm): 199.6 (C8), 164.3 (C3), 152.5 (C4), 146.7 (C10), 134.8 (C7), 134.5 (C11), 132.2 (C1), 131.0 (C15), 130.8 (C16), 129.6 (C2), 129.2 (C6), 128.7 (C13), 128.1 (C14), 127.9 (C17), 126.1 (C12), 125.1 (C9), 122.9 (C5), 121.2 (C18).

Ayrıca, yüksek çözünürlüklü kütle spektrumunda, m/z = 379.1346'daki pik monomerin moleküler iyonuna $[C_{26}H_{18}O_3]^+$ (%100) atfedilir. Yüksek çözünürlüklü kütle spektrumu Şekil 3'te gösterilmektedir.



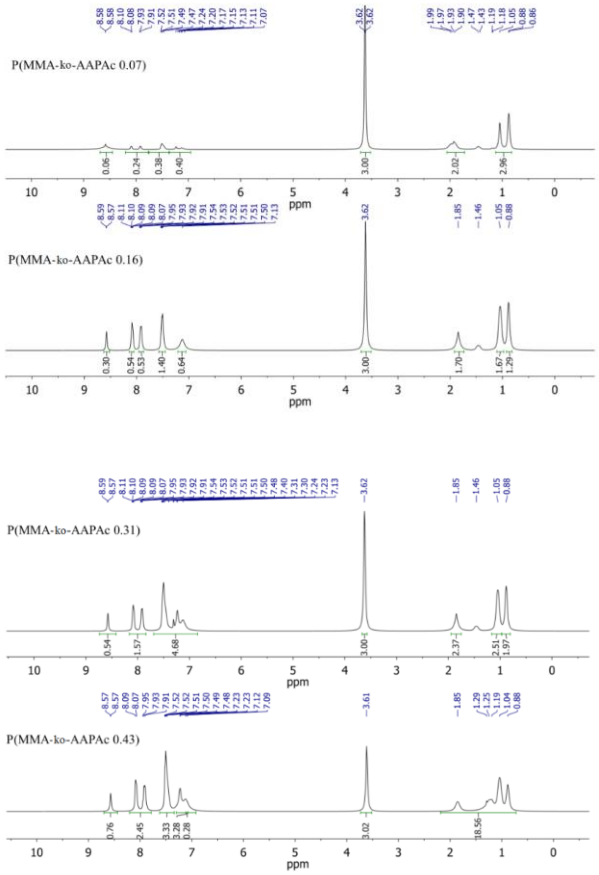
Şekil 3. Monomerin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumu (HRMS)

P(MMA-ko-AAPAc) kopolimer serisinin FT-IR spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4'te gösterilmektedir. Karakteristik pikler; (υmax, cm-1): 3055 (AAPAc birimlerinde aromatik halka üzerindeki -C=C-H), (1754 (AAPAc birimlerinde ester –C=O), 1730 (MMA birimlerinde ester –C=O) , 1644 (AAPAc birimlerinde keton karbonili -C=O), 1595 (AAPAc birimlerinde aromatik halka üzerindeki C=C).

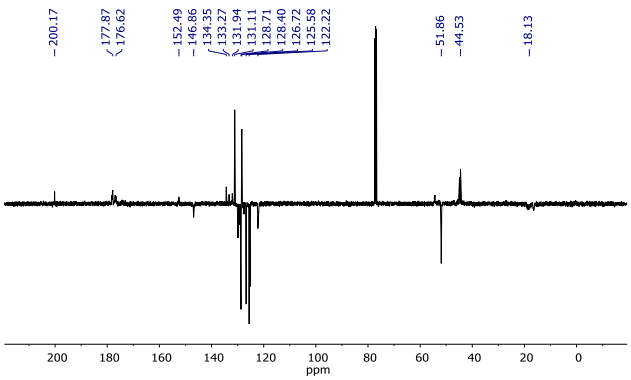


Şekil 4. P(MMA-ko-AAPAc) kopolimerlerinin FT-IR spektrumları

P(MMA-ko-AAPAc) kopolimer serilerinin ^{1}H-NMR spektrumları Şekil 5'te verilmiştir. Ana zincirdeki alifatik protonlar ve MMA birimlerindeki -CH_3 protonları 0.80-2.01 ppm aralığında gözlenmiştir. 3.62 ppm'de MMA birimlerindeki metoksi (-CH_3O) protonları, 7.01-8.58 ppm aralığında AAPAc birimlerindeki aromatik protonlar gözlendi. Aromatik protonların sinyal yoğunluğu, kopolimerde artan AAPAc birimlerinin konsantrasyonu ile artmaktadır. P(MMA-ko-AAPAc 0.43)'ın ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 6'da verilmiştir. 200.1 ppm keton (C=O karbon), 177.8 ve 176.6 ppm sırasıyla MMA birimleri ve AAPAc birimlerinde ester karbonili en karakteristik sinyallerdir. Aromatik karbonlar, AAPAc birimlerinde 152.5-122.2 ppm aralığında gözlendi. 51.86 ppm'de MMA birimindeki metoksi karbonu, 44.5 ppm'de ana zincir karbonları, 18,13 ppm'de ana zincirdeki –CH_3 karbonları gözlenmiştir.



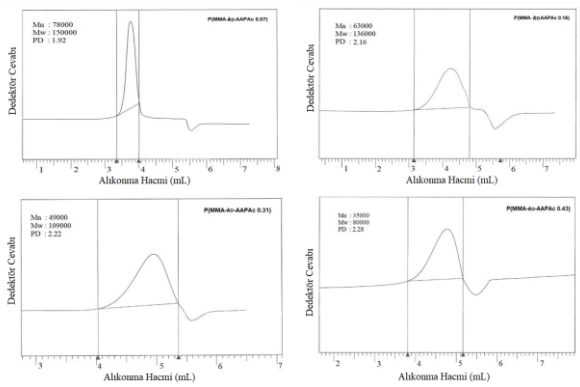
Şekil 5. P(MMA-ko-AAPAc) kopolimerlerinin ^{1}H-NMR spektrumları



Şekil 6. P(MMA-ko-AAPAc 0.43) kopolimerin^{13}C-NMR spektrumu

Kopolimerlerin ortalama moleküler ağırlıkları, jel geçirgenlik kromatografisi ile belirlendi. Kalibrasyon için standart PSt ve çözücü olarak THF kullanıldı.

Kopolimerler için polidispersite, sayıca (Mn) ve ağırlıkça (Mw) ortalama (Mn) moleküler ağırlıkları Şekil 7'de sunulmuştur.



Şekil 7. GPC curves of the P(MMA-ko-AAPAc)

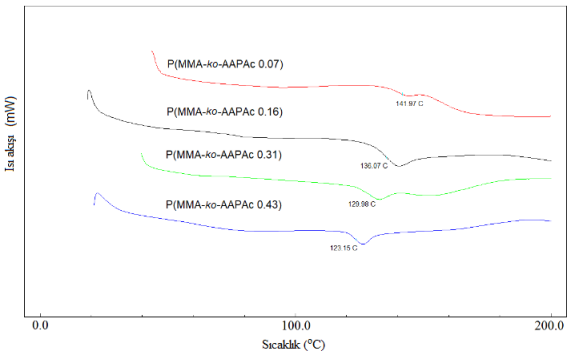
P(MMA-ko-AAPAc)'nın ortalama moleküler ağırlığı, kopolimer sistemdeki AAPAc birimlerinin içeriği arttıkça azalmaktadır. Bu azalmanın, AAPAc ünitelerindeki zincir transfer reaksiyonlarındaki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.2. Polimerlerin Termal Davranışı

3.2.1. DSC ölçümleri

Kopolimerlerin termal özellikleri göz önüne alındığında, polimerler için önemli özellik olan camsı geçiş sıcaklığına (Tg) dikkat çekmek gerekir. Plastiğin ısıtıldıktan sonra hızla soğuduğunda sertleşip kırılgan hale geldiği sıcaklığa camsı geçiş sıcaklığı denir [11]. Camsı geçiş sıcaklığında, polimer zincirlerini birbirine bağlayan zayıf ikincil bağlar kopar ve makromolekül hareket etmeye başlar. Bu sıcaklık (Tg), polimerin segmental zincir hareketliliğini anlamak için çok önemli ve karakteristiktir [12,13].

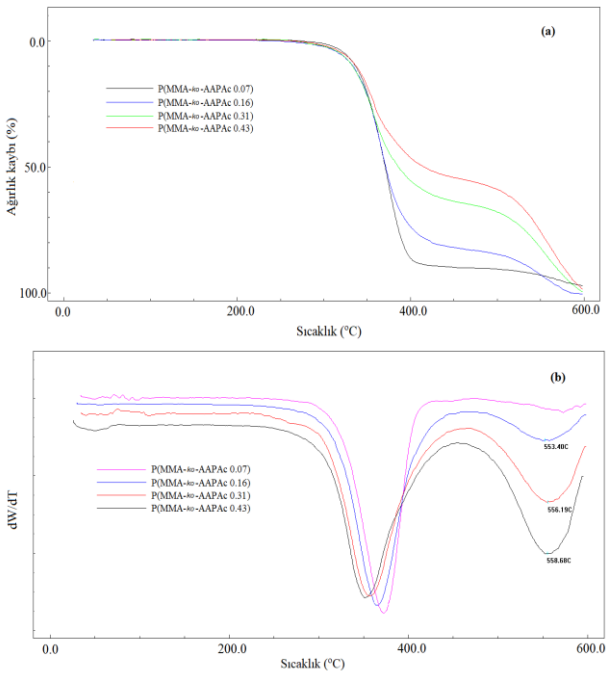
Kopolimerlerin Tg değerleri DSC'den elde edilen eğrilerden belirlendi. Kopolimerlerin DSC analizleri oda sıcaklığından 200 °C'ye kadar azot atmosferi altında 20 °C/dakika ısıtma hızında ölçüldü. Kopolimerlerin DSC eğrileri Şekil 8'de gösterilmektedir. Şekil 8'de görüldüğü üzere DSC eğrileri homojen fazlardır ve iki monomerin birbiriyle uyumlu olduğu anlamına gelir. Kopolimer bileşiminde AAPAc birimlerinin konsantrasyonu arttıkça Tg'de bir artış gözlendi. Tg, P(MMA-ko-AAPAc 0.07) kopolimeri için 123 ^{o}C ve P(MMA-ko-AAPAc 0.43) için 142 ^{o}C'dir. Bu davranış, muhtemelen, kopolimerin serbest hacmindeki azalmadan kaynaklanmaktadır. Bu durum zincirlerin hareketliliğini azaltır ve sonuç olarak cam geçiş sıcaklığı artar.



Şekil 8. Kopolimerlerin DSC eğrileri

3.2.2. Termogravimetrik analiz (TGA)

Termogravimetrik analiz (TGA), polimerik sistemlerin termal stabilitesini araştırmak için en uygun yöntem olarak bilinir [14]. TGA, kontrollü bir atmosfer altında numune ağırlığındaki değişiklikleri zaman ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak izleme imkânı verir. Elde edilen termogramlardaki ağırlık değişiklikleri genellikle reaksiyon kinetiği, ayrışma, kimyasal ve fiziksel parametrelerle ilişkilidir [15]. Kopolimerlerin termogravimetrik analizi, Shimadzu TGA-50 kullanılarak gerçekleştirildi. Yaklaşık 5 mg'lık numuneler bir platin numune kabına konuldu ve 10 °C dk^{-1} ısıtma hızında oda sıcaklığından azot atmosferi altında 600 °C'ye ısıtıldı. Şekil 9 (a), serbest radikal polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan kopolimerlerin karşılaştırmalı olarak TG termogramlarını gösterir.



Şekil 9. Kopolimerin **a)** TGA **b)** D-TGA eğrileri

Kopolimerlerin TGA sonuçları Tablo 3'te özetlenmiştir. Kopolimerlerin ilk ayrışma sıcaklıkları ($T_{baş}$) önemli ölçüde değişmezken, AAPAc birimi arttıkça % 50 kütle kaybına karşılık gelen sıcaklıkta önemli bir artış olduğu görülmüştür.

Tablo 3. Kopolimer serisinin termal özellikleri

Kopolimer	T_g(°C)	$T_{baş}$ (°C)	$T_{\%50}$ (°C)	500 °C deki % Atık	Tmax (in D-TG)
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.07)	123	319	363	10	373
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.16)	130	315	364	18	366
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.31)	136	316	382	33	357
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.43)	142	318	421	42	350

P(MMA-ko-AAPAc 0.07) için % T_{50} sıcaklığının 363 °C ve P (MMA-ko-AAPAc 0.43) için 421 °C olduğu belirlendi. Bu sonuçlara göre, kopolimerdeki AAPAc birimlerinin oranı arttıkça, polimer termal stabilite kazanır. Kopolimer serisinin TGA termogramları, iki aşamalı bir termal ayrışmayı ifade eder. İlk adım, zincir kırılmalarına yol açan PMMA'nın depolimerizasyonunu içerir. İkinci adım, kopolimerdeki antrasen içeriğinin artmasıyla daha net gözlenir. Bu davranışın nedeninin, ilk adımda başlayan zincir kırılmalarının yanı sıra AAPAc ünitesindeki antrasen grubunun ayrışmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kopolimer sistem için 500 °C'deki artık miktarları %10'dan %42'ye kadar değişmektedir. Kopolimerlerin türev eğrileri (D-TG) Şekil 9(b) 'de gösterilmektedir. Kopolimer sistemde AAPAc ünitelerinde artışla birlikte kopolimerin maksimum bozunma sıcaklıkları (Tmax) 373 °C'den 350 °C'ye düşmüştür.

3.3. Kopolimerlerin Dielektrik Özellikleri

Dielektrik özelliklerin belirlenmesinde Empedans analizi tekniği bu amaçla kullanılan en yaygın metottur [16]. Belirlenen frekans aralığı için kapasitans (Cp), kayıp faktörü (DF), iletkenlik (Gp) değerleri kaydedilir ve sırasıyla dielektrik sabiti (ε'), dielektrik kayıp faktörü (ε"), AC iletkenlik (σ_{ac}, S/cm) değerleri aşağıdaki denklemler (1-3) [17] kullanılarak hesaplanır.

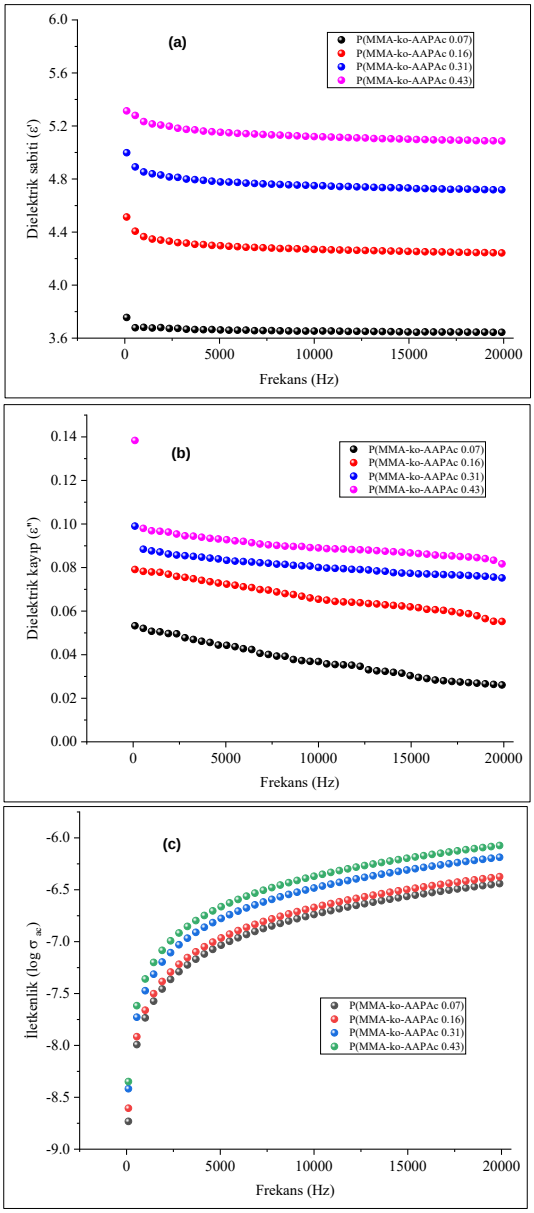
$$\varepsilon' = C_p \frac{d}{A\varepsilon_o} \quad (1)$$

Burada "Cp" kapasitans, "ε_o" boşluğun dielektrik sabiti (ε_o = 8.854 × 10^{-12} F/m), "d" polimer örneğinin et kalınlığı ve "A" numunenin alanını ifade eder.

$$\varepsilon'' = \varepsilon' DF \quad (2)$$

$$\sigma = G_p \frac{d}{A} \quad (3)$$

Burada d et kalınlığı, Gp konduktans ve A numunenin alanı (cm^2). Dielektrik sabiti, malzemenin polarlanabilirliğinin bir ölçüsüdür. Bir elektrik alanı altında malzemede kalıcı dipol oluşumundan kaynaklanan yönelim polarizasyonu ve moleküler polarizasyondan kaynaklanan elektronik ve iyonik polarizasyon, dielektrik sabitini belirleyen ana faktörlerdir. Kopolimerdeki antrasen birimlerinin artmasının dielektrik özellikler üzerindeki etkisini araştırmak için ε ', ε", σ_{ac} değerleri Şekil 10'da karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir.



Şekil 10. Saf kopolimerlerin a) ε', b) ε'' ve c) δ_{ac} değerlerinin frekansla değişim

Dielektrik sabiti ve dielektrik kayıp değerleri, artan frekansla azalmıştır [18]. Bunun nedeni, yönelim ve arayüz polarizasyonunun düşük frekans değerlerinde daha aktif olmasıdır. Dielektrik kayıp değerlerinde de benzer davranış gözlemlendi. Bu çalışmadaki en çarpıcı sonuç, kopolimerde antrasen ve konjuge kalkon grubu içeren AAPAc birimlerinin oranı arttıkça dielektrik özelliklerinin önemli ölçüde artmasıdır. 1 kHz'de 25 °C'de dielektrik sabiti P(MMA-ko-AAPAc 0.07) kopolimeri için 3.68 iken P(MMA-ko-AAPAc 0.43) kopolimeri için 5.21 idi. Bu artışın, AAPAc birimlerindeki kalkon ve antrasen gruplarının oluşturduğu π-konjugasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Polimerlerin dielektrik özellikleri, monomerin yapısındaki polar gruplar ve konjugasyon ile ilişkilidir [19]. Kopolimer serisinin dielektrik özellikleri Tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 4. Kopolimer serisinin 1kHz ve 25 ^{o}C deki dielektrik özellikleri

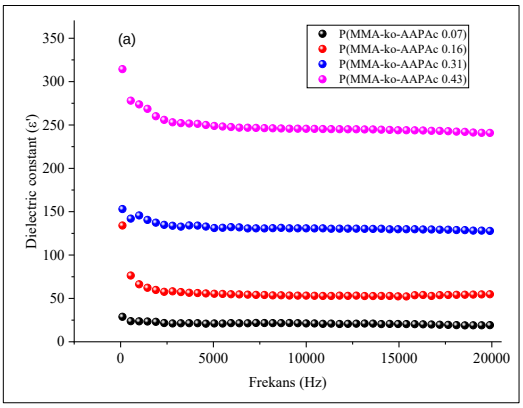
Kopolimer	ε'	ε''	σ(S/cm)
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.07)	3.68	0.050	$2.39x10^{-8}$
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.16)	4.35	0.077	$2.83x10^{-8}$
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.31)	4.84	0.087	$4.36x10^{-8}$
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.43)	5.21	0.096	$5.66x10^{-8}$

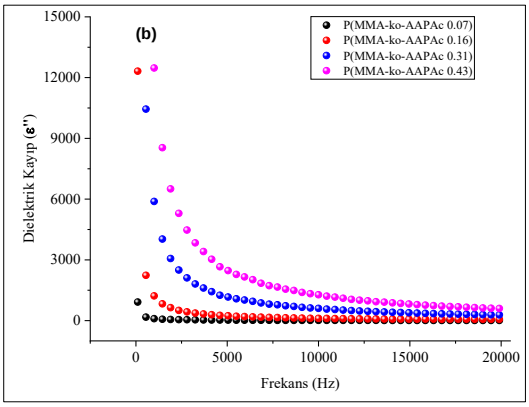
Saf kopolimerlerin ve kopolimer kompozitlerin dielektrik özellikleri, polar grubun yük dağılımının termal hareketi ile belirlenir. Dielektrik davranış, yönelme, iyonik ve elektronik polarizasyon nedeniyle oluşur. Antrasen birimleri içeren kopolimer serisinin elektriksel özelliklerine etkisini anlamak için % 4 nanografen içeren kompozitler hazırlanmıştır. Kompozitlerin dielektrik ölçümleri 100Hz-20 kHz frekans aralığında kaydedildi ve Şekil 11'de karşılaştırmalı olarak gösterildi. Şekil 11'de gösterildiği gibi, dielektrik sabiti %4 nanografen eklenmesiyle büyük ölçüde arttı. Bu davranış, elektrik alanı yönündeki dipollerin sayısındaki artıştan kaynaklanmaktadır. Bu artışın nedeni, kopolimerin yan grubuna bağlı olan antrasen ve kalkon gruplarının nanografen ve π bağları ile daha kolay etkileşmesidir. Literatürdeki diğer çalışmalarda da benzer davranışlar rapor edilmiştir [20,21]. Kopolimer serisinin %4 grafen kompozitlerinin 25 °C ve 1 kHz'de dielektrik ve elektriksel özellikleri Tablo 5'te özetlenmiştir.

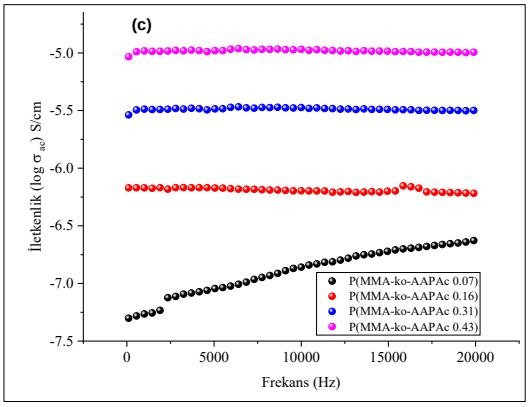
Tablo 5. Kopolimer serisinin %4 grafen kompozitlerinin 25 °C ve 1 kHz'de dielektrik ve elektriksel özellikleri

Kopolimer kompozit	ε'	ε''	σ(S/cm)
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.07)	23.43	82.7	$5.44x10^{-8}$
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.16)	64.26	926.6	$6.70x10^{-7}$
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.31)	144.21	5131.8	$3.28x10^{-6}$
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.43)	273.28	9604.62	$1.04x10^{-5}$

Kopolimer serisinde en yüksek dielektrik sabiti değeri, en çok AAPAc birimini içeren P(MMA-ko-AAPAc 0.43) kopolimeri olarak belirlenmiştir. Düşük grafen konsantrasyonunda dielektrik sabitindeki yüksek bir artış, P(MMA-ko-AAPAc)'nin fonksiyonel grupları (kalkon-antrasen) ile grafen partikülleri arasındaki indüklenmiş dipol-indüklenmiş dipol veya london-london fiziksel etkileşimlerinin olduğunu gösterir.







Şekil 11. P(AAPAc-ko-MMA)/grafen kompozitlerinin a) ε', b) ε'' ve c) δ_{ac} değerlerinin frekansla değişim

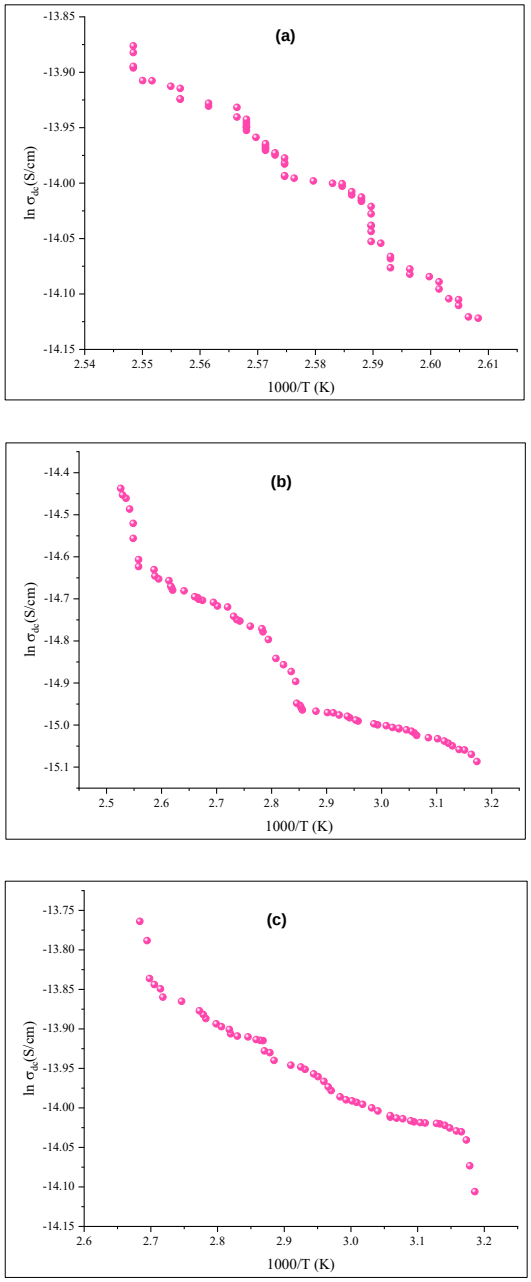
Kopolimer / grafen kompozitlerinin alternatif iletkenlik (σ_{ac}) değerleri frekansa karşı ölçüldü. Elde edilen sonuçlara göre, sabit bir sıcaklıkta σ_{ac} artan frekansla arttığı belirlenmiştir. P(MMA-ko-AAPAc 0.43) σ_{ac} değeri, 1 kHz ve oda sıcaklığında $5.66x10^{-08}$ S/cm'den $1.04x10^{-05}$ S/cm'ye yükselmiştir. En çok AAPAc birimini içeren P(MMA-ko-AAPAc 0.43) kopolimer kompoziti için yüksek iletkenlik (σ_{ac}) değeri, iyi arayüzey etkileşiminden ve kopolimer ile grafen arasındaki elektronik ve dipol polarizasyonundaki artıştan kaynaklanmış olabilir.

3.4. Kompozitlerin Elektriksel Özellikleri

Kompozitlerin yarı iletken özellikler gösterdiğini belirlemek için DC iletkenlik değerleri sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçüldü. Kompozitler oda sıcaklığından 100 ^{o}C'ye sabit bir ısıtma hızında kapalı fırında ısıtıldı. Ölçüm sırasında kompozitlere sabit voltaj (2V) uygulandı. Artan sıcaklıkla DC iletkenlik değerinin doğrusal artışı, hazırlanan kompozitlerin yarı iletken özelliklere sahip olduğunun önemli bir kanıtıdır [22]. Kopolimerler için optimum grafen içeriğini belirlemek için ön deneyler yapıldı. Bu deneylerde, kompozitler ağırlıkça % 1 ve% 2 grafen kullanılarak hazırlanmış ve DC iletkenlik ölçülmüştür. Ancak, hazırlanan bu oranlar için kompozitlerde beklenen yarı iletken özellikler oluşmadı. Bu nedenle tüm kopolimer kompozitlerde grafen içeriği ağırlıkça% 4 olarak seçilmiştir. Kompozitlerin aktivasyon enerjisi (Ea) aşağıdaki denklem (4) ile hesaplanır:

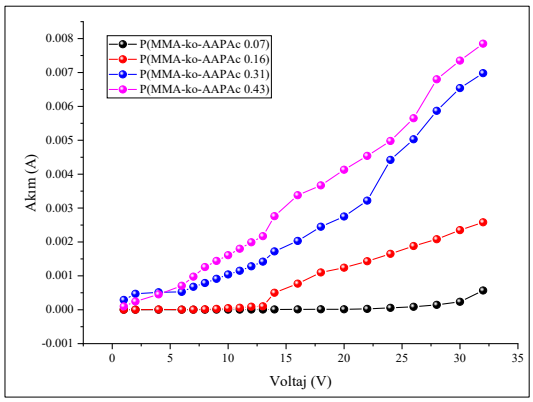
$$\sigma(w) = \sigma_0 exp\left(\frac{-\Delta E_a}{k_B\, T}\right) \quad (4)$$

Bu denklemde, "Ea" ile sembolize edilen aktivasyon enerjisi, "kB" ile sembolize edilen Boltzmann sabiti, "σ_o" ile sembolize edilen ön üstel faktör, "T" ile sembolize edilen mutlak sıcaklıktır. 1/T'ye karşı ln σ değerleri çizilerek elde edilen doğrunun eğimi aktivasyon enerjisi olarak alınır [23].



Şekil 12. %4 grafen içeren kopolimer kompozitlerinin a) P(MMA-ko-AAPAc 0.16), b) P(MMA-ko-AAPAc 0.31) ve c)P(MMA-ko-AAPAc 0.43) dc iletkenliğinin sıcaklıkla değişimi

Şekil 12'de görüldüğü gibi, kopolimer/grafen kompozitler için 1000/T'ye karşı iletkenlik verilmiştir. P(MMA-ko-AAPAc 0.16), P(MMA-ko-AAPAc 0.31) ve P(MMA-ko-AAPAc 0.43) aktivasyon enerji değerleri sırasıyla 0.320, 0.077 ve 0.040 eV'dir.



Şekil 13. Grafen kompozitlerin oda sıcaklığındaki I (akım)-Voltaj (V) eğrileri

Grafen kompozitlerin oda sıcaklığındaki I (akım)-Voltaj (V) eğrileri Şekil 13'de gösterilmektedir. Sabit voltajda kopolimer kompozit sistemlerde AAPAc içeriği arttıkça akım önemli ölçüde artmıştır [24].

4. SONUÇ

Bu çalışmada ilk olarak antrasen içeren hidroksi kalkon bileşiği ile yeni bir akrilat monomeri (AAPAc) sentezlendi. Bu monomer ile MMA monomeri kullanılarak serbest radikalik polimerizasyon yöntemine göre bir kopolimer serisi hazırlandı. Tüm yapılar FT-IR, ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR teknikleri kullanılarak karakterize edildi. Kopolimere kütlece %4 oranında grafen katkılanarak kompozitler hazırlandı. Bu kompozitlerin elektriksel özellikleri frekans ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak incelendi: Sonuç olarak% 4 grafen ilavesi ile elektriksel özelliklerinde dikkat çekici bir artış gözlendi. Kopolimer/grafen kompozitlerinin aktivasyon enerji değerleri, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak DC iletkenliği ölçülerek belirlendi. Aktivasyon enerjisi değerleri P(MMA-ko-AAPAc 0.16), P(MMA-ko-AAPAc 0.31) ve P(MMA-ko-AAPAc 0.43) için sırasıyla 0.320, 0.077 ve 0.040 eV olarak hesaplandı. Bu sonuçlar Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6. Kopolimer/4% grafen kompozitlerin Aktivasyon enerji değerleri

Kopolimer/grafen kompozit	Eğim	k	Ea (eV)
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.16)	3.788	0.086	0.320
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.31)	0.898	0.086	0.077
P(MMA-*ko*-AAPAc 0.43)	0.466	0.086	0.040

Aktivasyon enerjileri değerlendirildiğinde, grafen-antrasen konsantrasyonuna bağlı olarak birden fazla iletim mekanizması önerilebilir. Elektronik iletim, nispeten yüksek hareketlilik ve düşük Ea değeri ile tanımlanırken, iyonik iletim, yüksek Ea değerleri ve düşük hareketlilik ile karakterize edilir. Bu çalışmadaki Ea değerlerinin 0,8 eV'nin altında olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla elektronik iletim olarak kabul edilir [25].

KAYNAKLAR

[1] Jones RN. The ultraviolet absorption spectra of anthracene derivatives. Chem Rev, 41:1947:353-71.

[2] Dadvand A, Sun WH, Moiseev AG, Belanger-Gariepy F, Rosei F, Meng H, et al.1,5-, 2,6-and 9,10-distyrylanthracenes as luminescent organicsemiconductors. J Mater Chem C, 1: 2013:2817-25.

[3] Zhao Y, Yan L, Murtaza I, Liang X, Meng H, Huang W. A thermally stableanthracene derivative for application in organic thin film transistors. Org Electron, 43: 2017:105-11.

[4] Hisamatsu S, Masu H, Takahashi M, Kishikawa K, Kohmoto S. Pairwisepacking of anthracene fluorophore: hydrogen-bonding-assisted dimeremission in solid state. Cryst Growth Des, 15: 2015:2291-302.

[5] Song JY, Park SN, Lee SJ, Kim YK, Yoon SS. Novel fluorescent blue-emittingmaterials based on anthracene-fluorene hybrids with triphenylsilane groupfor organic light-emitting diodes. Dyes Pigm, 114: 2015:40-6.

[6] Chen M, Zhao Y, Yan L, Yang S, Zhu Y, Murtaza I, et al. A unique blend of 2-fluorenyl-2-anthracene and 2-anthryl-2-anthracence showing whiteemission and high charge mobility. Angew Chem Int Ed, 56: 2017:722-7

[7] Krakovyak MG, Anufrıeva EV, Lushchık VB, Shelekhov NS, Skorokhodov SS. 9-Anthryldiazomethane in the Synthesis of Anthracene- Containing Polymers. J Macromol Sci: Part A-Chem, 12: 1978:789-814.

[8] Skorokho SS, Krakovyak MG, Anufrıeva EV, Shelekhov NS. Investigation of chemical behavior of anthracene derivatives as monomers and reagents in synthesis of macromolecules containing anthracene groups. J Polym Sci, 42: 1973:1229-38.

[9] Krakovyak MG, Anufrieva YV, Skorokho SS. Synthesis and copolymerization of anthracene-containing acrylic monomers. Polym Sci USSR, 14(5): 1972:1259-64.

[10] Modzelewska A, Pettit C, Achanta G, Davidson NE, Huang P, Khan SR. Anticancer activities of novel chalcone and bis-chalcone derivatives. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 14: 2006; 3491-95.

[11] P. Dallas, V. Georgakilas, D. Niarchos, P. Komninou, T. Kehagias, D. Petridis. Synthesis, Characterization and Thermal Properties of Polymer/Magnetite Nanocomposites. Nanotechnology, 17: 2006: 2046-53.

[12] Biryan F, Demirelli K. Copolymerization of Benzyl Methacrylate and a Methacrylate Bearing, Benzophenoxy and Hydroxyl Side Groups: Monomer Reactivity Ratios, Thermal Studies and Dielectric Measurements. Fibers and Polymers, 18: 2017:1629-37.

[13] Mano JF, Koniarova D, Reis RL. Thermal properties of thermoplastic starch/synthetic polymer blends with potential biomedical applicability. J Mat Sci: Mat in Med, 14: 2003:127-35.

[14] Gama NV, Silva R, Mohseni F, Davarpanah A, Amaral VS, Ferreiraad A, Barros-Timmons A. Enhancement of physical and reaction to fire properties of crude glycerol polyurethane foams filled with expanded graphite. Polym Test, 69: 2018:199-207.

[15] Biryan F, Demirelli K. Characterization, thermal behavior, and electrical measurements of poly[4-(2-bromoisobutyroyl methyl)styrene]. Adv Polym Teghnol, 37: 2017:1994-2012.

[16] Zheng W, Wong SC. Electrical conductivity and dielectric properties of PMMA/expanded graphite composites. Comp Sci Technol, 63: 2003: 225-35.

[17] Xiang H, Zheng Z, Guang-Xin C, Qifang L. Composite material with high dielectric constant and low dielectric loss obtained through grafting of cyano groups in imidazolium ionic liquids. Chem Phys Lett, 711: 2018:173-77.

[18] Ningaraju S, Vinayakaprasanna NH, Gnana Prakash AP, Ravikumar HB. Free volume dependence on electrical properties of Poly (styrene co-acrylonitrile)/Nickel oxide polymer nanocomposites. Chem Phys Lett, 698: 2018:24-35.

[19] Tahaa TA, Azabb AA. Thermal, optical, and dielectric investigations of PVC/La0.95Bi0.05FeO3 nanocomposites. J Mol Str, 1178: 2019:39-44.

[20] Uyor UO, Popoola API, Popoola OM, Aigbodion VS. Enhanced dielectric performance and energy storage density of polymer/ graphene nanocomposites prepared by dual fabrication. J Thermoplast Comp Mat, 2018:1-16.

[21] Koran K. Structural, chemical and electrical characterization oforganocyclotriphosphazene derivatives and their graphene-basedcomposites. J Mol Str, 1179: 2019:224-32.

[22] Sudha LK, Sukumar R, Uma Rao K. Evaluation of activation energy (Ea) profiles of nanostructured alumina polycarbonate composite insulation materials. Int J Mater Mech Manuf, 2(1): 2014; p:1973-8198.

[23] Rhoderick, E.H., Williams, R.H., 1988. Metal–Semiconductor Contacts, 2nd ed. Clarendon Press, Oxford, s45-50.

[24] Pham H, Tran HN, Holland AS, Partrıdge JG. Temperature-Dependent Electrical Characteristics and Extraction of Richardson Constant from Graphitic-C/n-Type 6H-SiC Schottky Diodes. J Elec Mat, 48: 2019:2061-2066.

[25] Jonscher AK. Electronic properties of amorphous dielectric films, Thin Solid Films, 1(3): 1967:213-234.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 18-23, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 18-23, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.816464 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

The Effect of Optimum Insulation Thickness on Energy Saving and Global Warming Potential

Mehmet Kadri AKYÜZ[1*]

[1] Dicle University, School of Civil Aviation, Department of Airframe and Powerplant Maintenance, Diyarbakır,Turkey
Mehmet Kadri AKYÜZ ORCID No: 0000-0003-0229-2943

**Corresponding author: mkadri.akyuz@dicle.edu.tr*

(Alınış: 26.10.2020, Kabul: 23.11.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Keywords
Energy saving, Optimum insulation thickness, Environmental impact, Life cycle assessment

Abstract: Building and construction sector in Turkey has a significant share in total energy consumption. In addition, 45% of global CO_2 emissions are also caused by these sectors. The reduction of fossil fuels used for heating in buildings and the environmental impacts caused by them has become very important in terms of energy performance and environmental protection. The most effective method of reducing heat losses occurring on the external surfaces is thermal insulation. In this study, optimum insulation thickness, energy saving, cost saving, payback period and greenhouse gas emissions were calculated with respect to different fuels for Diyarbakır province. The novelty of this study is the determination of the environmental performance as well as the energy performance of the optimum insulation thickness. Calculations were performed considering three different fuels (natural gas, coal and fuel-oil). The optimum insulation thickness was calculated using the life cycle cost method. Global warming potential is expressed as kg CO_2 equivalent ($CO_{2eq.}$) and calculated by life cycle assessment method. The optimum insulation thickness was found as 0.057 m, 0.066 m and 0.089 m for natural gas, coal, and fuel oil respectively. Payback periods were calculated as 2.85, 3.57 and 2.05 years for natural gas, coal and fuel oil, respectively. Annual avoided environmental impacts for calculated optimum insulation thicknesses were found as 17.45, 51.28 and 26.7 kg CO_{2eq}/m^2 for natural gas, coal, and fuel oil respectively.

Optimum Yalıtımı Kalınlığının Enerji Tasarrufu ve Küresel Isınma Potansiyeli Üzerine Etkisi

Anahtar Kelimeler
Enerji tasarrufu, Optimum yalıtım kalınlığı, Çevresel Etki, Yaşam döngü değerlendirme

Öz: Türkiyede bina ve yapı sektörü toplam enerji tüketiminde önemli bir paya sahiptir. Ayrıca küresel CO_2 emisyonlarının %45'ine yine bu sektörler neden olmaktadır. Binalarda ısıtma amaçlı kullanılan fosil yakıtların ve bunların neden olduğu çevresel etkilerin azaltılması enerji performansı ve çevresel koruma adına çok önemli hale gelmiştir.Dış yüzeylerde meydana gelen ısı kayıplarını azaltmanın en etkili yöntemi ısı yalıtımıdır. Bu çalışmada, Diyarbakır ili için farklı yakıtlara göre optimum yalıtım kalınlığı, enerji tasarrufu, maliyet tasarrufu, geri ödeme süreleri ve sera gazı emisyonları hesaplanmıştır. Bu çalışmanın özgünlüğü optimum yalıtım kalınlığının enerji performansının yanı sıra çevresel performansının da belirlenmesidir. Hesaplamalar üç farklı yakıt (doğalgaz, kömür ve fuel-oil) dikkate alınarak yapılmıştır. Optimum yalıtım kalınlığı, yaşam döngüsü maliyet yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Küresel ısınma potansiyeli, kg CO_2 eşdeğer ($CO_{2eq.}$) olarak ifade edilmiş ve yaşam döngüsü değerlendirme yöntemi ile belirlenmiştir. Doğalgaz, kömür ve fuel-oil için optimum yalıtım kalınlığı sırasıyla 0.057 m, 0.066 m ve 0.089 m olarak bulunmuştur. Geri ödeme süreleri doğalgaz, kömür ve fuel-oil için sırasıyla 2.85, 3.57 ve 2.05 yıl olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan optimum yalıtım kalınlıkları için yıllık önlenen çevresel etkiler doğalgaz, kömür ve fuel-oil için sırasıyla 17.45, 51.28 ve 26.7 kg CO_{2eq} /m^2 olarak bulunmuştur.

1. INTRODUCTION

Residential buildings are responsible for 34% of total energy consumption. Thermal insulation applications are the most rational and easy method used for energy saving in buildings [1]. Since fossil fuels are used for heating purposes in buildings, thermal insulation application is also effective in reducing greenhouse gas emissions. Therefore, determining the optimum insulation thickness in buildings is important in terms of cost savings and environmental impact [2].

Requirements regarding the thermal insulation in Turkey are defined by TS 825 "Thermal Insulation Requirements for Buildings" [3]. For this reason, it is a requirement to determine the insulation thickness in terms of compliance with country standards, energy, and environmental saving. Minimum heat transfer coefficient (U) values required for building external components are specified in TS 825 for four different climate regions.

There are many studies in the literature on determining the optimum insulation thickness for different climate regions and fuels. In the calculations performed by life cycle cost (LCC) method, the heating degree day (HDD) and cooling degree day (CDD) values, which are a measure of the outdoor temperature, were used. In these studies, energy and cost savings have been determined with application of optimum insulation thickness (OIT) to the exterior walls of the building. Also, the economic and energy saving effects of different wall structures on OIT were also examined. In addition, economic payback period was calculated for OIT, which is determined by different insulation materials and heat sources, to the external walls. Bollutürk [4] determined optimum insulation thickness for 16 cities in Turkey with five different fuel types. Annual heating requirements of buildings in different climate regions were calculated by heating degree-days methods. Kaynaklı [5] determined the optimum insulation thickness for different fuels and architecture design in buildings in the sample of Bursa province. According to the fuel type, OIT values were found between 0.053 m and 0.124 m. Bollutürk [6] calculated optimum insulation thickness for Turkey's warmest zone. Also, energy savings and the economic payback period were determined. Uçar and Balo [7] calculated optimum insulation thickness for exterior walls located in four different climate regions. Energy saving and economical payback periods are determined for five different fuels and four different insulation materials. Ozel [8] calculated OIT for five different structure materials and two different insulation materials in the Elazig province example. According to the results, it was seen that OIT vary between 0.02m and 0.082m, and payback period vary between 1.32 and 10.33 years. Daouas [9] determined the OIT values for the exterior walls according to the annual heating and cooling load in different climate regions in Tunisia. Ekici et al. [10] calculated optimum insulation thickness, energy saving and payback period for various types of external walls with different insulation materials, fuels and climate regions. Rosti et al. [10] determined optimum insulation thickness for classic and modern walls. It has been concluded that some modern walls do not need insulation in various climate regions.

In some studies, the effects of OIT on global warming potential (GWP) were calculated by combustion equations of fuels. In these studies, the environmental impacts that will be prevented annually with the application of OIT have been determined [12-15]. In this study, OIT calculations for exterior walls were performed for Diyarbakır province. OIT for exterior walls were determined for different fuels and environmental impact were analyzed by the Life Cycle Assessment (LCA) method. In environmental analyzes, GWP was calculated according to IPCC 100a for different fuels and expressed as CO_2 equivalent. EPS has been chosen as the thermal insulation material due to its 80% market share in the exterior walls [20]. OIT and environmental calculations are performed for natural gas, coal and fuel oil. With the application of OIT, annual energy and environmental savings were calculated for each fuel. In addition, annual cost savings and economic payback periods are determined.

2. METHOD

In this study, OIT calculated for the exterior wall seen in Figure 1. The wall components consist of 2 cm inner plaster 20 cm brick and 3 cm outer plaster. EPS was chosen as thermal insulation material and natural gas, coal and fuel-oil were chosen as heat sources. Thermal properties and costs of these materials are shown in Table 1 [15].

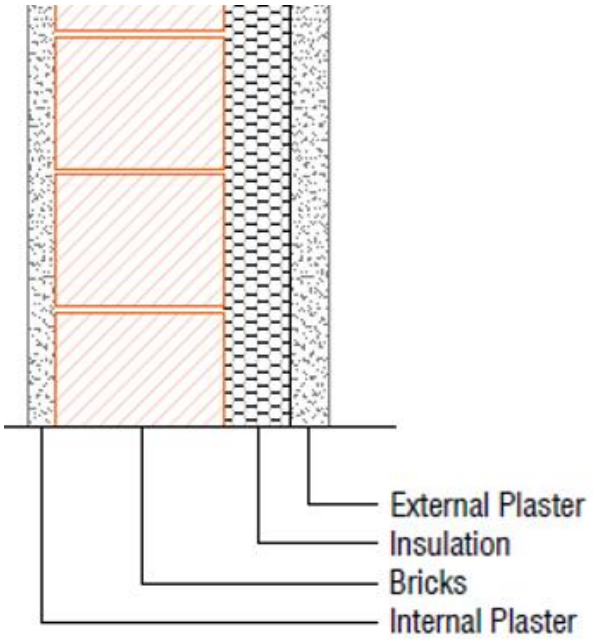


Figure 1. External wall strucrure

Table 1. Physical properties of external wall [15].

Wall structure	Thickness (m)	k (W/mK)	R(m^2K/W)
Internal plaster	0.02	0.87	0.023
Brick	0.2	0.486	0.411
External plaster	0.03	1.4	0.021
R_i			0.04
R_o			0.13

One of the most frequently used methods for determining the amount of energy required for heating is the heating degree day (HDD) method. The number of HDD can be calculated by Equation (1) [17,21].

$$HDD = \sum_{day} (T_b - T_0)^+ \quad (1)$$

T_b is equilibrium temperature and, T_o is mean outdoor temperature. The annual heat losses for the unit surface area can be calculated with the heat transfer coefficient (U) and degree - day values as in Equation (2) [17].

$$q_{,H} = \frac{86400 \times HDD \times U}{\eta} \quad (2)$$

η represent the efficiency of the heating system, The U value including the insulation can be calculate with Equation (3).

$$U = \frac{1}{R_i + R_w + R_{ins} + R_0} \quad (3)$$

R_i ve R_o are the thermal resistances of the air film inside and outside. R_w is the thermal resistance of the non-insulated surface and R_{ins} is represent the thermal resistance of the insulation;

$$R_{ins} = \frac{x}{k} \quad (4)$$

k and x are the thermal conductivity coefficient and thickness of the thermal insulation material, respectively. $R_{w,t}$ is the total thermal resistance of the non-insulated surface and can be calculated by Equation (5).

$$R_{w,t} = R_i + R_w + R_0 \quad (5)$$

The total heat transfer coefficient of the insulated surface is calculated by Equation (6).

$$U = \frac{1}{R_{w,t} + R_{ins}} \quad (6)$$

Annual energy need for heating ($E_{year,H}$) is determined by Equation (7).

$$E_{yearl_H} = \frac{86400 \times HDD}{(R_{w,t} + R_{ins}) \times \eta} \quad (7)$$

2.1. Optimum Insulation Thickness

Cost analysis should be done to calculate the optimum insulation thickness. Annual heating cost analysis for unit surface area can be calculated by Equation (8) [4, 22].

$$C_{A_H} = \frac{86400 \times HDD \times C_{fuel}}{(R_{w,t} + R_{ins})\, H \times \eta} \quad (8)$$

C_{A_H} is the annual heating cost for the unit area, C_{fuel} is the unit price of the fuel, H is the lower heating value of the fuel. The Present worth factor (PWF), is calculated by Equation (11) with interest and inflation rates [16].

İf i> g

$$r = \frac{i - g}{1 + g} \quad (9)$$

İf g> i

$$r = \frac{g - 1}{1 + g} \quad (10)$$

$$PWF = \frac{(1 + r)^{LT} - 1}{r \times (1 + r)^{LT}} \quad (11)$$

If i = g

$$PWF = \frac{N}{1 + i} \quad (12)$$

i, g and N represent interest rate, inflation rate and lifetime, respectively. In this study, similar to the studies in the literature, N is chosen for 10 years. The cost of the thermal insulation material is calculated by Equation (13).

$$C_{ins} = C_y \times x \quad (13)$$

$$C_{t_H} = C_{A_H} \times PWF + C_y \times x \quad (14)$$

C_{t_H} , is the cost of heating calculated on an insulated surface using LCC analysis. The optimum insulation thickness is calculated by minimizing heating costs. The optimum insulation thickness for heating is calculated by Equation (15)

$$x_{opt,H} = 293.94 \times \left(\frac{HDD \times C_{fuel} \times PWF \times k}{H \times C_y \times \eta} \right)^{1/2} - k \times R_{w,t} \quad (15)$$

2.1.1. Payback time

Total savings in annual heating costs are calculated by Equation (16) C_H is the pre insulation of heating cost. $A_{year,H}$ is the difference of annual total heating cost ($/m^{2}year).

$$A_{year} = C_H - C_{t_H} \quad (16)$$

Payback time (PBT) for heating is determined by Equation (17). Prices, lower heating values and efficiencies of heating systems are shown in Table 2. Parameters used in calculation are shown in Table 3.

$$PBT_H = \frac{C_{ins}}{A_{year_H}} \quad (17)$$

Table 2. Lower heating value, efficiencies, and prices of fuels [15-18]

Fuel	H_u	η	C_{fuel}
Natural Gas	34485000 J/m^3	0.9	0.36$/m^3
Coal	21112500 J/kg	0.65	0.196 $/kg
Fuel-Oil	41317000 J/kg	0.8	0.737 $/kg

Table 3. Parameter used in the calculation [16, 17].

Fuel	H_u
i	%9
g	%8.1
N	10 year
PWF	9.55
C_y	120 $/m^3
HDD	2142

2.2. Life Cycle Assessment

In this study, LCA was used to determine the environmental impacts of different heat sources on OIT. The gate to grave impact were examined and compared. According to ISO standards, an LCA study include four stages. These stages are goal and scope, life cycle inventory, life cycle impact assessment and interpretation [19].

The aim of the study is to determine the environmental benefits of thermal insulation to be applied on the wall surface. The effects of different fuels on annual environmental impact savings were evaluated. In this study, the functional unit is 1 m^2 thermal insulation material applied to the exterior walls. In environmental analyzes, GWP was calculated according to IPCC 100a for different fuels and expressed as CO_2 equivalent ($CO_{2eq.}$). LCA analyses were performed using SimaPro 9.0.0.35 software. The data used in the model were obtained from ecoinvent 3 database present in SimaPro. IPCC 2013 is the updated version of IPCC 2007, and it was developed by the International Panel on Climate Change. By this method, the impacts of climate change factors can be calculated for periods of 20, 100 and 500 years. In this study, the IPCC 2013 100a was used for calculating GWP.

3. RESULTS AND DISCUSSION

In this study, OIT has been calculated for Diyarbakır province considering different fuel types. These are natural gas, coal and fuel oil, respectively. Optimum insulation thickness, economic payback period (PP) and annual cost savings are calculated for each fuel. EPS has been chosen as the thermal insulation material due to its 80% market share in the exterior walls. OIT and PP for natural gas were found to be 0.057 m and 2.85 years, respectively. As seen in Figure 2, the lowest insulation thickness of the total cost is OIT. If the calculated OIT is applied, heat losses from the exterior walls reduce by 70% annually.

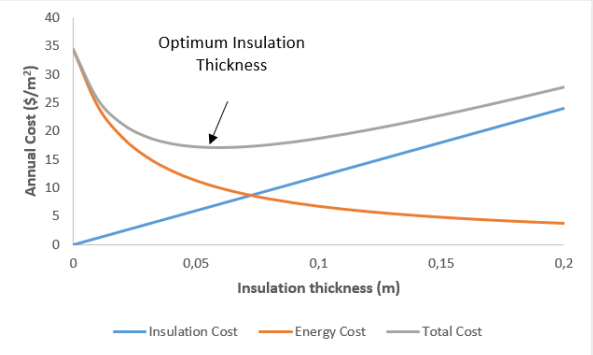


Figure 2. Annual cost of heating versus insulation- thickness for natural gas.

Figure 3 shows the heat losses and avoided environmental impact (AEI) based on insulation thickness. As the insulation thickness increases, heat losses from exterior surfaces decrease, the avoided environmental impact (AEI) increases. In the case of applying OIT (0.057 m), which is calculated for natural gas, 17.45 kg of $CO_{2eq.}$ is saved annually.

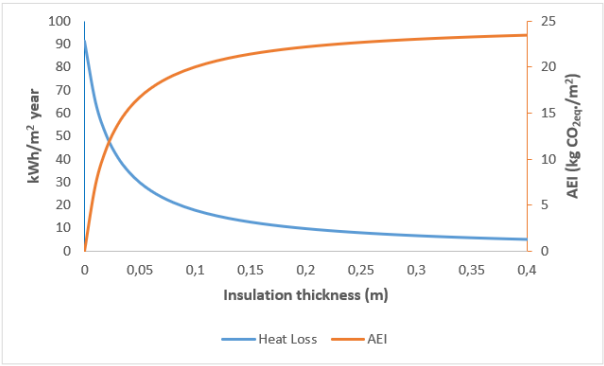


Figure 3. Heat loss and avoided environmental impact for natural gas.

As coal is used for the heat source, OIT was found to be 0.066 m as seen in Figure 4. PP was found to be 2.57 years if the OIT (0.066m) calculated for coal was applied. However, heat losses from the exterior walls will decrease by 73%.

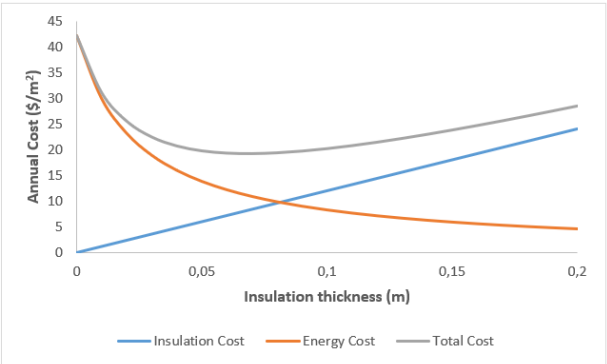


Figure 4. Annual cost of heating versus insulation- thickness for coal.

Figure 5 shows the heat losses and AEI based on insulation thickness. With the application of OIT determined for coal, the annual environmental savings calculated as 51.28 kg CO_{2eq}/m^2.

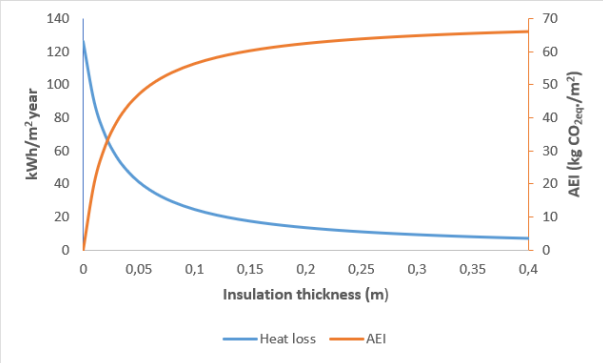


Figure 5. Heat loss and avoided environmental impact for coal.

Finally, OIT calculation was performed for fuel oil and it was found to be 0.089 m (Figure 5). PP is calculated as 2.06 years when fuel oil is used as the heat source and 0.089 m EPS is applied as insulation thickness. In addition, heat loss from external walls is reduced by 78%.

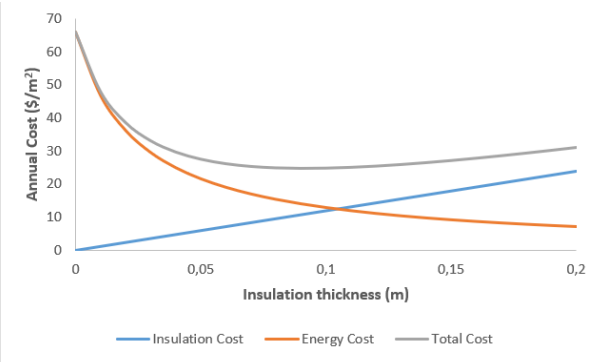


Figure 6. Annual cost of heating versus insulation- thickness for fuel oil.

In Figure 7, when fuel oil is used as a heat source, heat loss and AEI based on the insulation thickness can be seen. OIT value is calculated as 0.089 m for fuel oil and if applied, 26.7 kg of $CO_{2eq.}$ /m^2 is saved annually.

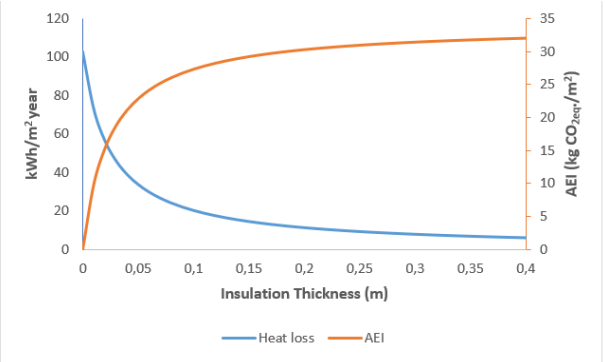


Figure 7. Heat loss and avoided environmental impact for fuel oil.

Table 4 shows the OIT, cost saving, payback pariod and avoided environmental impact values calculated for natural gas, coal and fuel oil. The highest OIT and annual savings are calculated as 0.089 m and 5.18 $/$m^2$ for fuel oil. Besides, the smallest PP value was found as 2.05 years for fuel oil. The avoided environmental impact was calculated for coal and this value was found as 51.28 kg $CO_{2eq.}$ /m^2

Table 4. OIT, cost saving, payback pariod and avoided environmental impact.

	Natural Gas	Coal	Fuel Oil
OIT (m)	0.057	0.066	0.089
Ayear,H ($/$m^2$)	2.4	3.09	5.18
PP (year)	2.85	2.57	2.05
AEI (kg $CO_{2eq.}$/m^2)	17.45	51.28	26.7

4. CONCLUSION

In this study, OIT was calculated for Diyarbakır with respect to different heat sources. OIT calculations were made using the life cycle cost (LCC) method. For each heat source, annual cost savings, energy savings and heat losses on external wall were evaluated. In addition, global warming potential (GWP) was evaluated with the life cycle assessment method. GWP effects were calculated using IPCC 100a and expressed in kg of CO_{2eq}. In this study, economic analyzes were carried out by LCC method and environmental analyzes were calculated by LCA method. OIT calculations should be supported by environmental impact assessments using the LCA method. The findings are summarized as follow:

1. The optimum insulation thickness (OIT) for natural gas, coal and fuel oil was found to be as 0.057 m 0.066 m and 0.089 m, respectively. Payback periods (PP) were calculated as 2.85, 3.09, 2.05 years, respectively.

2. With the application of OIT, which is calculated for natural gas, coal and fuel oil, heat losses on the exterior walls will decrease by 70%, 73% and 78% respectively. The cost savings to be achieved were 2.4, 3.09 5.18 $/$m^2$, respectively.

3. The reduction of heat losses on the external surfaces provides fuel savings. Therefore, environmental effects caused by the fuel are reduced. The environmental effects to be prevented annually with the application of the calculated OIT for each fuel are 17.45, 51.28, 26.7 kg CO_{2eq}./m^2 for natural gas coal and fuel oil, respectively.

REFERENCES

[1] National Energy Conservation Center. The Principles of Energy Management in Industry, Ankara 2006.

[2] Açıkkalp E, Kandemir SY. A method for determining optimum insulation thickness: Combined economic and environmental method. Thermal Science and Engineering Progress. 2019;11: 249-253.

[3] TS 825, Thermal insulation requirements for buildings. Turkish Standards Institute. 2008. Ankara.

[4] Bolattürk A. Determination of optimum insulation thickness for building walls with respect to various fuels and climate zones in Turkey. Applied thermal engineering. 2006; 26(11-12):1301-1309.
[5] Kaynakli O. A study on residential heating energy requirement and optimum insulation thickness. Renewable Energy. 2008;33(6):1164-1172.
[6] Bolattürk A. Optimum insulation thicknesses for building walls with respect to cooling and heating degree-hours in the warmest zone of Turkey. Building and environment. 2008; 43(6):1055-1064.
[7] Ucar A. Balo F. Determination of the energy savings and the optimum insulation thickness in the four different insulated exterior walls. Renewable Energy. 2010;35(1):88-94.
[8] Ozel M. Thermal performance and optimum insulation thickness of building walls with different structure materials. Applied Thermal Engineering. 2011;31(17-18):3854-3863.
[9] Daouas N. A study on optimum insulation thickness in walls and energy savings in Tunisian buildings based on analytical calculation of cooling and heating transmission loads. Applied Energy. 2011;88(1):156-164.
[10] Ekici BB, Gulten AA, Aksoy UT. A study on the optimum insulation thicknesses of various types of external walls with respect to different materials, fuels and climate zones in Turkey. Applied Energy. 2012; 92:211-217.
[11] Rosti B, Omidvar A, Monghasemi N. Optimal insulation thickness of common classic and modern exterior walls in different climate zones of Iran. Journal of Building Engineering. 2020; 27:100954.
[12] Dombaycı ÖA. The environmental impact of optimum insulation thickness for external walls of buildings. Building and Environment. 2007;42(11):3855-3859.
[13] Çomaklı K, Yüksel B. Environmental impact of thermal insulation thickness in buildings. Applied Thermal Engineering. 2004;24(5-6):933-940.
[14] Mahlia TMI, Iqbal A. Cost benefits analysis and emission reductions of optimum thickness and air gaps for selected insulation materials for building walls in Maldives. Energy. 2010; 35(5);242-2250.
[15] Küçüktopcu E, Cemek B. A study on environmental impact of insulation thickness of poultry building walls. Energy. 2018; 150:583-590.
[16] Evin D, Ucar A. Energy impact and eco-efficiency of the envelope insulation in residential buildings in Turkey. Applied Thermal Engineering. 2019; 154:573-584.
[17] Kurekci NA. Determination of optimum insulation thickness for building walls by using heating and cooling degree-day values of all Turkey's provincial centers. Energy and Buildings. 2016; 118:197-213.
[18] Aydin N, Biyikoğlu A. Determination of Optimum Insulation Thickness by Life-Cycle Cost Analysis for Residential Buildings in Turkey. Science and Technology for the Built Environment. (just-accepted), 2020;1-19.
[19] International Organization for Standardization. Environmental Management—Life Cycle Assessment—Principles and Framework; International Standard ISO 14040; ISO: Geneva, Switzerland, 2006.
[20] İZODER, 2018, Available from: https://www.izoder.org.tr/
[21] Bulut H, Büyükalaca O. Yılmaz T. Türkiye için isitma ve soğutma derece-gün bölgeleri. 16. National heat science and technique congress. Kayseri; 2007.
[22] Kaynaklı Ö, Kaynaklı F. Determination of optimum thermal insulation thicknesses for external walls considering the heating, cooling and annual energy requirement. *Uludağ* University Journal of The Faculty of Engineering. 2016;21(1):227-242.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 24-34, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 24-34, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.766470 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

γCuTi Nanotellerinin Germe Oranı ve Boyuta Bağlı Mekanik Davranışı

Vildan GÜDER[1*], Murat ÇELTEK[2]

[1] Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Edirne, Türkiye
[2] Trakya Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Edirne, Türkiye
Vildan GÜDER ORCID No: 0000-0002-8673-2127
Murat ÇELTEK ORCID No: 0000-0001-7737-0411

**Sorumlu yazar: vildanguder@trakya.edu.tr*

(Alınış: 09.08.2020, Kabul: 10.10.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
γCuTi Nanotelleri, Moleküler Dinamik Benzetimleri, Boyut Etkisi, Germe Deformasyonu, Elastisite Modülü

Öz: Bu çalışma, farklı boyutlarda γCuTi (B11) kristal nanotellerinin [001] yönündeki esneklik-kırılma mekanizmasını ve deformasyonunu gözlemek için ayrıntılı bir analiz sunmaktadır. Germe oranı ve boyut gibi değişkenlerin nanotelin mekanik özellikleri üzerine etkileri etkileşmelerin gömülü atom potansiyeli ile tanımlandığı moleküler dinamik benzetimleri ile incelenmiştir. Uygulanan dış değişkenlerin γCuTi nanotellerinin elastik ve plastik deformasyonları üzerindeki etkileri iki temel başlık altında özetlenmiştir. Nanotelin elastik tepkisinin yüksek germe oranı ve küçük boyut ile arttığı gözlenmiştir. Germe oranı etkisi ile Elastisite Modülünün karakterizasyonu arasında belirli bir bağlantı gözlenmezken, nanotel boyutunun istenen dayanıklılık mekanizmasını belirlemede daha etkin role sahip olduğu görülmüştür. Diğer yandan, düşük germe oranı ve küçük boyutun γCuTi nanotellerin kırılma dayanımını ve esnekliğini azalttığı izlenmiştir.

Strain Rate and Size Dependent Mechanical Behavior of γCuTi Nanowires

Keywords
γCuTi Nanowires, Molecular Dynamics Simulations, Size Effect, Tensile Deformation, Elasticity Modulus

Abstract: This study is a comprehensive analysis to observe the elasticity-fracture mechanism and the deformation in the direction of [001] of different size of γCuTi (B11) nanowires. The strain rate and size related effects on the mechanical properties of nanowires are investigated the molecular dynamic simulation in which all interactions were defined by the embedded atom potentials. The effects of these external variables on elastic and plastic deformations of γCuTi nanowires are summarized in two schemes. It is observed that the elastic response of nanowire increases with higher strain rate and smaller size. While no specific relation was observed between the effect of strain rate and the characterization of the Elasticity Modulus, the size of nanowire has more effective role in the engineering of the strength mechanism. On the other hand, the lower strain rate and smaller size reduce the fracture and ductility of γCuTi nanowires.

1. GİRİŞ

Yeni elektromekanik cihazların tasarımı, sistemin deformasyon mekanizmasının ve ilgili mekanik özelliklerinin iyi anlaşılabilmesinden geçmektedir. Bu cihazların ölçeği mikro ve nanometre boyutlarına düştüğünde, nanotellerin bulk (hacimsel) sistemlere kıyasla eşsiz mekanik ve geçiş özelliklerine sahip olmaları mühendislerin ve bilim insanlarının büyük ilgisini çekmiş ve doğal olarak nanoteller malzeme fiziğinin ilgi çekici alanlarından biri olmuştur [1]. Nanoteller nano-elektronik, nano-optoelektronik ve nano-mekaniğin potansiyel uygulamalarında güçlü ve kararlı olmaları [2,3] ile termal [4], mekanik [5], elektronik [6] ve optik özellikleri [7] nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda rapor edilen çalışmalar nanotellerin test edilmesi sırasında gözlenen süperelastisite, süperplastisite, geri kazanılabilir plastisite, esneklik dışı ve ultra yüksek mukavemet gibi eşsiz özelliklerin geleneksel bulk materyallerde gözlemlenmediğini göstermiştir [8]. Bu sonuçlar, her ne kadar yoğun çalışma icra edilmiş olsa da, karmaşık yüzey morfolojisi ve küçük boyuta sahip nanotellerde uygulanan deneysel yöntemlerin bu malzemeler hakkında sunduğu bilgilerin sınırlılığı nedenleriyle dış değişkenler altındaki deformasyon mekanizmasının detaylı incelenmesinin gerekliliğini ortaya koyar [9].

Germe oranı ve boyut gibi farklı dış koşullar altında germe koşullarının kontrol edilmesine izin veren MD benzetimleri, nanotellerin atomik ölçekteki mekanik deformasyonunun incelenmesi konusunda büyük avantajlara sahiptir. Liang ve ark. [10] gömülü atom metod (GAM) potansiyeli ile MD benzetimi kullanarak Cu nanotellerin [001], [110] ve [111] kristalografik yönleri boyunca esnekliğini incelemişler ve ilginç sonuçlar elde etmişlerdir. Bir başka çalışmada Cu nanotellerinin çekme davranışı üzerindeki gerilme oranının etkisi MD benzetim ile incelenmiş ve akma geriliminin, düşük germe oranlarından etkilenmediği, orta germe oranlarında arttığı ve çok daha yüksek germe oranlarında azaldığı izlenmiştir [11]. Chang ve ark. [12] 3 nm ile 20 nm arasında değişen boyuta sahip Ti nanotellerinin [0001] yönünde ve yüksek germe oranı altında boyuta bağlı deformasyon mekanizmasını araştırmışlar ve yüksek germe oranı altında deformasyon ikizlenmesi ve plastik bölgede hcp'den fcc'ye faz dönüşümü gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Ti nanotellerinin germe deformasyonu üzerinde germe oranı etkisini MD ile araştıran çalışmada 0.01 ps^{-1}'nin üzerindeki germe oranlarında nanotelin süperplastik davranışına neden olan düzensiz bir yapıya (amorf) geçiş yaptığı gözlemlenmiştir [13]. Ajori ve ark. [14] raporladıkları MD çalışmasında, metalik cam nanokompozitlerin burulma davranışının Cu nanotel ve C nanotüp katkılamasıyla karakterize edilebildiğini göstermişlerdir. Hem Cu hem de Ti nanotellerinde gözlenen bu birbirinden ilginç sonuçlar her iki elementin karıştırılması ile ortaya çıkan CuTi alaşımlarına ve nanotellerine olan ilgiyi de artırmıştır. Önceki yıllarda CuTi alaşımlarının hem temel metalürjisi hem de pratik uygulamaları üzerine ilginç sonuçlar sunan birçok araştırma gerçekleştirilmiştir [15–18]. Tetragonal CuTi intermetalik bileşenlerinin ilk prensip hesaplamaları ile yapısal, elastik ve termodinamik özelliklerinin incelendiği çalışmada örgü sabiti, elastik sabiti, bulk, kayma ve young modülü gibi özellikleri deneysel datalar ile tutarlı şekilde elde edilmiştir [19]. Chen ve ark. [20], CuTi intermetaliklerinin yapısal özelliklerini, faz kararlılıklarını, anizotropik elastik özelliklerini ve elektronik yapılarını yoğunluk fonksiyonel teorisine dayanan ilk prensip yaklaşımını kullanarak sistematik olarak araştırmışlardır. Vauth ve Mayr [21] MD benzetimleri kullanarak cam geçiş sıcaklığının altındaki metalik cam ince filmlerde atomik dinamikler üzerine araştırmalar gerçekleştirmişlerdir. Dalgic ve Celtek [22] γCuTi kristalinin erime sürecini ve sıvı CuTi alaşımının soğutma sürecindeki cam oluşum, kristalizasyon ve atomik yapısının gelişimini sıkı bağlı (Tigh-Binding) çok cisim potansiyeli kullanarak MD benzetimleri ile incelemişlerdir. Son zamanlarda ise, Rogachev ve ark. [23] CuTi metalik camındaki devitrifikasyon ve kristalleşme süreçlerini atomik benzetim yöntemlerini kullanarak araştırmışlardır. Semboshi ve Takasugi [18] hidrojen atmosferinde yaşlandırılarak yüksek mukavemetli ve yüksek iletkenliğe sahip CuTi alaşımlı bir tel modeli sunmuşlardır. Dahası, sensör uygulamaları için nano mimarili Ti_xCu_y ince filmlerin piezo dirençli yanıtı [24], katmanlı Ti / Cu / Ti kaplı malzemelerin mekanik tepkisi ve kırılmasında intermetalik bileşenlerin gelişimi [25] ve hızlı katılaşma sırasında sıvı metalik $Ti_{62}Cu_{38}$ alaşımının yapı oluşumu üzerindeki yüksek basıncın etkileri ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilmiştir [26]. Yukarıda bahsedilen çalışmaların ekseni CuTi sistemlerinin atomik yapısı, cam oluşumu ve kristalizasyon süreçleri üzerine yoğunlaşmışken mevcut bilgi ve literatür araştırmalarımız γCuTi nanotellerinin germe altında mekanik özellikleri üzerine herhangi bir araştırmanın yapılmadığı yönündedir. Çalışmamızda, literatürde gözlediğimiz bu eksiklikten yola çıkarak γCuTi nanotellerinin deformasyon mekanizmasını iyi anlayabilmek için, nanotellerin mekanik özelliklerinin germe oranı ve boyuta bağlı değişimi GAM potansiyeli ile birlikte MD benzetim yöntemi kullanılarak ayrıntılı bir şekilde inceledik. γCuTi nanotelinin tek eksenli germe deformasyonları, on farklı boyutta (1,2 nm, 2,2 nm, 3,4 nm, 4,3 nm, 5,2 nm, 6,2 nm, 7,7 nm, 9,3 nm, 10,8 nm ve 12,4 nm) ve beş farklı germe oranı altında ($3x10^{-3}$ ps^{-1}, $2x10^{-3}$ ps^{-1}, $1x10^{-3}$ ps^{-1}, $5x10^{-4}$ ps^{-1}ve $1x10^{-4}$ ps^{-1}) gerçekleştirilmiştir. Tüm sistemlerde akma ve kırılma meydana getirebilmek için % 100 germe uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar, yüzey geriliminin nanotellerin mekanik özelliklerindeki radikal değişiklikten sorumlu olduğunu ve yüzey etkisinin 1,2 nm boyutlu nanotelde en etkili olmak üzere 4,3 nm'den küçük boyutlu nanoteller için daha belirgin hale geldiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma, boyutun γCuTi nanotellerinin istenen mekanik özelliklerinin mühendislik uygulamasında germe oranından daha etkili olduğunu göstermiştir.

2. MATERYAL VE METOT

γCuTi nanotellerin mekanik özellikleri üzerine boyut ve germe oranı gibi iki dış değişkenin etkilerini araştırmak için Large-Scale Atomic-molecular Massively Parallel (LAMMPS) [27] açık kaynak kodu kullanılmıştır. Bütün benzetimlerde Cu-Cu, Cu-Ti ve Ti-Ti atom çiftleri arasındaki etkileşmeleri tanımlamak için daha önce metalik sistemlerin kırılma, kusur ve tane sınırları gibi özelliklerini açıklamakta [23,28–30] başarılı sonuçlar verdiği rapor edilen Zhou ve ark. [31] tarafından geliştirilen GAM potansiyeli kullanılmıştır. GAM potansiyelinin genel formu eşitlik 1. şeklinde ifade edilebilir:

$$E = \frac{1}{2}\sum_{i,j,i\neq j}\phi_{ij}(r_{ij}) + \sum_{i}F_i(\rho_i) \qquad (1)$$

burada ϕ_{ij} ve r_{ij} sırasıyla i ve j atomları arasındaki çiftler potansiyeli ve uzaklığı temsil eder. F_i, elektron yoğunluğu ρ_i 'nin

$$\rho_i = \sum_{i,j,i\neq j} f_j(r_{ij}) \qquad (2)$$

eşitlik 2. ile verildiği yerel bölgeye i atomun gömülmesi ile ilişkili gömme enerjisidir. İkili sistemler için model saf elementlerin elektron yoğunluğunun ($\rho_{Cu}(r)$, $\rho_{Ti}(r)$) , gömme enerjisinin ($F_{Cu}(\rho_i)$, $F_{Ti}(\rho_i)$) ve kendi türü içindeki etkileşme potansiyelinin ($\phi_{Cu,Cu}(r), \phi_{Ti,Ti}(r)$) ifadesi ile ikili

etkileşme potansiyelinin tanımını ($\phi_{Cu,Ti}(r)$) temsil eden yedi fonksiyon içerir. Aynı tipteki atomlar arasındaki çiftler potansiyelinin fonksiyonel formu eşitlik 3. şeklinde verilebilir;

$$\phi(r) = \frac{A\,exp\left\{-\alpha\left(\frac{r}{r_e}-1\right)\right\}}{1+\left(\frac{r}{r_e}-\kappa\right)^{20}} - \frac{B\,exp\left\{-\beta\left(\frac{r}{r_e}-1\right)\right\}}{1+\left(\frac{r}{r_e}-\lambda\right)^{20}} \quad (3)$$

burada A, B, α ve β dört farklı ayarlanabilir parametrelerdir. r_e en yakın komşu arasındaki denge mesafesidir. κ ve λ ise kesme parametreleridir [37]. Eşitlik 4.'de verilen elektron yoğunluğu fonksiyonu eşitlik 3.'de verilen çiftler potansiyelin ikinci kısmına çok benzerdir ve tek fark B parametresi yerine f_e kullanılmıştır:

$$\rho(r) = \frac{f_e\,exp\left\{-\beta\left(\frac{r}{r_e}-1\right)\right\}}{1+\left(\frac{r}{r_e}-\lambda\right)^{20}} \quad (4)$$

Cu ve Ti türleri arasındaki çiftler potansiyel formu eşitlik 5.

$$\phi_{Cu,Ti}(r) = \frac{1}{2}\left[\frac{\rho_{Cu}}{\rho_{Ti}}\phi_{Cu,Cu}(r) + \frac{\rho_{Ti}}{\rho_{Cu}}\phi_{Ti,Ti}(r)\right] \quad (5)$$

şeklinde verilir. Gömülü enerji fonksiyonu üç farklı elektron yoğunluğu aralığında fit edilerek

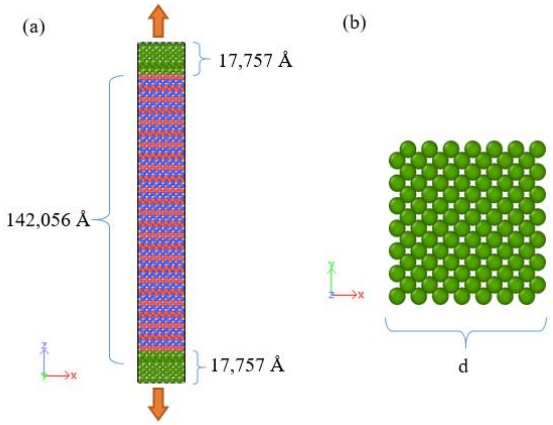
$$F(\rho) = \begin{cases} \sum_{i=0}^{3} F_{ni}\left(\frac{\rho}{\rho_n}-1\right)^i, & \rho < \rho_n, \quad \rho_n = 0.85\rho_e, \\ \sum_{i=0}^{3} F_i\left(\frac{\rho}{\rho_e}-1\right)^i, & \rho_n \le \rho < \rho_0, \quad \rho_0 = 1.15\rho_e, \\ F_e\left[1-ln\left(\frac{\rho}{\rho_s}\right)^\eta\right]\left(\frac{\rho}{\rho_s}\right)^\eta, & \rho_0 \le \rho \end{cases} \quad (6)$$

eşitlik 6. şeklinde parçalı fonksiyonla ifade edilir. Saf Cu ve Ti için GAM potansiyel parametreleri [31] Tablo 1'de verilmektedir. Potansiyel formu ve parametrizasyon yöntemi ile ilgili daha ayrıntılı bilgi için [28,30–32] kaynaklarına bakınız.

γCuTi nanotelin atomik ideal B11 kristal yapısı (P4/nmm uzay grubu) kullanılarak oluşturulmuştur. Model, sistemdeki atomların etkileşme durumlarına göre iki ayrı kısımdan oluşmaktadır. Nanotelin orta kısmındaki Cu (kırmızı) ve Ti atomları (mavi), stresin enine bileşenlerini (σ_{xx} ve σ_{yy}) sıfıra yakın tutmak ve nanotelin serbestçe küçülmesini veya genişlemesini sağlamak için atomlar arası kuvvet altında serbestçe etkileşime girebilirken, nanotelin tüm uzunluğunun %20'sine karşılık gelen her iki uçtaki kısımlardaki Cu ve Ti atomları (yeşil) düzenli örgü noktalarına sabitlenmiş ve birbirleri ile etkileşimine izin verilmemiştir. Periyodik sınır koşulları germe ile eş eksenli olacak şekilde [001] doğrultusunda uygulanmıştır. Benzetim hücresinin boyu 177,57 Å ($30c_o$) seçilmiştir.

Tablo 1. Saf Cu ve Ti için GAM potansiyel parametreleri.

Metal	r_e (Å)	f_e	ρ_e	ρ_s	α
	2,556162	1,554485	21,175871	21,175395	8,127620
	2,933872	1,863200	25,565138	25,565138	8,775431
	β	A (eV)	B (eV)	κ	λ
	4,334731	0,396620	0,548085	0,308782	0,756615
Cu	4,680230	0,373601	0,570968	0,500000	1,000000
	F_{n0} (eV)	F_{n1} (eV)	F_{n2} (eV)	F_{n3} (eV)	F_0 (eV)
Ti	-2,170269	-0,263788	1,088878	-0,817603	-2,190000
	-3,203773	-0,198262	0,683779	-2,321732	-3,220000
	F_1 (eV)	F_2 (eV)	F_3 (eV)	η	F_e (eV)
	0	0,561830	-2,100595	0,310490	-2,186568
	0	0,608587	-0,750710	0,558572	-3,219176



Şekil 1. 2,2 nm γCuTi nanotel için atomistik modelin a) yandan ve b) üstten görünüşü. Kırmızı ve mavi atomlar sırasıyla hareketli Cu ve Ti atomlarını, yeşil atomlar ise sabit Cu ve Ti atomlarını temsil etmektedir. d enine kesit uzunluğudur.

Boyutları $4a_ox4a_ox30c_o$ (1920 atom), $7a_ox7a_ox30c_o$ (5880 atom), $11a_ox11a_ox30c_o$ (14520 atom), $14a_ox14a_ox30c_o$ (23520 atom), $17a_ox17a_ox30c_o$ (34680 atom), $20a_ox20a_ox30c_o$ (48000 atom), $25a_ox25a_ox30c_o$ (75000 atom), $30a_ox30a_o$ $x30c_o$ (108000 atom), $35a_ox35a_o$ $x30c_o$ (147000 atom) ve $40a_ox40a_o$ $x30c_o$ (192000 atom) ve enine kesitleri sırasıyla 1,2 nm, 2,2 nm, 3,4 nm, 4,3 nm, 5,2 nm, 6,2 nm, 7,7 nm, 9,3 nm, 10,8 nm ve 12,4 nm olan aynı boyda on model oluşturulmuştur. Her bir nanotele, $3x10^{-3}$ ps^{-1} ($33x10^4$ MD adım), $2x10^{-3}$ ps^{-1} ($50x10^4$ MD adım), $1x10^{-3}$ ps^{-1} ($10x10^5$ MD adım), $5x10^{-4}$ ps^{-1} ($20x10^5$ MD adım) ve $1x10^{-4}$ ps^{-1} ($10x10^6$ MD adım) şeklinde beş farklı germe oranı ile tek eksenli germe uygulanmıştır. Malzemede indüklenecek şok ve dengesizliği gidermek için yüklemeden önce enerji minimizasyonu yapıldıktan sonra elde edilen kararlı sistem sabit atom sayısı, hacim ve enerji (NVE) topluluğu kullanılarak 1 fs zaman aralıklı 50000 MD adımında gevşetme sürecine tabi tutulmuştur. Gevşetilen nanotellere sabit atom sayısı, hacim ve sıcaklık (NVT) topluluğuna uygun olarak %100 deformasyon elde edilene kadar tek eksen boyunca germe uygulanmıştır. Newton'un hareket denklemlerini çözmek için Velocity-Verlet algoritması, basınç ve sıcaklığı kontrol etmek için

Nosé-Hoover barostat ve termostat kullanılmıştır [33]. Sistemin gerilim tensörü, virial stres kullanılarak hesaplanmıştır [34]. Yüzey etkilerini gözlemek adına aynı germe işlemi ideal B11 kristal yapısında $10a_o x 10a_o x 10c_o$ (4000 atom) boyutundaki bulk γCuTi sistemine de uygulanmıştır. Nanotelden farklı olarak bulk sistem germe aşamasında izotermal-izobarik (NPT) topluluk sınırları içinde ele alınmıştır.

3. BULGULAR

MD benzetim yöntemlerinin güvenilir sonuçlar verebilmesinin ilk ve en önemli koşulu sistemdeki atomik etkileşmeleri en doğru ve hızlı bir şekilde tanımlayan transfer edilebilir bir atomlar arası çiftler potansiyelden geçer. Diğer bir değişle, seçilen potansiyelin sistemin temel fiziksel ve mekanik (elastik sabitler, poisson oranı, sıkışma ve kayma modülü gibi) özelliklerini doğru ve güvenilir bir şekilde açıklaması beklenir. γCuTi alaşımının en kararlı kristal yapısı olan B11 yapısı için hesaplanan bazı fiziksel ve mekanik özellikler daha önce rapor edilen deneysel ve diğer teorik yöntemlerle elde edilen değerlerle karşılaştırmalı olarak Tablo 2'de verilmiştir. Elde edilen sonuçların literatürde aynı sistem için rapor edilen deneysel ve diğer teorik sonuçlara oldukça yakın olması Cu ve Ti atomları arasındaki etkileşmeleri tanımlamak için seçilen GAM potansiyelinin düşük sıcaklıklarda katı sistemin fiziksel ve mekanik özelliklerini doğru ve güvenilir bir şekilde açıklayabildiğini göstermektedir.

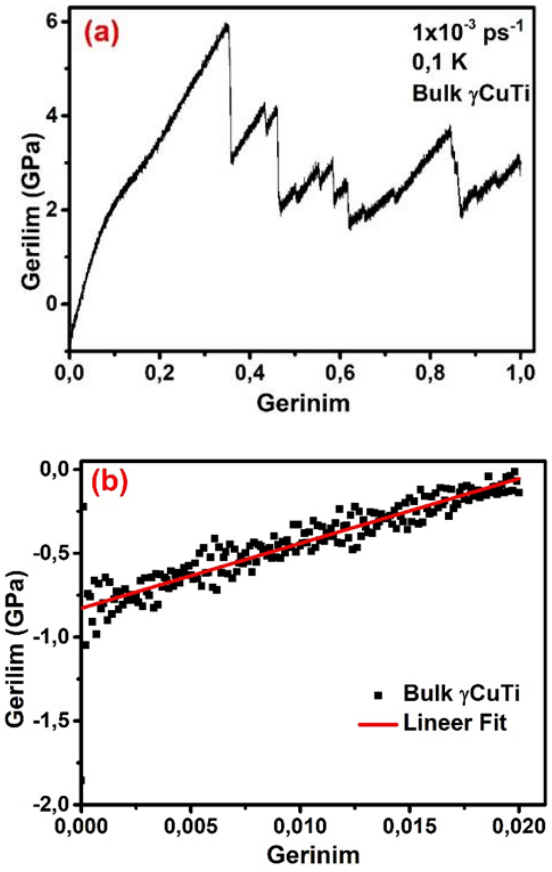
Tablo 2. γCuTi (B11) kristal yapısı için GAM potansiyeli kullanılarak hesaplanan bazı fiziksel ve mekanik özellikler.

	Bu Çalışma	Diğer Çalışmalar
a(Å)	3,1485	3,1070[a], 3,1080[b]
c(Å)	5,9981	5,9190[a], 5,8870[b]
E(eV/atom)	-4,3903	-4,2800[c]
Elastik Sabitler		
C_{11} (GPa)	109,2620	177,5600[d]
C_{12} (GPa)	103,7947	102,6600[d]
C_{13} (GPa)	97,2685	103,1500[d]
C_{33} (GPa)	130,9425	185,6500[d]
C_{44} (GPa)	44,6372	66,2000[d]
C_{66} (GPa)	81,1075	80,9500[d]
Sıkışma Modülü (GPa)	105,1264	128,7100[d]
Kayma Modülü (GPa)	56,7959	44,5900[d]
Poisson Oranı	0,4605	0,3400[d]

[a][35], [b][36], [c][37], [d][20]

Germe boyunca elde edilen gerilim-gerinim eğrileri çalışılan malzemenin temel mekanik özellikleri hakkında faydalı bilgiler sunar. 0,1 K'de $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranı uygulanan bulk sistem için tek eksenli germe deformasyonunun değişimi Şekil 2(a)'da gösterilmiştir. Germe sürecinin ilk aşamalarında deformasyonun elastik özelliğe sahip olduğu gözlenmiştir. Gerilim-gerinim eğrisinde gerilimin ~1,70 GPa değerine kadar arttığı bölge %7,60'a denk gelen ilk yükleme bölgesi olup, bu aşamada deformasyonun elastik özelliğe sahip olduğunu gösterir. Germenin artmasıyla birlikte elastik bölgenin sınırı ile sistemin kırılma noktası arasındaki bölgede (1,7062 – 5,9865 GPa) plastik deformasyon başlamakta ve gerilim-gerinim eğrisi eğim değiştirerek lineer artışını %34,58 gerinim değerine kadar devam ettirmektedir. Plastik bölgede dislokasyonların oluşması ile birlikte gerilim-gerinim eğrisinde 5,9865 GPa gerilim ve 0,3458 gerinim değerlerine karşılık gelen noktada ani ve bir o kadar da keskin bir düşüş gözlenmiştir. Artan gerinimle, gerilim-gerinim eğrisi zikzaklar şeklinde azalan- artan bir döngüye girmektedir. Sistemin elastik şekil değiştirmesinin bir ölçüsü olan Elastisite Modülü, bütün sistemler için elde edilen gerilim-gerinim eğrilerinin lineer artış gösterdiği bölgenin eğiminden yararlanılarak grafik metodu ile belirlenmiştir. Germe altında 0,1 K'de ve $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranı için Bulk sistemin gerilim-gerinim eğrisine uygulanan fit prosedürü Şekil 2(b)'de gösterilmiştir. Bu prosedürde lineer davranış sergileyen gerilim-gerinim eğrisinin tamamını almak yerine hem bulk hem de nanoteller için elastik davranışı garanti altına alabilmek adına yalnızca % 2'lik gerinim göz önüne alınmıştır.

Tablo 3'te bulk sistem için 0,1 K'de farklı germe oranları için elde edilen Elastisite Modülü değerleri listelenmiştir. Farklı germe oranları altında hesaplanan Elastisite Modülleri aynı aralıkta salınım yapmaktadır. Buna göre γCuTi için Elastisite Modülü uygulanan germe oranından bağımsız olduğu gözlenmiştir.



Şekil 2. Bulk γCuTi sistemi için 0,1 K'de ve $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranı altında a) %100 ve b) %2 'lik uzama için gerilim-gerinim eğrisi.

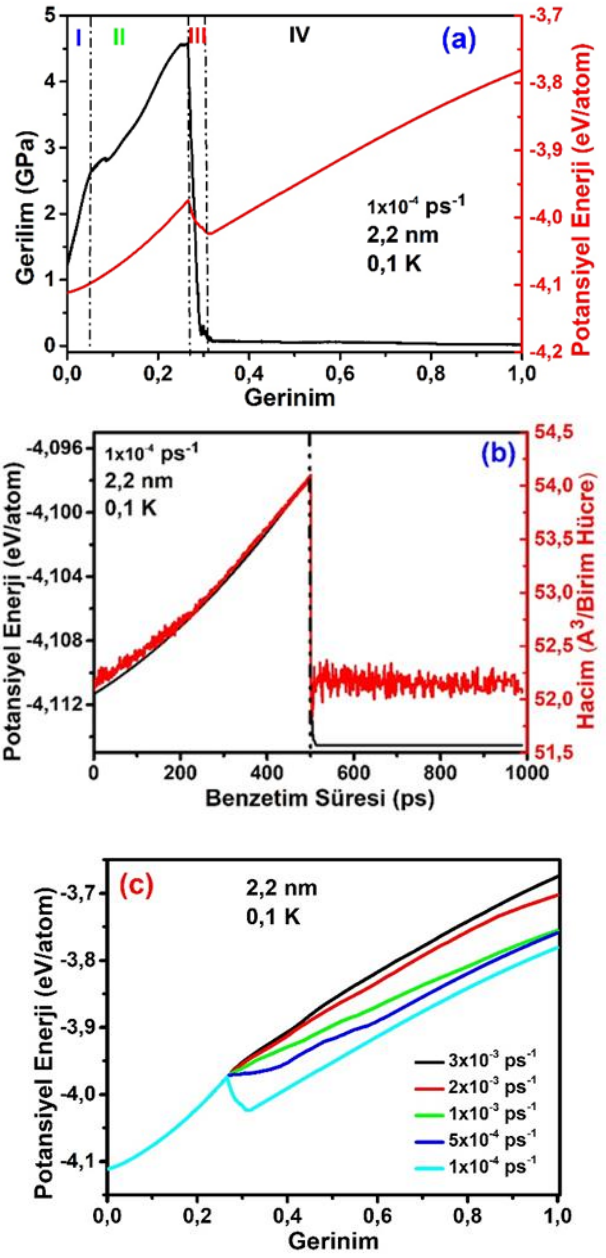
Tablo 3. Bulk γCuTi için 0,1 K'de farklı germe oranları altında hesaplanan Elastisite Modül değerleri.

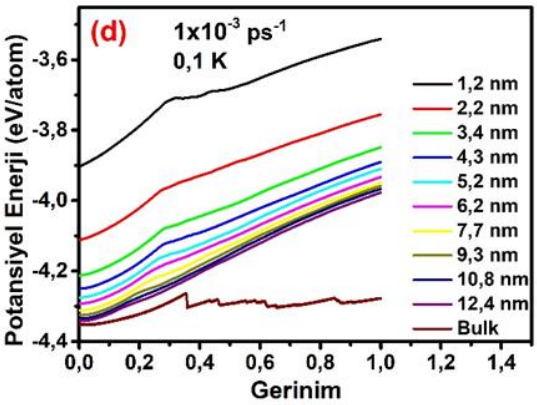
Germe Oranı	Elastisite Modülü (GPa)
$3x10^{-3}$	39,8245
$2x10^{-3}$	40,0097
$1x10^{-3}$	38,7110
$5x10^{-4}$	39,1199
$1x10^{-4}$	40,5859

Potansiyel enerji (PE) değişiminden yararlanarak malzemelerin elastik, plastik ve kırılma davranışları gibi mekanik özellikleri hakkında derinlemesine bilgi elde edinilebilir. PE ve sistemin gerilimi arasındaki ilişkiyi daha iyi anlayabilmek için, Şekil 3(a)'da 2,2 nm boyutlu nanotel için 0,1 K ve $1x10^{-4}$ ps^{-1} germe oranı altındaki gerilim-gerinim eğrisi ile atom başına PE-gerinim eğrisi bir arada verilmiştir. Tekrardan kaçınmak için diğer nanotellerin sonuçları bu grafikte verilmemiştir. Daha basit ve ayrıntılı bir tartışma yapabilmek için gerilim-gerinim eğrisinin davranışı göz önüne alınarak şekil, elastik bölge, plastik bölge, plastik bölgenin boyun ve kırılma kısmı olmak üzere dört kısıma ayrılmıştır. %5 gerinim değerine kadar tam elastik deformasyonun gerçekleştiği I. bölgede, gerilim ve atom başına PE sırasıyla 2,596 GPa ve -4,097 eV/atom değerlerine kadar lineer olarak artmaktadır. Elastik deformasyonun sınırındaki gerilim ve gerinim sırasıyla akma gerilimi ve akma gerinimi olarak adlandırılır. Daha yüksek PE 'ye sahip atomların malzemenin yüzey bölgesine yerleşmesiyle oluşan deformasyonun neticesinde akma gerçekleşir [38]. Elastik bölgede atomlar arası bağlar gerinim ile birlikte homojen olarak uzar, uygulanan kuvvet veya yük kaldırıldığında atomlar arası bağlar kısalır ve sistem ilk haline geri döner. II. bölgede PE-gerinim eğrisi farklı bir eğim ile lineer artışa devam ederken gerilim-gerinim eğrisi önce hafif bir azalma-artma davranışından sonra daha farklı bir eğimle 4,572 GPa değerine kadar artmaya devam eder. Malzeme içerisindeki düzlemler (tabakalar), uygulanan yüklemenin neticesinde atomlar arası bağların uzamasıyla birlikte kaymaya (dislokasyon) başlar. Yük kaldırılsa dahi, düzlemler halen kaymaya devam eder ve sistem artık kalıcı bir deformasyona uğramış olur yani deformasyon davranışı plastiktir. Bundan sonra hem gerilim-gerinim hem de PE-gerinim eğrisi % 26,5 gerinime denk gelen noktada ani ve keskin bir düşüş gösterir. Bu davranış, plastik deformasyon bölgesinde dislokasyonların artması ve bunun neticesinde nanotelin kesit alanının küçülerek nanotelde "boyun" oluşması anlamını taşımaktadır. Eğrinin zirve noktasına karşılık gelen gerilim ve gerinim sırasıyla maksimum gerilim ve boyun gerinimi olarak adlandırılır. III. bölgede gerilim ve PE, % 29 gerinime kadar azalmaktadır ki bu da 2,2 nm boyutundaki nanotelin kırılması anlamına gelir ve bu gerinim değeri kırılma gerinimi olarak adlandırılır. Plastik deformasyonun sınırı olan IV. bölgede gerilim değeri sıfır civarında salınırken PE limit değerine ulaşmak için artışını sürdürmektedir. Bu nanotelin elastik geri kazanımını göstermek için PE ve sistemin hacminin benzetim süresine bağlı değişimi Şekil 3(b)'de bir arada verilmiştir. Şekildeki kesikli düşey çizgi elastik bölgenin sınırını gösterir (0,05 gerinim, 500 ps 'ye karşılık gelir). Elastik bölge sınırında germe kaldırılarak sistemin NPT topluluğu içinde minimum enerji durumuna ulaşmasına izin verildiğinde, PE (~-4,11 eV/atom) ve hacim (~52,09 $Å^3$/birim hücre) başlangıç değerlerine geri döner ve yaklaşık bu değerler etrafında salınmaya devam eder. 2,2 nm boyutlu nanotelin germe deformasyonu sırasında farklı germe oranları için PE-gerinim eğrileri Şekil 3(c)'de ve farklı boyutlardaki nanotellerin $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranı altındaki PE-gerinim eğrilerini Şekil 3(d)'de gösterilmiştir. Şekil 3(c)'deki PE-gerinim eğrilerinin davranışlarını da Şekil 3(a)'daki gibi dört bölgeye ayırarak tartışmak mümkündür. Genel olarak farklı germe oranları için elde edilen PE-gerinim eğrileri I., II. ve IV. bölgelerde benzer davranışsal hareketler gösterse de, boyun oluşumu sebebiyle III. bölgede germe oranına bağlı olarak düşüş davranışı sergilemektedir. Bütün germe oranlarındaki düşüşün sebebi, germe boyunca bu bölgedeki atomlar arası bağların kırılmasıyla açığa çıkan bağ enerjisi sebebiyle artan atomik hareketliliğin nanotelin düzenli kristal yapısını bozmasıdır. Bu davranış şöyle detaylandırılabilir: $3x10^{-3}$ ps^{-1}, $2x10^{-3}$ ps^{-1} ve $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranları için PE'nin düşüş miktarları belli belirsiz veya daha yumuşak iken, germe oranındaki azalışa ($3x10^{-3}$ ps^{-1}'den $1x10^{-4}$ ps^{-1}'ye) bağlı olarak PE 'nin ani düşüş miktarı artmaktadır. $5x10^{-4}$ ps^{-1} ve $1x10^{-4}$ ps^{-1} germe oranları için ise PE'deki düşüş miktarları çok daha belirgin ve keskin bir hal almaktadır. PE'deki keskin düşüşün sebebi, bu bölgede nanotelin boyun vermesi ve bunun bir neticesi olarak nanotelin boyunun hızlı bir şekilde incelmesi ve nihayetinde kırılmasıdır. Keskin düşüşlerinin aksine yumuşak düşüşler ise malzemenin boyun bölgesinin germe deformasyonuna karşı daha fazla dayanıklılık gösterip diğerlerine göre daha çok esneyerek kırılmasıyla açıklanabilir. Boyuta bağlı PE-gerinim ilişkisi aynı eğrinin yukarıda tartışılan germe oranına bağlılığına oldukça benzerdir: yine I., II. ve IV. bölgelerde çok belirgin bir farklılık gözlenmezken, III. bölgede ise farklılıklar gözlenmiştir. III. bölgedeki bu farklı davranışları şu şekilde açıklamak mümkün olabilir; eksik komşu sayısına sahip yüzey atomlarının PE'ye katkısının daha fazla olduğu ince nanotellerde PE değerindeki düşüş daha belirgin olmaktadır ve nanotel boyutunun artmasıyla PE'nin değerindeki düşme daha yumuşar. Bulk sistem için ise PE-gerinim eğrisi, kırılma olmadan belirli bir doygunluk seviyesi (lütfen Şekil 2(a)'ya bakınız) etrafında salınmaktadır. Genel olarak; germe deformasyonu sürecinde nanotelin boyutu arttıkça, nanotelin PE azalmış ve aynı germe koşulları altında bulk malzeme değerine doğru yaklaşmıştır.

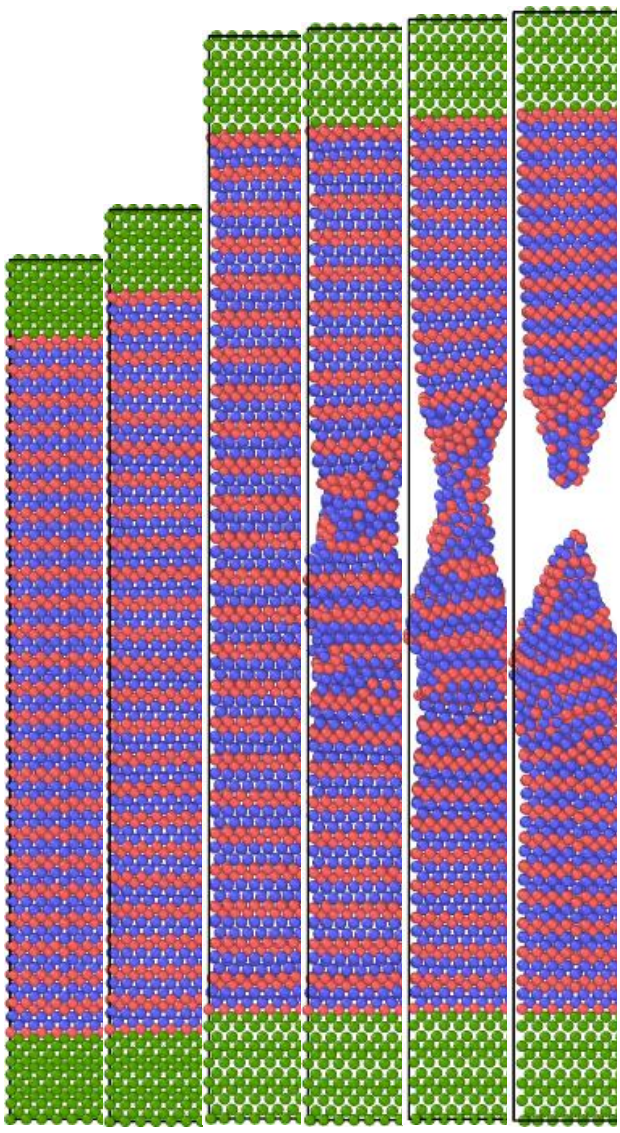
Germe deformasyonu sürecinde nanotellerde meydana gelen değişim, 0,1 K'de ve $1x10^{-4}$ ps^{-1} germe oranı altındaki 2,2 nm boyutlu nanotelin farklı gerinimlerdeki atomik konfigürasyonlarının anlık görüntülerinin verildiği Şekil 4(a)-(f)'den gözlenebilir. Germe işlemi öncesi uygulanan enerji minimizasyonu ve dengeleme sürecinden sonra atomların düzenli kafes noktalarına yerleştikleri Şekil 4(a)'da açıkça görülebilmektedir. Şekil 4(b)'deki nanotel görüntüsü 0,050 akma gerinimine (elastik deformasyon limiti) karşılık gelmektedir. Bu evrede, nanotelin boyunun uzamasına ve atomlar arası mesafenin artmasına rağmen malzemede kalıcı bir deformasyonun oluşmamaktadır. Şekil 4(c), plastik deformasyonun gözlendiği fakat nanotelin şeklinin bozulmadığı Şekil 3(a)' da verilen II. bölgenin sınırında, gerilimin keskin düşüş yapmadan hemen önceki gerinim değerine karşılık gelen nanotel görüntüsüdür. Şekil 4(d)'de nanotelin ortasından incelmesi ve düzlemlerin birbiri üzerinden kaymasıyla boyun oluşmaktadır. Bu aşamada (%26) nanotel esnemeye başlar. Sistemin uzaması için gerekli gerilim,

boyun bölgesinin kesit alanının küçülmesi nedeniyle azalmıştır (lütfen Şekil 3(a)'ya bakınız). Gerilimin daha da artmasıyla, dislokasyonların artan yoğunluğunu yansıtan boyun incel mesi Şekil 4(e)'de görülmektedir. Şekil 4(f)'de nanotel % 2,46 esnedikten sonra, iki ayrı küme oluşturacak şekilde kırılmıştır. Ayrıca nanotelin boyun verdikten hemen sonra





Şekil 3. Germe işlemi sırasında a) $1x10^{-4}$ ps^{-1} germe oranında 0,1 K'de 2,2 nm nanotel için gerinime bağlı gerilim ve PE ilişkisi (elastik, plastik, boyun ve kırılma kısımları arası noktalı çizgi ile gösterilmiştir). b) Elastik geri kazanım: PE ve hacim gevşeme eğrileri. c) 2,2 nm boyutlu nanotelde PE-germe oranı ilişkisi ve d) $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranında PE - boyut ilişkisi.



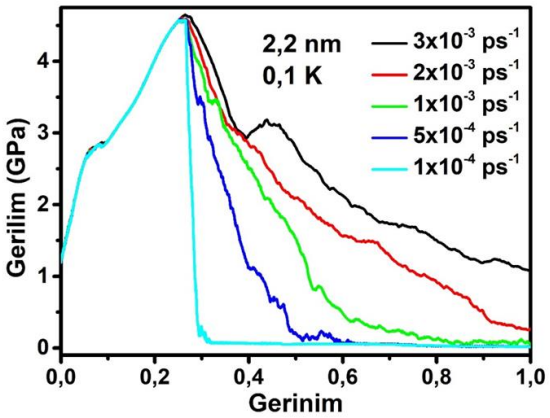
(a) (b) (c) (d) (e) (f)

Şekil 4. 0,1 K'de ve $1x10^{-4}$ ps^{-1} germe oranı altında 2,2 nm boyutlu nanotelin (a) 0, (b) 0,050, (c) 0,260, (d) 0,265, (e) 0,280 ve (f) 0,290 gerinim değerlerindeki atomik konfigürasyonları.

kırılmaması nanotelin bu esnada esnediğini göstermektedir. Esneklik üç aşamalı bir döngüde açıklanabilir: birinci aşama, çoklu düzlemsel kaymalar anlamına gelen bir boyun oluşumu, sonra komşu atomlarının boyun bölgesine çekilmesiyle birlikte boynun incelmesi ve son olarak, plastik deformasyonun sonunda meydana gelen esnek kırılmadır.

3.1. Germe Oranı Etkisi

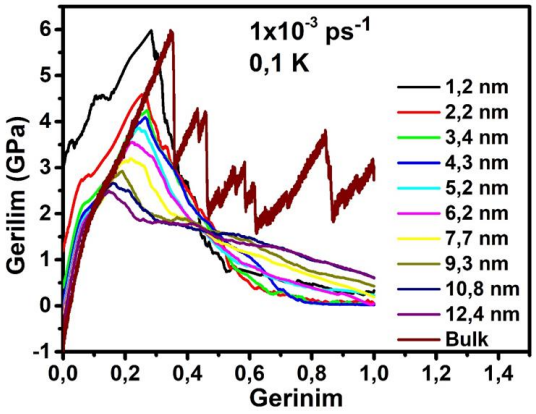
Germe oranının germe - gerinim ilişkisine etkisini anlayabilmek için 2,2 nm boyutlu nanotel için 0,1 K' de beş farklı germe oranı ile hesaplanan gerilim-gerinim eğrileri Şekil (5)'te bir arada gösterilmiştir. Bu eğriler sayesinde hem elastik hem de plastik bölgeler daha iyi tanımlanabilir veya anlaşılabilir. Gerilim - gerinim eğrileri boyun gerinimine kadar neredeyse üst üstedir. Germe oranının, nanotellerin mekanik özelliklerini özellikle elastik deformasyon bölgesinden sonra daha çok etkilediği görülmüştür. Şekil (5)' te verilen gerilim - gerinim eğrilerinden yararlanarak hesaplanan akma gerilimi ve gerinimi, maksimum gerilim, boyun ve kırılma gerinimi, esneklik ve Elastisite Modülü değerleri Tablo 4'te listelenmiştir. Elastisite Modülü, farklı germe oranlarında elastik bölgedeki gerilim – gerinim eğrilerinin eğimlerinin neredeyse aynı olmaları nedeniyle germe oranından bağımsızdır. Literatürdeki deneysel çalışmalar, nanoyapıların Elastisite Modül değerlerinin bulk sistemlerden daha farklı olduğunu rapor etmiştir [39–44]. Bu sonuçlara paralel olarak mevcut çalışmada da nanotellerin Elastisite Modül değerlerinin bulk sistemlerden daha düşük olduğu gözlenmiştir. Germe oranı düştükçe, PE'deki azalma nedeniyle akma gerinimi, akma ve maksimum gerilim azalmakta ve boyun gerinimi 0,254-0,265 arasında salınmaktadır. Plastik bölgenin boyun kısmında, germe oranı azaldıkça gerilimdeki düşüş daha keskin ve belirgin olmaktadır. Germe oranının azalmasıyla birlikte salınımlar azalır. Daha düşük germe oranı altındaki nanotellerde boyun ve kırılma kısmı arası daha kısa olmakta ve yavaş gerilen nanotelin esnekliğinin daha düşük olduğu görülmektedir: azalan germe oranı ile nanotelde daha erken kırılma gözlenir.



Şekil 5. 0,1 K'de 2,2 nm boyutlu nanotelin farklı germe oranları altındaki gerilim-gerinim eğrileri.

3.2. Boyut Etkisi

CuTi nanotellerinde boyuta bağlı deformasyon mekanizması hakkında yorum yapabilmek için 0,1 K'de ve $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranı altındaki farklı nanotellerin gerilim-gerinim eğrileri Şekil (6)'da bir arada verilmiştir. Şekle bulk sisteme ait hesaplama sonuçları da karşılaştırma amacıyla dâhil edilmiştir. Bütün nanotellerin gerilim-gerinim eğrilerinde belirgin bir ana pik gözlenirken, bulk sistem için ana pikten sonra dört tane daha belirgin pik görülmektedir. Nanoteller farklı kesit büyüklüklerine sahip olmalarına rağmen gerilim - gerinim eğrilerinin davranışları küçük farklılıklar dışında birbirlerine oldukça benzerdir. Bunların içinde en küçük boyuta sahip olan 1,2 nm kesit uzunluklu nanoteldeki yüzey etkilerinin diğer nanotellere oranla baskın olmasından dolayı daha fazla dalgalanmalar olmaktadır. Aynı nanotelin gerilim-gerinim eğrisinde boyun geriniminden önce görülen küçük bir omuz, en ince nanotelde daha fazla dislokasyon meydana geldiğini gösterir. Bunun bir sonucu olarak nanotel daha az esner ve daha erken kırılır. Daha büyük boyutlu nanoteller, daha fazla plastik deformasyona ve esnekliğe sahiptir: daha büyük kesit alanı, dislokasyonların hareketini engelleyen dinamik dalga etkisi veya fonon sürüklemesi nedeniyle daha az istatistiksel salınım genliğine sebep olur [45]. Sonuçlar, nanotelin boyutunun artması ile malzemenin esnekliğinin de arttığını göstermektedir. Bu durum akma ve maksimum gerilimin düşmesiyle nanotelin daha yumuşak ve esnek olacağı kavramını destekler.



Şekil 6. 0,1 K ve $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranı altında farklı boyutlardaki nanotellerin ve bulk sistemin gerilim-gerinim eğrileri.

Şekil (6)'da farklı boyutlardaki nanoteller için verilen eğrilerden elde edilen akma gerilimi ve gerinimi, boyun ve kırılma gerinimi, maksimum gerilim, esneklik değerleri ve Bulk sistemin ilgili değerleri Tablo 5'te listelenmiştir. Bunların dışında tabloda, germe işlemi öncesi gerilimi olarak alınan başlangıç gerilim değerleri de sunulmuştur. Başlangıç gerilimi, yüzey atomlarından kaynaklanan yüzey gerilimi ve dengedeki çekirdekten gelen gerilimden oluşur. Dengelenmiş nanoteldeki bozulan simetriden doğan yüzey geriliminden dolayı germe öncesi başlangıç gerilimi sıfır değildir. Kalın nanotellere oranla daha fazla kopuk bağlara, yüksek yüzey/iç hacim atom sayısı oranına ve doğal olarak da eksik komşu atom sayısına sahip olan daha küçük boyutlu nanotellerde yüzey gerilimi daha baskındır ve

başlangıç geriliminin değerini belirler. Boyutun artması ile birlikte başlangıç gerilimi, hiçbir yüzey ve kusura sahip olmayan bulk sınırına azalarak yaklaşır. İnce nanotellerin kısıtlı aktivasyon hacmi içinde kusur çekirdeklenmesi için gereken olası konum sayısının daha az olması [46] sebebiyle nanoteldeki akma gerilimi başlangıç gerilimi, boşluk ve dislokasyon çekirdeklenmesi ile bağlantılı olan boyut etkileri ile ilişkilendirilebilir [47–49]. Deformasyonu başlatmak için gereken dış gerilim, nanotelin başlangıç geriliminden büyük olmalıdır. Boyut arttıkça akma gerilimi, aynı başlangıç gerilimi gibi azalarak bulk limitine yaklaşır. Daha yüksek başlangıç gerilimine sahip olan ve daha yüksek PE'li ince nanoteller, kalın nanotellere göre daha fazla akma gerilimine sahiptir. Elde edilen sonuçlara göre akma geriliminin boyuta bağlı davranışı, deneysel verilerle [50,51] doğrulanan Hall-Petch ilişkisi [52] ile tutarlıdır. Yüzey gibi hiçbir kusuru olmayan bulk malzeme, dislokasyon olmadan 1,7062 GPa akma gerilimi ve 0,0760 akma gerinimine kadar elastik davranışını korur.

Tablo 4. 0,1 K'de 2,2 nm boyutlu nanotel için farklı germe oranları altında hesaplanan bazı mekanik özellikler.

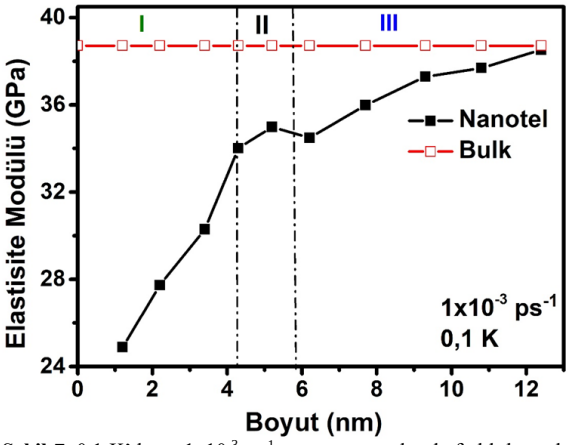
Germe Oranı	Akma Gerinimi	Akma Gerilimi (GPa)	Maksimum Gerilim (GPa)	Boyun Gerinimi	Kırılma Gerinimi	Esneklik (%)	Elastisite Modülü (GPa)
$3x10^{-3}$	0,0631	2,7698	4,6475	0,2644	0,8900	62,5600	28,1156
$2x10^{-3}$	0,0537	2,6607	4,6070	0,2566	0,8800	62,3400	28,6571
$1x10^{-3}$	0,0535	2,6489	4,5922	0,2537	0,5300	27,6300	27,7388
$5x10^{-4}$	0,0524	2,6389	4,5926	0,2542	0,4900	23,5800	27,9100
$1x10^{-4}$	0,0500	2,5965	4,5720	0,2654	0,2900	2,4600	27,9187

Tablo 5. 0,1 K'de ve $1x10^{-3}$ ps^{-1}'de farklı boyutlardaki nanotellerin ve bulk sistemin mekanik özellikleri

Boyut	Başlangıç Gerilimi (GPa)	Akma Gerinimi	Akma Gerilimi (GPa)	Maksimum Gerilim (GPa)	Boyun Gerinimi	Kırılma Gerinimi	Esneklik (%)
Bulk	-1,8559	0,0760	1,7062	5,9865	0,3458	-	-
1,2 nm	2,9973	0,0279	3,5922	5,9801	0,2837	0,4500	16,6300
2,2 nm	1,1920	0,0535	2,6489	4,5922	0,2537	0,5300	27,6300
3,4 nm	0,4003	0,0670	2,2106	4,2434	0,2708	0,6500	37,9200
4,3 nm	0,1163	0,0683	2,0317	4,0939	0,2642	0,6800	41,5800
5,2 nm	-0,0912	0,0696	1,9311	3,8618	0,2409	0,7500	50,9100
6,2 nm	-0,1589	0,0716	1,8798	3,5539	0,2226	0,8100	58,7400
7,7 nm	-0,3009	0,0716	1,8205	3,1979	0,2178	0,8600	64,2200
9,3 nm	-0,3708	0,0705	1,7935	2,9250	0,1900	-	-
10,8 nm	-0,3818	0,0700	1,7899	2,6608	0,1609	-	-
12,4 nm	-0,4525	0,0702	1,7863	2,2705	0,1124	-	-

Bulk malzemenin elastik davranışı nanoteller ile kıyaslandığında çok daha uzun sürmektedir. Akma geriniminin boyuta bağlı davranışı, PE'nin boyuta bağlı davranışı ile benzerdir (lütfen Şekil 3(d)'ye bakınız). Silindirik bir nanotelin kristalografik doğrultuda kararlı yüzeyleri olmamasına rağmen, B11 kristal yapısında kurulan γCuTi nanotelleri belirli kristalografik doğrultularda kararlı yüzeylere sahiptir. Boyut arttıkça nanotel yüzeyinde bulunan atom sayısı da artar ve yüzey enerjisindeki istatistiksel dalgalanmalar azalarak daha kararlı yüzey oluşur. Bunun sonucu olarak akma gerinimi artararak bulk limitine ulaşır. İnce nanoteller yüksek PE ve başlangıç gerilimine sahip olduklarından kalın nanotellere göre daha yüksek maksimum gerilime sahiptir ve daha geç boyun verirler. Kalın nanotellerin enine kesit alanı büyük olduğu için elastik ve plastik deformasyona daha fazla dayanırlar ve böylece boyut arttıkça esneklik ve kırılma gerinimi artarak bulk limitine doğru yaklaşır. Öyle ki 9 nm 'den daha kalın nanotellerde kırılma gözlenmemiştir.

Şekil 7'de Elastisite Modülünün boyuta bağlılığı, doğrusal elastik mekanik davranış varsayımı ile hesaplanarak gösterilmektedir. Şekil 7 yüzey etkilerinin baskınlığına göre üç bölgeye ayrılmıştır: 1,2 nm 'den 4,3 nm 'ye kadar geçerli I. bölgede bir sınır değere ulaşacak şekilde hızlı artış gözlenmektedir. Bu artış gerilim-gerinim eğrisinin elastik bölgedeki davranışından da açıkça görülebilir. Nanotelin yüzey alanının tüm hacmine oranının büyük olduğu bu bölgede yüzey etkilerinin baskınlığı net bir şekilde görülebilmektedir. Yüzey gerilimi ve nanotelin çekirdek kısmındaki gerilimin dengeli olduğu 4,3-7,7 nm arasındaki II. bölgede Elastisite Modül değeri ortalama ~34 GPa civarındadır. Son olarak III. bölgede nanotelin çekirdek kısmındaki iç gerilim baskın olup kesit uzunluğunun 12,4 nm'ye kadar artmasıyla birlikte Elastisite Modülü aşamalı bir şekilde artarak bulk limitine doğru yaklaşmaktadır. Mevcut çalışmada CuTi nanotellerinin Elastisite Modüllerinin boyuta bağlı davranışı ile ilgili sonuçlar ve gözlemler, daha önceki yıllarda farklı araştırmacılar tarafından Cu [10], TiO_2 [53] ve Cu-Ag [54] nanotelleri için rapor edilen sonuçlar ile benzerdir.



Şekil 7. 0,1 K'de ve $1x10^{-3}$ ps^{-1} germe oranı altında farklı boyutlardaki nanoteller ve Bulk sistem için Elastisite Modül değerlerinin değişimi.

4. SONUÇ

Mevcut çalışmada, B11 tipi kristal yapıda oluşturulan γCuTi nanotellerinin germe oranı ve boyuta bağlı mekanik özelliklerini araştırmak için GAM potansiyeli ile birlikte klasik MD benzetimleri kullanılmış ve elde edilen sonuçların ayrıntılı bir analizi sunulmuştur. Germe oranı ve boyut parametrelerinin γCuTi nanotellerinin mekanik özellikleri üzerine etkisi, germe deformasyonu boyunca sistemin enerji değişimi ile ilişkilendirilmiştir. Öne çıkan sonuçlar aşağıda sıralanmıştır:

1. Germe oranı etkisi: yüksek germe oranları için, momentum kaynaklı bozukluklardan dolayı zayıflamış olan kristal yapılarda PE artışına bağlı olarak akma ve maksimum gerilim değerleri de artmaktadır. Germe oranındaki artışla nanotel daha erken plastik bölgeye geçmekte ve daha az plastik deformasyona uğramaktadır. Bunun sonucu olarak nanotel daha az esneyip çok daha erken kırılmaktadır. Ayrıca, lineer fit eğrisinden ortaya çıkan tutarsızlıklar göz ardı edildiğinde, Elastisite Modülü 'nün germe oranından bağımsız olduğu izlenmiştir.
2. Boyut etkisi: Bozuk bağ yapısına sahip ve komşu atomları eksik olan yüzey atomlarının daha küçük boyutlu nanotellerde etkin bir role sahip olduğu gözlenmiştir. Büyük boyutlu nanoteller ise dislokasyonların hareketi nedeniyle daha az istatistiksel salınım genliğine sahiptirler. Ayrıca, daha yüksek PE, başlangıç gerilimine ve yüzey gerilimine sahip olan ince nanotellerin daha yüksek akma ve maksimum gerilim değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Nanotellerdeki boyut artışı ile birlikte başlangıç gerilimi, akma gerinimi ve gerilimi ve Elastisite Modülü değerlerinin aşamalı bir şekilde artarak bulk sınır değerlerine doğru yaklaştığı gözlenmiştir.

MD benzetimlerimizin analizlerinden çıkarılan sonuç, düşük germe oranı, küçük boyutlu γCuTi nanotellerin plastik deformasyon süresini ve esnekliğini (sünekliğini) azalttığı yönündedir. Mevcut bulgular, küçük boyutlu γCuTi nanoteller üzerine düşük germe oranlarının malzeme mühendisliğinde istenen mekanik özelliği elde etmek için kullanılabileceğini göstermektedir.

Teşekkür

Çalışmamızda yardımlarından dolayı Sedat ŞENGÜL'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

[1] Wu B, Heidelberg A, Boland JJ. Mechanical properties of ultrahigh-strength gold nanowires. Nat Mater 2005;4:525–9. https://doi.org/10.1038/nmat1403.
[2] Geng L, Yan F, Dong C, An C. Design and Regulation of Novel MnFe2O4@C Nanowires as High Performance Electrode for Supercapacitor. Nanomaterials 2019;9:777. https://doi.org/10.3390/nano9050777.
[3] Lieber CM. Nanoscale Science and Technology: Building a Big Future from Small Things. MRS Bull 2003;28:486–91. https://doi.org/10.1557/mrs2003.144.
[4] Wen X, Xie Y, Choi CL, Wan KC, Li X-Y, Yang S. Copper-Based Nanowire Materials: Templated Syntheses, Characterizations, and Applications. Langmuir 2005 ; 21 : 4729 – 37. https://doi.org/10.1021/la050038v.
[5] Sofiah AGN, Samykano M, Kadirgama K, Mohan RV, Lah NAC. Metallic nanowires: Mechanical properties – Theory and experiment. Appl Mater Today 2018 ; 11 : 320 – 37. https://doi.org/10.1016/j.apmt.2018.03.004.
[6] Iijima S, Qin LC, Hong BH, Bae SC, Youn SJ, Kim KS. Electron Microscopic Characterization of Silver Nanowire Arrays. Science (80-) 2002;296:611a – 611. https://doi.org/10.1126/science.296.5568.611a.
[7] Hu L, Chen G. Analysis of Optical Absorption in Silicon Nanowire Arrays for Photovoltaic Applications. Nano Lett 2007;7:3249–52. https://doi.org/10.1021/nl071018b.
[8] Wang S, Shan Z, Huang H. The Mechanical Properties of Nanowires. Adv Sci 2017;4:1600332. https://doi.org/10.1002/advs.201600332.
[9] Zhu T, Li J. Ultra-strength materials. Prog Mater Sci 2010;55:710–57. https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2010.04.001.
[10] Liang H, Upmanyu M, Huang H. Size-dependent elasticity of nanowires: Nonlinear effects. Phys Rev. B2005;71:241403. https://doi.org/10.1103/PhysRevB.71.241403.
[11] Zhao L, Liu Y. The influence mechanism of the strain rate on the tensile behavior of copper nanowire. Sci China Technol Sci 2019;62:2014–20. https://doi.org/10.1007/s11431-019-9530-6.
[12] Chang L, Zhou C-Y, Pan X-M, He X-H. Size-dependent deformation mechanism transition in titanium nanowires under high strain rate tension. Mater. Des. 2017; 134: 320–30. https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.08.058.
[13] Chang L, Zhou C-Y, Wen L-L, Li J, He X-H. Molecular dynamics study of strain rate effects on

tensile behavior of single crystal titanium nanowire. Comput Mater Sci 2017; 128 : 348–58 https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2016.11.034.

[14] Ajori S, Parsapour H, Ansari R, Ameri A. Buckling behavior of various metallic glass nanocomposites reinforced by carbon nanotube and Cu nanowire: A molecular dynamics simulation study. Mater Res Express 2019 ; 6 : 095070 . https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab2cfd.

[15] Nagarjuna S, Srinivas M, Balasubramanian K, Sarma DS. The alloy content and grain size dependence of flow stress in CuTi alloys. Acta Mater 1996 ; 44 : 2285 – 93. https://doi.org/10.1016/1359-6454(95)00358-4.

[16] Nagarjuna S, Srinivas M. High temperature tensile behaviour of a Cu–1.5 wt.% Ti alloy. Mater Sci Eng A 2002;335:89–93. https://doi.org/10.1016/S0921-5093(01)01945-1.

[17] Semboshi S, Nishida T, Numakura H. Microstructure and mechanical properties of Cu–3at.% Ti alloy aged in a hydrogen atmosphere. Mater Sci Eng A 2009 ; 517 : 105–13. https://doi.org/10.1016/j.msea.2009.03.047.

[18] Semboshi S, Takasugi T. Fabrication of high-strength and high-conductivity Cu–Ti alloy wire by aging in a hydrogen atmosphere. J Alloys Compd 2013;580:S397–400. https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2013.03.216.

[19] Li Y, Ma X-J, Liu Q-J, Liu F-S, Ma H-X, Kong G-X, et al. First-principles calculations of the structural, elastic and thermodynamic properties of tetragonal copper-titanium intermetallic compounds. J Alloys Compd 2016;687:984–9. https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.06.186.

[20] Chen S, Duan Y-H, Huang B, Hu W-C. Structural properties, phase stability, elastic properties and electronic structures of Cu–Ti intermetallics. Philos Mag 2015;95:3535–53. https://doi.org/10.1080/14786435.2015.1091110.

[21] Vauth S, Mayr SG. Atomic dynamics in molecular dynamics simulations of glassy CuTi thin films. Appl Phys Lett 2005;86:061913. https://doi.org/10.1063/1.1861982.

[22] Dalgic SSS, Celtek M. Glass forming ability and crystallization of CuTi intermetallic alloy by molecular dynamics simulation. J Optoelectron Adv Mater 2011;13:1563–9.

[23] Rogachev SA, Politano O, Baras F, Rogachev AS. Explosive crystallization in amorphous CuTi thin films: a molecular dynamics study. J Non Cryst Solids 2019;505:202–10. https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2018.10.040.

[24] Ferreira A, Borges J, Lopes C, Martin N, Lanceros-Mendez S, Vaz F. Piezoresistive response of nano-architectured Ti x Cu y thin films for sensor applications. Sensors Actuators A Phys 2016;247:105–14. https://doi.org/10.1016/j.sna.2016.05.033.

[25] Kim YK, Pouraliakbar H, Hong SI. Effect of interfacial intermetallic compounds evolution on the mechanical response and fracture of layered Ti/Cu/Ti clad materials. Mater Sci Eng A 2020;772:138802. https://doi.org/10.1016/j.msea.2019.138802.

[26] Domekeli U. A molecular dynamic study of the effects of high pressure on the structure formation of liquid metallic $Ti_{62}Cu_{38}$ alloy during rapid solidification. Comput Mater Sci 2021;187:110089. https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2020.110089.

[27] Plimpton S. Fast Parallel Algorithms for Short-Range Molecular Dynamics. J Comput Phys 1995;117:1–19. https://doi.org/https://doi.org/10.1006/jcph.1995.1039.

[28] Çeltek M, Şengül S. Effects of cooling rate on the atomic structure and glass formation process of Co90Zr10 metallic glass investigated by molecular dynamics simulations. Turkish J Phys 2019;43:11–25. https://doi.org/10.3906/fiz-1802-26.

[29] Çeltek M, Şengül S, Dömekeli Ü. Hızlı Soğutma Sürecinde Dörtlü Zr48Cu36Ag8Al8 İri Hacimli Metalik Camının Atomik Yapısının Gelişimi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilim Enstitüsü Derg 2019;23:954–62. https://doi.org/10.19113/sdufenbed.566570.

[30] Celtek M. The effect of atomic concentration on the structural evolution of Zr100-xCox alloys during rapid solidification process. J Non Cryst Solids 2019;513:84–96. https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2019.03.014.

[31] Zhou XW, Johnson RA, Wadley HNG. Misfit-energy-increasing dislocations in vapor-deposited CoFe/NiFe multilayers. Phys Rev B 2004;69:144113. https://doi.org/10.1103/PhysRevB.69.144113.

[32] Çeltek M, Dömekeli Ü, Şengül S. Moleküler Dinamik Benzetim Yöntemi ile Isıtma İşlemi Sırasında Platin Metalinin Yapısal Gelişimi ve Erime Noktası Üzerine Atomlar-arası Potansiyel Etkisinin Araştırılması. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilim Derg 2019;8:413–27. https://doi.org/10.17798/bitlisfen.479447.

[33] Nosé S. A unified formulation of the constant temperature molecular dynamics methods. J Chem Phys 1984;81:511–9. https://doi.org/10.1063/1.447334.

[34] Thompson AP, Plimpton SJ, Mattson W. General formulation of pressure and stress tensor for arbitrary many-body interaction potentials under periodic boundary conditions. J Chem Phys 2009;131:154107. https://doi.org/10.1063/1.3245303.

[35] Eremenko VN, Buyanov YI, Prima SB. Phase diagram of the system titanium-copper. Sov Powder Metall Met Ceram 1966;5:494–502. https://doi.org/10.1007/BF00775543.

[36] Kim YC, Bae DH, Kim WT, Kim DH. Glass forming ability and crystallization behavior of Ti-based amorphous alloys with high specific strength. J Non Cryst Solids 2003;325:242–50. https://doi.org/10.1016/S0022-3093(03)00327-2.

[37] Kleppa OJ, Watanabe S. Thermochemistry of alloys of transition metals: Part III. Copper-Silver, -Titanium, Zirconium, and -Hafnium at 1373 K. Metall Trans B 1982;13:391–401.

https://doi.org/10.1007/BF02667755.
[38] Guder V, Sengul S. Tensile strength and failure mechanism of hcp zirconium nanowires: Effect of diameter, temperature and strain rate. Comput Mater Sci 2020;177:109551. https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2020.109551.
[39] Nysten B, Fretigny C, Cuenot S. Elastic modulus of nanomaterials: resonant contact-AFM measurement and reduced-size effects (Invited Paper). In: Geer RE, Meyendorf N, Baaklini GY, Michel B, editors. Testing, Reliab. Appl. Micro- Nano-Material Syst. III, 2005, p. 78. https://doi.org/10.1117/12.604981.
[40] Jing GY, Duan HL, Sun XM, Zhang ZS, Xu J, Li YD, et al. Surface effects on elastic properties of silver nanowires: Contact atomic-force microscopy. Phys Rev B 2006;73:235409. https://doi.org/10.1103/PhysRevB.73.235409.
[41] Nilsson SG, Borrisé X, Montelius L. Size effect on Young's modulus of thin chromium cantilevers. Appl Phys Lett 2004;85:3555–7. https://doi.org/10.1063/1.1807945.
[42] Li X, Ono T, Wang Y, Esashi M. Ultrathin single-crystalline-silicon cantilever resonators: Fabrication technology and significant specimen size effect on Young's modulus. Appl Phys Lett 2003;83:3081–3. https://doi.org/10.1063/1.1618369.
[43] Nam C-Y, Jaroenapibal P, Tham D, Luzzi DE, Evoy S, Fischer JE. Diameter-Dependent Electromechanical Properties of GaN Nanowires. Nano Lett 2006;6:153–8. https://doi.org/10.1021/nl051860m.
[44] Liu KH, Wang WL, Xu Z, Liao L, Bai XD, Wang EG. In situ probing mechanical properties of individual tungsten oxide nanowires directly grown on tungsten tips inside transmission electron microscope. Appl Phys Lett 2006;89:221908. https://doi.org/10.1063/1.2397547.
[45] Liang W, Zhou M. Size and Strain Rate Effects in Tensile Deformation of Cu Nanowires. 2003 Nanotechnol. Conf. Trade Show - Nanotech, vol. 2, 2003, p. 452–5. https://doi.org/10.2514/6.2003-1612.
[46] Sainath G, Choudhary BK, Jayakumar T. Molecular dynamics simulation studies on the size dependent tensile deformation and fracture behaviour of body centred cubic iron nanowires. Comput Mater Sci 2015;104:76–83. https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2015.03.053.
[47] Diao J, Gall K, Dunn ML, Zimmerman JA. Atomistic simulations of the yielding of gold nanowires. Acta Mater 2006;54:643–53. https://doi.org/10.1016/j.actamat.2005.10.008.
[48] Zhu T, Li J, Samanta A, Leach A, Gall K. Temperature and Strain-Rate Dependence of Surface Dislocation Nucleation. Phys Rev Lett 2008;100:025502. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.025502.
[49] Jennings AT, Weinberger CR, Lee S-W, Aitken ZH, Meza L, Greer JR. Modeling dislocation nucleation strengths in pristine metallic nanowires under experimental conditions. Acta Mater 2013;61:2244–59. https://doi.org/10.1016/j.actamat.2012.12.044.
[50] Weertman JR. Hall-Petch strengthening in nanocrystalline metals. Mater Sci Eng A 1993;166:161–7. https://doi.org/10.1016/0921-5093(93)90319-A.
[51] Chokshi AH, Rosen A, Karch J, Gleiter H. On the validity of the hall-petch relationship in nanocrystalline materials. Scr Metall 1989;23:1679–83. https://doi.org/10.1016/0036-9748(89)90342-6.
[52] Hall EO. The Deformation and Ageing of Mild Steel: II Characteristics of the Lüders Deformation. Proc Phys Soc Sect B 1951;64:742–7. https://doi.org/10.1088/0370-1301/64/9/302.
[53] Gupta SK, McEwan A, Lukačević I. Elasticity of DNA nanowires. Phys Lett A 2016;380:207–10. https://doi.org/10.1016/j.physleta.2015.09.038.
[54] Sarkar J, Das DK. Study of the effect of varying core diameter, shell thickness and strain velocity on the tensile properties of single crystals of Cu–Ag core–shell nanowire using molecular dynamics simulations. J Nanoparticle Res 2018;20:9. https://doi.org/10.1007/s11051-017-4117-y.

Derleme / Araştırma Makalesi Review / Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

5-Fluorourasil (5-FU) ve C_{60} Nanopartikülünün Meme Kanseri (MCF-7) Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik ve Apoptotik Etkilerinin Araştırılması

Havva AYBEK[1], Can Ali AĞCA[2], Mehmet ÇİFTCİ[3*]

[1] Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri MYO, Eczane Hizmetleri Bölümü, Türkiye
[2] Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Türkiye
[3] Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye
Havva AYBEK ORCID No: 0000-0002-3831-4780
Can Ali AĞCA ORCID No: 0000-0002-0244-3767
Mehmet ÇİFTCİ ORCID No: 0000-0002-1748-3729

**Sorumlu Yazar: mciftci@bingol.edu.tr*

(Alınış: 17.09.2020, Kabul: 02.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Meme kanseri, 5-FU, C_{60}, ROS, apoptosis

Öz: Meme kanseri dünyanın hemen her bölgesinde kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. 5-Fluorourasil (5-FU) urasil ile aynı taşıma mekanizmasını kullanarak hücrelere girmeyi hedefleyen, hidrojenin yerine C-5 pozisyonunda bir flor atomu olan bir pirimidin analoğudur. C_{60} fulleren, antioksidan ve antitümör potansiyeli olan bir nanopartiküldür ve 5-FU'ya hücre tepkilerini modüle etmede faydalı olabilir. p53 proteini tümör gelişimini baskılayan bir transkripsiyon faktörü, TIGAR esas olarak glukoz metabolizmasının düzenleyicisi olarak işlev görür. Bu çalışmada 5-FU, C_{60} ve 5-FU+C_{60} kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri WST-1 analizi ile gerçekleştirildi. Ek olarak, DCFDA kullanılarak reaktif oksijen türleri düzeylerinin tespiti araştırıldı. Çalışmamızda zamana ve konsantrasyona bağlı olarak 5-FU'nun MCF-7 hücre canlılığını inhibe ettiği, C_{60} nanopartikülünün MCF-7 hücreleri üzerine tek başına uygulanması sonucunda anlamlı bir etkinin olmadığı görüldü. 5-FU+C_{60}'ın birlikte kullanımının ise hücreler üzerinde sitotoksik etkisinin olduğu gösterildi. Öte yandan hücreler üzerine 5-FU, C_{60} ve 5-FU+C_{60} uygulamalarının ROS düzeylerinde anlamlı bir fark (artma ya da azalma) oluşturmadıkları belirlendi. İlaveten p53 ve TIGAR proteinlerinin ekspresyon düzeyleri Western Blot yöntemi ile incelenerek hücreler üzerindeki apoptotik etkileri araştırıldı. 5-FU ve 5-FU+C_{60} gruplarında p53 gen ekspresyonunun arttığı görüldü. 5-FU+C_{60} kombinasyonunun TIGAR ifadesini indükleyerek hücrelerin apoptoza gitmesine yardımcı olduğu gözlendi.

Investigation of Cytotoxic and Apoptotic Effects of 5-Fluorouracil (5-FU) and C_{60} Nanoparticle on Breast Cancer (MCF-7) Cell Line

Keywords
Breast cancer, 5-FU, C_{60}, ROS, apoptosis

Abstract: Breast cancer is the most common cancer among women in almost every part of the world. It ranks second after lung cancer in cancer-related deaths. 5-Fluorouracil (5-FU) is a pyrimidine analogue with a fluorine atom instead of hydrogen at the C-5 position, aiming to enter cells using the same transport mechanism as that of uracil. C_{60} fullerene is a nanoparticle with antioxidant and antitumor potential and can be useful in modulating cell responses to 5-FU. p53 proteins are a transcription factor suppressing tumor growth and TIGAR acts primarily as a regulator of glucose metabolism. In this study, cytotoxic effects of 5-FU, C_{60} and 5-FU+C_{60} combination on MCF-7 human breast cancer cells were analyzed using WST-1 analysis. Moreover, detection of reactive oxygen species levels was investigated using DCFDA. In our study, it was observed that 5-FU inhibited MCF-7 cell viability depending on time and concentration, and no significant effect was observed through application of C_{60} nanoparticle alone on MCF-7 cells. 5-FU + C_{60} combination had a cytotoxic effect on cells. However, 5-FU, C_{60} and 5-FU + C_{60} applications on the cells did not cause a significant difference (increase or decrease) in ROS levels. Additionally, p53 and TIGAR protein expression levels were examined by Western Blot method and apoptotic effects on cells were investigated. p53 gene expression increased in 5-FU and 5-FU+C_{60} groups. It was observed that the combination of 5-FU+C_{60} induced TIGAR expression and helped cells to go to apoptosis.

1. GİRİŞ

Kanser hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünerek normal hücre döngüsünde değişimlere neden olan bir hastalık olarak tanımlanabilir. Sağlıklı hücreler sürekli olarak düzenli bir şekilde bölünmeleri, bulundukları bölgeden ayrılmaları ya da ölmeleri gerektiğini belirten sinyaller alırlar. Anormal hücreler hücre döngüsünden bağımsız hareket ederek düzensiz bölünüp çoğalmaya, büyümeye ve ileriki evrelerde metastaz yapmaya neden olurlar [1]. Dünyada tanımlanmış kanser vakalarının %25'ini meme kanseri teşkil etmekte ve kadınlarda buna bağlı ölümlerin %15'ini yaygın ölümcül tümörler oluşturmaktadır. Son yıllarda bu tür kanserlerin (malignadeno karsinom) görülme sıklığı çeşitli faktörlerin etkisiyle giderek artmaktadır [2]. Meme kanserine neden olan çok sayıda faktör belirtilmiştir. Bunlar arasında; yaş, aile öyküsü, genetik faktörler, erken yaşta menarş-geç menopoz gibi durumlardan kaynaklı östrojen hormonu etkisinde kalma süresi, hamilelik, beslenme, alkol alımı, sigara, radyasyona maruz malignadeno karsinom epitel hücrelerinden kalma gibi etkenler sayılabilir [3]. Meme kanseri hücre hattı olan MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) 1970 yılında beyaz ırk bir bayanın meme dokusundaki epitel hücrelerinden elde edilmiştir. MCF-7 yapışkan ve tek katmanlı büyüyen bir hücre hattıdır.

5-FU ise urasil analoğu olan bir antimetabolittir [4]. 5-FU hücrelere urasilin taşıma sistemi aracılığıyla girer. 5-FU hücre içerisinde çeşitli, aktif metabolitlerine dönüştürülerek ((Floro deoksi üridin monofosfat (FdUMP), floro deoksi üridin trifosfat (FdUTP) ve floro ürüdin trifosfat (FdUTP)) RNA sentezi fonksiyonunun inhibisyonuna, timidilat sentaz aktivitesinin inhibisyonuna ve hücre döngüsünde S fazına etki ederek DNA hasarına neden olup antikanser özelliğini göstermektedir [5]. 1985 yılında keşfedilen C_{60}fullerene, küresel bir yapı içinde düzenlenmiş 60 karbon atomuna sahip bir nanopartiküldür. Küçük boyutlarından ve hidrofobik özelliklerden dolayı fullerenler tıbbi ilaçların tasarımı için bir baz olarak veya öncü bileşik olarak kullanılır [6]. C_{60}fullerene son zamanlarda antikanser tedavisinde kullanım için umut verici bir ajan olarak kabul edilmiştir. C_{60}fullerene ve türevleri biyouyumlu, düşük konsantrasyonlarda normal dokular üzerinde toksik etki göstermeyen, güçlü serbest radikal tutucu ve antioksidan özelliğe sahiptir [7]. p53 tümör baskılayıcı yolu, genomik stabiliteyi korumak ve tümör oluşumunu önlemek için DNA onarımı, hücre döngüsünün oluşmasını, apoptoz ve yaşlanmayı koordine eder. p53, DNA hasarı çok ciddi olduğunda ve onarımı imkânsız olduğunda apoptozu tetikler [8]. Hücre döngüsü durması ve apoptozis p53 aktivasyonunun en sık görülen sonuçlarından olup ayrıca, p53 metabolizma ve antioksidan cevap gibi hücresel işlemleri düzenler [9]. Apoptozis, hücrenin programlanmış hücre ölümü için doğal mekanizmasıdır. Özellikle uzun ömürlü memelilerde, homeostazın yanı sıra gelişiminde kritik bir rol oynadığı için çok önemlidir. Apoptozis gereksiz veya istenmeyen hücrelerin yok edilmesine hizmet eder ve oldukça düzenli bir işlemdir. DNA hasarı veya kontrolsüz çoğalma dahil olmak üzere apoptotik yolun aktive olmasına neden olacak çok çeşitli koşullar vardır. Apoptotik yol hem hücre içi hem de hücre dışı sinyallerle aktive edilir. Apoptoziye yol açan iki farklı yol vardır: sinyal tipi ile ilişkili olan içsel ve dışsal yollar. Bu yolaklar ayrıca mitokondriyal ve ölüm reseptörü yolları olarak da adlandırılabilirler. Hücre içi sinyaller, DNA hasarı, büyüme faktörü yoksunluğu ve sitokin yoksunluğunu içerirken, en yaygın hücre dışı sinyaller, bağışıklık sisteminden sitotoksik T hücreleri tarafından zarar görmüş veya enfekte olmuş hücrelere yanıt olarak üretilen ölüme neden olan sinyallerdir [10].

Reaktif oksijen türleri (ROS), moleküler oksijenden türetilen (O_2) yüksek oranda reaktif iyon ve moleküllerin heterojen bir grubudur. Önemli ROS'lardan bazıları şunlardır; hidroksil radikali (.OH), süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) gibi serbest radikalleri, ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi radikal olmayan molekülleri içerir [11]. Alternatif olarak ROS hücre ölümü ve sinyalleşmede önemli rol oynar. ROS, DNA hasarını tetikleyerek kendine özgü apoptozu tetikler [12]. TIGAR, (TP53 ile indüklenen glikoliz ve apoptoz düzenleyicisi) glikolizi düzenleyen ve oksidatif strese karşı koruma sağlayan p53 ile indüklenebilir bir proteindir [13]. TIGAR, GSH seviyelerini koruyarak ROS ve apoptoz düzenleyicisi olarak kurulan metabolik bir enzimdir. TIGAR, hücresel fruktoz 2,6-bisfosfat seviyesini düşürerek glikolizi bloke eder ve buda fosfofruktokinaz (PFK) aktivitesinin inhibisyonuna yol açar. TIGAR ayrıca, besin ve metabolik strese cevap olarak hücre içi ROS'u modüle eder [14]. Bu çalışmada 5-fluorourasil ve C_{60} nanopartikülünün meme kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Kimyasallar

5-FU (5-florourasil), C_{60} (fullerene), insan MCF-7 meme kanseri hücreleri, Bingöl Üniversitesi Kanser Araştırma Merkezi (BUCR) tarafından sağlandı. Roswell Park Memorial Institute besi yeri (RPMI 1640), penisilin/streptomisin, fetal sığır serumu (FBS) ve fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) Lonza firmasından; tripan mavisi, Tris HCI, tripsin-EDTA, dimetilsülfoksit (DMSO), tetra metilen diamin (TEMED), sodyum azit (NaN_3), luminol, yağsız süt tozu, ponceau S, fosforik asit (H_3PO_4), p-kumarik asit, fenil metil sülfonil florür (PMSF), sodyum dodesil sülfat, bovin serum albümin (BSA) Sigma Aldrich firmasından; hidrojen peroksit (H_2O_2), sodyum hidroksit (NaOH), glisin, tween-20, β-merkapto etanol, etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), primer ve sekonder antikorlar, hücre canlılığı kiti WST1 (Boster, USA), DCFDA kiti (Abcam, USA) kitlerle yapılan analizler, üreticilerin protokollerine göre gerçekleştirildi.

2.2. Hücre Kültürü ve Hücrelerin Tedavi Edilmesi

Bu araştırmada insan meme kanseri (MCF-7) hücre hattı kullanılmıştır. Hücreler, %10 fetal sığır serumu (Fetal

Bovine Serum; FBS), 64 µg/mL penisilin ve 100 µg/mL streptomisin ile desteklenen RPMI 1640 (Roswell Park MemorialInstitute) besiyerinde %5 CO_2 içeren nemli ve 37°C'lik hücre kültür inkübatöründe çoğaltıldı. Hücreler 75cm^2'lik hücre kültür flasklarında yeterli sayıda çoğaltıldıktan sonra hücre canlılığının değerlendirilmesi için, tripan blue ile boyanarak sayım yapıldı. Hücreler 96'lık well platette 3.000 hücre olacak şekilde besiyeri ortamında ekildi. Tedavi için 5-FU ve C_{60}'ın stok solüsyonları hazırlandı. Bu stok solüsyonlar RPMI ortamında seyreltildi. 5-FU'nun ; 25, 50, 100, 250 ve 500 µM konsantrasyonları, C_{60}'ın ; 100, 250, 500 ve 1000 nM ve 5-FU+C_{60} kombinasyonları hazırlanarak hücreler 24 saat boyunca tedavi edildi.

2.3. Hücre Canlılığı

MCF-7 meme kanser hücrelerinin canlılığı WST-1(4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate) tahlil kiti (Boster, USA) ile değerlendirildi. Bunun için inkübasyon sonrası hücrelerin bulunduğu kuyulara 10µl WST-1 eklendi. 4 saat 37ºC'de %5 CO_2'li inkübatörde inkübe edildi. Dört saat sonra ELISA mikroplaka okuyucusu (Spectra Max 384 Plus) kullanılarak 420-480 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü

2.4. *In Vitro* ROS/RNS Deneyi

Bu deney, hücre kültüründe oksidatif stres parametreleri olarak bilinen hidrojen peroksit, nitrik oksit, peroksil radikali ve peroksinitrit anyonlarını da içeren toplam reaktif oksijen ve nitrojen türlerini *in vitro* olarak ölçmemize imkân sağladı. Hücre kültürü örneklerinin hazırlanması ve hücre kültüründe oksidatif strese bağlı ROS ve RNS oluşumu *in vitro* ROS/RNS deney kiti kullanılarak ve kit protokolüne göre florometrik yöntemle belirlendi. Bu deneyde 96'lık well plate içerisine 25x10^3 hücre olacak şekilde ekildi ve bu işlem üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Hücre ekiminden sonra 24 saat beklendi. 5-FU (25, 50, 100, 250 ve 500 µM) ve C_{60} (100, 250, 500 ve 1000 nM) için belirlenen konsantrasyonlar uygulandı. 24 saat sonrasında besiyeri çekilerek her kuyucuğa 100 µl seyreltme tamponu çözeltisinden eklendi. Ardından 1X seyreltme tamponu çektirildi ve 100 µl DCFDA çözeltisinden eklendi. 45 dakika boyunda 37°C'de karanlıkta inkübe edildi. Sonra DCFDA çözeltisi çektirilip her bir kuyucuk 100 µl 1X tampon ile yıkanır. ELISA-reader'da 485/535 nm'de sonuçlar alındı.

2.5. Protein İzolasyonu ve Western Blot Analizi

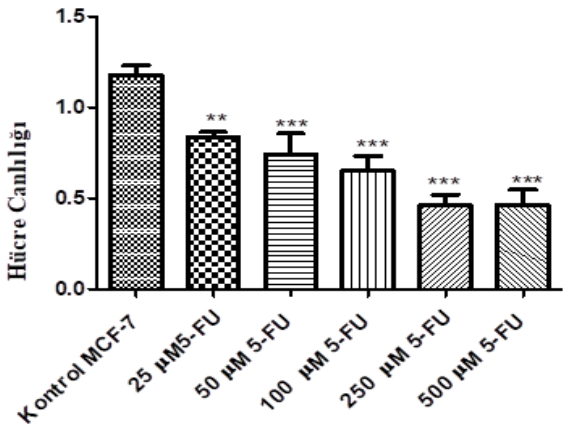
Hücreler, 24 saatlik tedaviden sonra soğuk PBS ile üç kez yıkanarak plastik kazıyıcıyla toplanıp numaralandırılmış mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı. 6600 rpm'de 10 dakika santrifüj işleminden sonra lizis (RIPA) tamponunda eritildikten sonra buz üzerinde 60 dakika inkübe edildi. Bütün hücre lizatları, 15 dakika boyunca 15.000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantlardaki protein içeriği, standart olarak BSA kullanılarak spektrofotometrede 595 nm'de absorbansları ölçüldü. (Biomethod-GBC (Bradford)). Eşit miktarda toplam protein ekstraktları %12'lik SDS-PAGE ve PVDF membranlarına transfer edildi. Membrandaki gözeneklerin kapanması için BSA ile blokaj yapıldı. Daha sonra membran primer antikorlar ile inkübasyon edildi (B-aktin: 1:500), (p53: 1:500), (TIGAR:1:1000). Membranlar daha sonra horseradish peroksidaz ile konguje olan sekonder antikor ile inkkübe edildi. Ardından 5 kez 5 dakika TBS-T ile yıkama yapıldı. Membranlar X-Ray cihazı ile görüntülenmek üzere sonuçlar kemilüminisans yöntemi ile tespit edildi.

2.6. İstatiksel Analiz

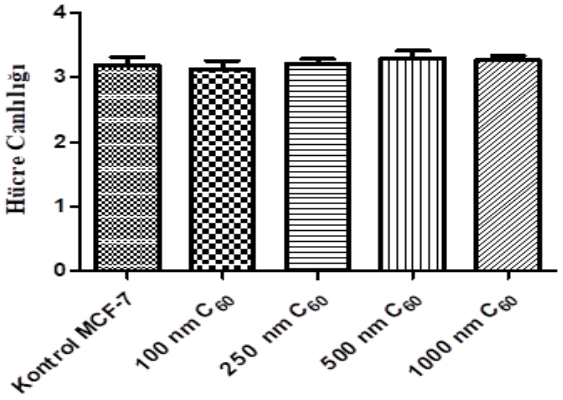
Tüm veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Verilerin istatiksel değerlendirilmeler Anova Tukey (tek yönlü= one-way) ile analiz edildi. Sonuçlar n= 3 için ortalama ± SEM'dir. Önemli farklılıklar (* p <0.05, ** p <0.01 ve *** p <0.001) ile gösterildi.

4. BULGULAR

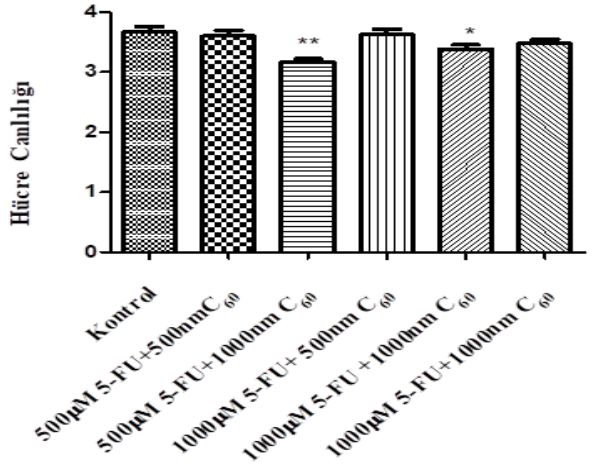
Öncelikle hücreler, %10 FBS ve %1 streptomisin/penisilin ile takviye edilmiş RPMI-1640 ortamında, 37°C sıcaklık ve %5 CO_2 içeren bir hücre kültürü inkübatöründe çoğaltıldı. Bu iş için hücreler 24 saat boyunca (25, 50, 100, 250 ve 500 µM)'lık dozlarda 5-FU ile tedavi edildi (Şekil 1). Daha sonra 24 saat boyunca 100, 250, 500 ve 1000 nM'lik dozlarda C_{60} fulleren ile muamele edildi (Şekil 2). Ayrıca MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine çeşitli dozlarda 5-FU+C_{60} kombinasyonları uygulandı. Uygulanan bu tedaviden sonra hücre canlılığı WST-1 metodu ile değerlendirildi (Şekil 3). Ayrıca MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin 5-FU, C_{60} ve 5-FU + C_{60}'a verdikleri ROS tepkileri Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6'da verildi. İlaveten hücre ölümlerinin apoptozis olup olmadığı Şekil 7 ve Şekil 8'de gösterildi.



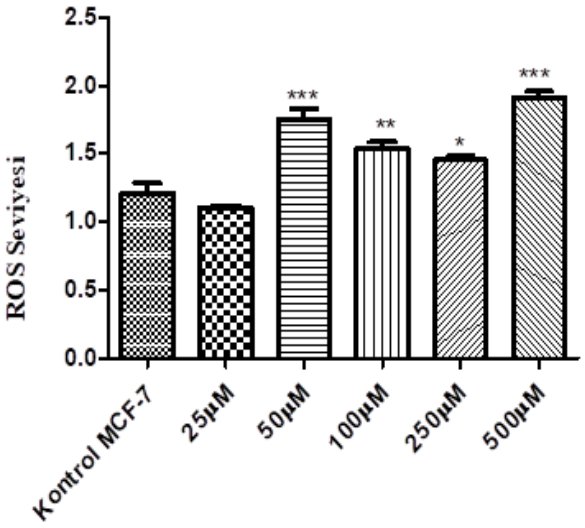
Şekil 1. MCF-7 meme kanseri hücrelerinin 5-FU ile muamelesi sonucu elde edilen hücre canlılığı grafiği. (İlaç doz değerleri: 25, 50, 100, 250 ve 500 µM)



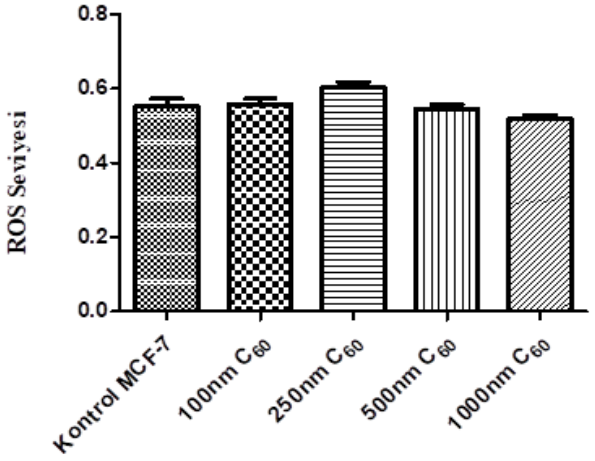
Şekil 2. MCF-7 meme kanseri hücrelerinin C_{60} ile muamelesi sonucu elde edilen hücre canlılığı grafiği. İlaç doz değerleri (C_{60}): 100, 250, 500 VE 1000 nM.



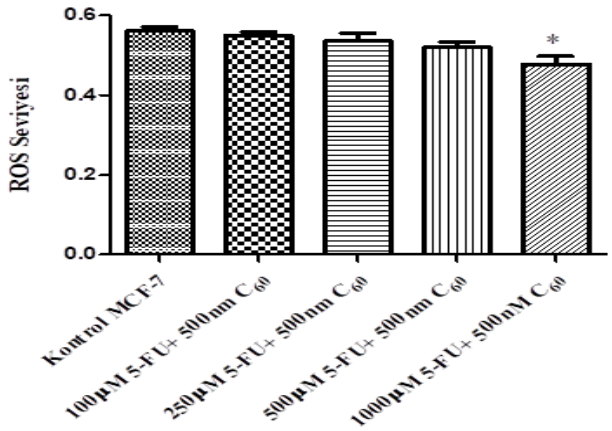
Şekil 3. MCF-7 meme kanseri hücreleri 5-FU+C_{60} ile muamelesi sonucu elde edilen hücre canlılığı grafiği. İlaç doz değerleri 5-FU: 500 µgmL^{-1},1000 µg.mL^{-1} ve C_{60}: (500 nM) kombinasyonları ile 5-FU: 500 µg.mL^{-1}, 1000 µg.mL^{-1} ve C_{60}: (1000 nM) kombinasyonları uygulandı.



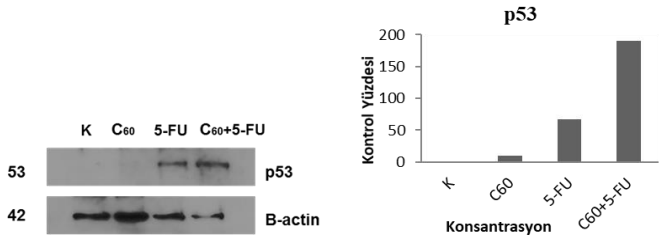
Şekil 4. 5-FU'in MCF-7 hücre hattında ROS düzeyi sonuçları grafiği.



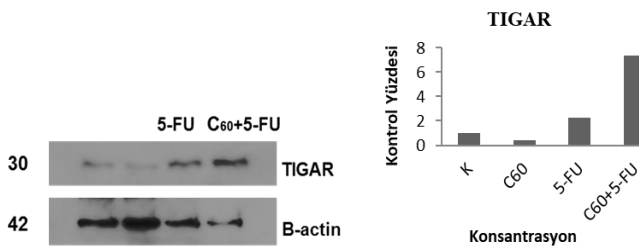
Şekil 5. C_{60} fullerenin MCF-7 hücre hattında ROS düzeyi sonuçları grafiği.



Şekil 6. 5-FU + C_{60} kombinasyonunun MCF-7 hücre hattında ROS düzeyi sonuçları grafiği.



Şekil 7. 24 saatlik ilaç uygulaması sonrası Western Blot yöntemiyle p53, B-Aktin tayini grafiği. **1**-Kontrol, **2**-C_{60}, **3**- 5-FU, **4**- 5FU + C_{60}. (B-Aktin 42 kDa, p53 53 kDa).



Şekil 8. 24 saatlik ilaç uygulaması sonrası Western Blot yöntemiyle, TIGAR, B-Aktin tayini. **1**- Kontrol, **2**- C_{60}, **3**- 5-FU, **4**- 5-FU + C_{60} (B-Aktin 42 kDa, TIGAR 30 kDa).

4. TARTIŞMA

5-FU (5-Fluorourasil) kemoterapide kanser tedavisinde kullanılan bir urasil analoğu olup, tümör hücrelerinde sitotoksik etkisini metabolitler aracılığıyla hem DNA hem de RNA sentezini etkileyerek gösteren bir bileşiktir [13]. 5-FU'nun kanser hücrelerinde proliferasyonunu inhibe ettiğini gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Örneğin J. Cai ve ark. 5-FU ile tedavi edilmiş insan meme kanseri MCF-7 hücrelerinde farklı şekilde eksprese edilen proteinlerin analizi üzerine yaptıkları çalışmada doza bağlı olarak 5-FU'nun tedavisinin hücre büyümesini inhibe ettiğini gösterilmiştir [14]. Ayrıca yapılan başka bir çalışmada 5-FU'nun anti tümör etkilerini gösterip MCF-7 meme kanseri hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiği tespit edilmiştir [15].

Çalışmamızda anti-proliferatif ve anti kanserojenik özellikleri bilinen 5-FU, C_{60} ve 5-FU+C_{60} kombinasyonunun MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri WST-1 analizi ile gösterilmesi amaçlandı. Ek olarak, DCFDA kullanılarak reaktif oksijen türleri düzeylerinin tespiti de araştırıldı. Çalışma neticesinde 24 saat süreyle 5-FU ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerine uyguladığımız WST-1 analizi sonuçlarından, hücre yoğunluğunun kontrol grubuna göre azaldığı, C_{60} ve 5-FU+C_{60} kombinasyonunun hücre yoğunluğuna kontrol grubuna göre önemli bir etkiye sahip olmadığı tarafımızdan tespit edildi ve elde edilen sonuçların önceki çalışmalarla uyumlu olduğu gözlendi (Şekil 1, 2 ve 3) [14, 15]. Üç boyutlu şekilleri, doymamış bağları ve elektronik yapıları nedeniyle, C_{60} ve NP'ler biyokimya ve tıbbın çeşitli alanlarında kullanılabilecek benzersiz kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir [16]. C_{60} fullerene, özellikle nanoteknolojideki geniş potansiyel uygulamaları yelpazesi nedeniyle son yıllarda yoğun bir şekilde araştırılmıştır [17]. Bu çalışmada C_{60}'ın sitotoksik etkileri MCF-7 hücre hattında WST-1 yöntemi ile araştırıldı (Şekil 2). Elde edilen bulgulara göre C_{60} nanopartikülünün tek başına uygulanması ile dikkate değer bir etki gözlenmedi. Çalışmamız diğer bulgularla karşılaştırıldığında çalışmamızı destekleyen sonuçların olduğu belirlendi. Fude Wang ve ark. yaptıkları çalışmada C_{60}'ın A549 hücrelerine kolayca girebildiğini ve A549 hücreleri üzerinde çok az doğrudan önemli toksisite gösterdiğini bildirmişlerdir [16]. Öte yandan Kaisar Raza ve ark. tarafından yapılan çalışmada MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları üzerinde Naive C_{60}Fullerene'nin (Naive CF) 1mg/mL ve 10mg/mL konsantrasyonlarında önemli bir sitotoksisitenin bulunmadığı tespit edilmiştir [18].

Reaktif oksijen türleri (ROS) dış orbitallerinde eşleşmemiş elektronları bulunduran, radikal ve radikal olmayan türleri içeren reaktif moleküllerdir [19].Yüksek konsantrasyonlarda ROS; lipidler, membranlar, proteinler ve nükleik asitler gibi hücresel yapılara hasar verebilen bir faktördür [20]. ROS, genellikle kemoterapotik ilaçlara cevap olarak hücreler tarafından salınır ve sitotoksik olup DNA hasarına yol açabilmektedir [21]. Kanser hücreleri genellikle yüksek seviyelerde reaktif oksijen türlerine maruz kalır. Çalışmamızda 24 saat süreyle doza bağlı 5-FU, Fullerene C_{60} ve 5-FU+C_{60} grupları ile inkübe ettiğimiz MCF-7 hücrelerinin ROS seviyeleri incelendi (Şekil 4, 5 ve 6). Buna göre 5-FU ile işleme tutulan hücrede, konsantrasyona bağlı olarak ROS seviyelerinin arttığı tespit edildi. Chiara Focacetti ve ark. yaptıkları çalışmada HCMs ve endotel hücrelerinde doza ve zamana bağlı bağlı hücre içi ROS üretimini araştırmış ve 5-FU'nun ROS oluşumunu indüklediğini ve ROS üretiminde anlamlı bir artış olduğunu göstermişlerdir [21]. Suzuki ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise insan pankreas kanseri kök hücrelerinin 5-FU ile tedavisinin hücre içi ROS üretimini arttırdığını bulmuşlardır [22]. Benzer şekilde Darsingry ve ark. 5-FU tedavisinin koleraktal kanser hücrelerinde hücre içi ROS'un verimli üretimine yol açtığını bulmuştur [23]. Fullerene C_{60} ve 5-FU+C_{60} ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerinin ROS yoğunluğunda anlamlı bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi.

Apoptoz, normal hücre devri, immün sistemin düzgün gelişimi ve işleyişi, hormona bağlı atrofi, embriyonik gelişim ve kimyasal kaynaklı hücre ölümü gibi çeşitli işlemlerin hayati bir bileşeni olarak kabul edilir [24]. p53, DNA hasarı, onkojen aktivasyonu ve besin yoksunluğu gibi birçok stres sinyali tarafından yüksek oranda indüklenebilir bir transkripsiyon faktörüdür. Hücre döngüsü durması ve apoptozis p53 aktivasyonunun en belirgin sonuçlarıdır [25]. Çalışmamızda C_{60} (500 nM), 5-FU (500µM), 5-FU+C_{60} (500 nM+500µM) kombinasyonu ile muamele edilmiş insan meme kanseri MCF-7 hücre hattında p53 proteini 24 saat sonrasında Western Blotlama yöntemiyle analiz edildi. Elde edilen sonuçlara göre kontrol ve C_{60} gruplarında DNA'nın hasar görmediği gözlendiği için p53 ifadesinin az miktarda olduğu belirlendi. Fakat 5-FU ve 5-FU+C_{60} gruplarında DNA hasarı ve stresle karşılaşan hücreler olduğu gözlendiği için bu gruplar p53 protein ekspresyonunu arttırarak indüklendiği belirlendi (Şekil 7). TIGAR, hücresel fruktoz 2,6-bisfosfat seviyesini düşürerek glikolizini bloke eder ve bu da fosfofruktokinaz (PFK) aktivitesinin inhibisyonuna yol açar. TIGAR ayrıca besin ve metabolik strese cevap olarak hücre içi ROS'u modüle eder ve böylece ROS kaynaklı otofajiyi önler [26]. Aynı şekilde C_{60} (500 nM), 5-FU (500 µM), 5-FU + C_{60} (500 nM+500 µM) ile TIGAR proteini üzerine yapılan tedaviden 24 saat sonra sonuçlar Western Blotlama yöntemiyle analiz edildi. Elde edilen bu sonuçlara göre; MCF-7 meme kanseri hücre hattında 5-FU + C_{60} kombinasyonunda kontrole

oranla kayda değer oranda artış olduğu TIGAR ifadesini indükleyerek hücrelerin apoptoza gitmesine yardımcı olduğu düşünüldü (Şekil 8).

Sonuç olarak; MCF-7 meme kanseri hücre hattında 5-FU, C_{60} fulleren ve 5-FU+C_{60} kombinasyonunun etki mekanizmaları hücre canlılığı (WST-1), ROS seviyeleri ve Western blot ile TIGAR/p53 proteinlerinin ekspresyonları incelendiğinde TIGAR ve p53 protein seviyelerinde etkin bir artış olduğu gözlendi. TIGAR ve p53' ün apoptozu indükleme kabiliyeti kanser tedavisi için kullanılabilecek önemli bir antitümör potansiyeline sahiptir. P53 ve TIGAR hedefli tedavilerin gelecekteki başarısı, apoptoz ve hücre döngüsü işlevlerinin nasıl düzenlendiğini daha iyi anlamayı gerektirecektir.

Teşekkür

Bu çalışma Bingöl Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Bingöl Üniversitesi Projeler Koordinasyon Birimi (Proje numarası: BAP-FEF.2017.00.017).

KAYNAKLAR

[1] Majumder R, Parida P, Paul S, Basak P. *In vitro* and in silico study of aloe vera leaf extract against human breast cancer. Natural Product Research. 2020;34(16):2363-2366.

[2] Bozorgi A, Khazaei M, Khazaei MR. New findings on breast cancer stem cells: A review. Journal of Breast Cancer. 2015;18(4):303-312.

[3] Kutluk T, Kars A. Kanser Konusunda Genel Bilgiler. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser ve Savaş Daire Başkanlığı Yayınları (http://sbv.saglik.gov.tr/Ekutuphaane/kitaplar/kanser.pdf). 1. Baskı: Ankara; 2001.

[4] Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Action and Clinical Strategies. Nature Reviews Cancer. 2003;3(5):330-338.

[5] Correia A, Silva D, Correia A, Vilanova M, Gärtner F, Vale N. Study of New Therapeutic Strategies to Combat Breast Cancer Using Drug Combinations. Biomolecules. 2018; 8(4):175.

[6] Li Z, Pan LL, Zhang FL, Wang Z, Shen YY, Zhang ZZ. Preparation and characterization of fullerene (C_{60}) amino acid nanoparticles for liver cancer cell treatment. Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 2014;14 (6):4513-4518.

[7] Harhaji L, Isakovic A, Raicevic N, Markovic Z, Todorovic-Markovic B, Nikolic N, et al. Multiple mechanisms underlying the anticancer action of nanocrystalline fullerene. European Journal of Pharmacology. 2007;568(1-3):89-98.

[8] Green DR, Chipuk JE. p53 and metabolism: Inside the TIGAR. Cell. 2006;126(1): 30-32.

[9] Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MNC, Nakano K, Bartrons R, et al. TIGAR, a p53-Inducible Regulator of Glycolysis and Apoptosis. Cell. 2006;126(1):107-120.

[10] Pfeffer CM, Singh ATK. Apoptosis: A Target for anticancer therapy. International Journal of Molecular Sciences. 2018;19(2): 448.

[11] Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. Free Radical Research. 2010;44 (5):479-496.

[12] Yip NC, Fombon IS, Liu P, Brown S, Kannappan V, Armesilla AL, et al. Disulfiram modulated ROS–MAPK and NFκB pathways and targeted breast cancer cells with cancer stem cell-like properties. British Journal of Cancer. 2011;104(10):1564-1574.

[13] Schilsky RL. Biochemical and Clinical Pharmacology of 5-Fluorouracil. Oncolgy. 1998;12(10):13-18.

[14] Cai J, Chen S, Zhang W, Wei Y, Lu J, Xing J, et al. Proteomic analysis of differentially expressed proteins in 5-fluorouracil-treated human breast cancer MCF-7 cells. Clinical and Translational Oncology. 2014;16 (7):650-659.

[15] Ge ZH, Wang ZX, Yu TL, Yang N, Sun Y, Hao CL, et al. Morphine improved the antitumor effects on Mcf-7 cells in combination with 5-fluorouracil. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2014;68(3):299-305.

[16] Wang F, Jin C, Liang H, Tang Y, Zhang H, Yang Y. Effects of Fullerene C_{60} Nanoparticles on A549 Cells. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2014;37(2):656-661.

[17] Lynchak OV, Prylutskyy YI, Rybalchenko VK, Kyzyma OA, Soloviov D, Kostjukov VV, et al. Comparative analysis of the antineoplastic activity of C_{60} fullerene with 5-fluorouracil and pyrrole derivative *in vivo*. Nanoscale Research Letters. 2017;12(1):1-6.

[18] Raza K, Thotakura N, Kumar P, Joshi M, Bhushan S, Bhatia A, et al. C_{60}-Fullerenes for delivery of docetaxel to breast cancer cells: A promising approach for enhanced efficacy and better pharmacokinetic profile. International Journal of Pharmaceutics. 2015;495(1):551-559.

[19] Hecht F, Pessoa CF, Gentile LB, Rosenthal D, Carvalho DP, Fortunato RS. The role of oxidative stress on breast cancer development and therapy. Tumor Biology. 2016;37(4):4281-4291.

[20] Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic MM, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions. 2006;160(1):1-40.

[21] Focaccetti C, Bruno A, Magnani E, Bartolini D, Principi E, Dallaglio K, et al. Effects of 5-fluorouracil on morphology, cell cycle, proliferation, apoptosis, autophagy and ROS production in endothelial cells and cardiomyocytes. PLoS One. 2015;10(2):e0115686.

[22] Suzuki S, Okada M, Shibuya K, Seino M, Sato A, Takeda H, et al. JNK suppression of chemotherapeutic agents-ınduced ROS confers chemoresistance on pancreatic cancer stem cells. Oncotarget. 2015;6(1):458-470.

[23] Darsigny M, Babeu JP, Seidman EG, Gendron FP, Levy E, Carrier J, et al. Hepatocyte nuclear factor-4α promotes gut neoplasia in mice and protects

against the production of reactive oxygen species. Cancer Research. 2010;70(22):9423-9433.
[24] Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. Toxicologic Pathology. 2007;3 (4):495-516.
[25] Chen J. The cell-cycle arrest and apoptotic functions of p53 in tumor initiation and progression. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2016;6 (3):a026104.
[26] Kumar B, Iqbal MA, Singh RK, Bamezai RNK. Resveratrol inhibits TIGAR to promote ROS induced apoptosis and autophagy. Biochimie. 2015;118:26-35.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 42-49, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 42-49, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.729752 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Farklı Mineral Katkılı Hafif Harçların Mekanik ve Fiziksel Özelliklerine Yüksek Sıcaklığın Etkisi

Behcet DÜNDAR[1*], Emriye ÇINAR[2]

[1]İnşaat Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Osmaniye, Türkiye
[2]İnşaat Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Osmaniye, Türkiye
Behçer DÜNDAR ORCID-ID: 0000-0003-0724-9469
Emriye ÇINAR ORCID-ID: 0000-0002-9435-2968

**Sorumlu yazar: behcetdundar@osmaniye.edu.tr*

(Alınış: 30.04.2020, Kabul: 19.10.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Hafif harç,
Pomza agregası,
Yüksek fırın cürufu,
Mineral katkı,
Yüksek sıcaklık

Öz: Bu çalışmada, Kolemanit ve Yüksek Fırın Cürufu (YFC) katkılı pomza agregası ile üretilen hafif harçların yüksek sıcaklık etkisi altındaki fiziksel ve mekanik özelliklerinin değişimi araştırılmıştır. Hafif harç numunelerinin üretiminde hidrolik bağlayıcı olarak CEM I 42,5 R Portland Çimentosu, agrega olarak ise 0-4 mm tane boyutuna sahip pomza agregası kullanılmıştır. 40x40x160 mm boyutlarında üretilen hafif harçlara çimento ile ağırlıkça %1, %2 ve %3 oranlarında Kolemanit, %10, %20 ve %30 oranların da ise YFC ilave edilmiştir. Harç numuneleri kalıptan çıkarıldıktan sonra, standart kür havuzunda 7 ve 28 gün boyunca 20 ± 2 ° C sıcaklıkta kür uygulanmıştır. Üretilen harç numunelerinin 7 günlük erken yaştaki eğilme ve basınç dayanımları belirlenmiştir. 28 günü dolduran numunelerin ise, su emme (%), porozite (%), eğilme ve basınç dayanımları gibi özellikleri belirlenmiştir. Harç numuneleri 28 gün kür havuzunda bekletilmesinin ardından 200 °C, 400 °C, 600 °C ve 800 °C sıcaklıklara tabi tutulması sonrasında basınç ve eğilme dayanımları ve ağırlıkça yüzde kayıpları tespit edilmiştir. Mineral katkı kullanılması, harçların ağırlıklarında azalmaya neden olmaktadır. Mineral katkı kullanılarak harçların yüksek sıcaklık sonucunda meydana gelen ağırlık kayıplarında %55 oranlarına varan azalmalara neden olmuştur. Referans numuneye kıyasla mineral katkılı harçların yüksek sıcaklık altın meydana gelen mekanik kayıplar daha az olduğu görülmüştür.

The Effect of High Temperature on the Mechanical and Physical Properties of Light Mortars with Blast Furnace Slag and Colemanite Addition

Keywords
Light mortar,
Colemanite,
Pumice aggregate,
Blast furnace slag,
Mineral additive,
High temperature

Abstract: In this study, physical and mechanical properties of light mortars produced with colemanite (K) and Blast Furnace Slag (YFC) added pumice aggregates under the influence of high temperature were investigated. CEM I 42.5 R Portland Cement was used as a binder in the production of light mortar samples and pumice aggregate with 0-4 mm grain size was used as aggregate. Light mortar samples were produced in the dimensions of 40x40x160 mm. By replacing light mortars with cement, 1%, 2% and 3% by weight of K, 10%, 20% and 30% of the YFC were replaced. The grout samples produced were cured in a standard cure pool for 28 days. Flexural and compressive strength of 7-day old mortar samples were determined. Physical properties such as water absorption and porosity, mechanical properties such as bending and compressive strengths of the samples filling up to 28 days were determined. After exposing 28-day mortar samples to 200 ° C, 400 ° C, 600 ° C and 800 ° C, pressure and bending strengths and weight losses were examined. The use of mineral additives causes a reduction in the weight of mortars. Using mineral additive, it caused up to 55% reduction in the weight losses of the mortars as a result of high temperature. Compared to the reference sample, minerals added mortars were found to have less mechanical losses due to high temperature gold.

1. GİRİŞ

Günümüzde, artan nüfus etkisiyle oluşan konut ve ulaşım sorunlarını etkin bir şekilde çözmek için, çeşitli özelliklere sahip yapılara olan ihtiyaç hızla artmaktadır. Gelişen teknolojiyle birlikte, binaların insanlara daha kaliteli hizmet ve konfor sağladığı görülmektedir. Bu teknoloji sayesinde elektrikli aletler ve gaz kullanımı gibi yeni ekipman ve sistemler gün geçtikçe daha fazla tercih edilmektedir. Ancak günlük yaşantımızda talebi artan bu tercihler binalarda yangın çıkma ihtimalini arttırmaktadır. Bir yangın, her zaman hayati tehlike oluşturmasa bile yapı elemanı ve malzemeleri için ciddi hasara neden olabildiği gibi yapının güvenliğini ve hizmet ömrünü etkiler [1]. Bu malzemeler arasında önemli bir yere sahip olan betonda, çimento hamuru ve agregaların termal özellikleri birbirinden farklıdır. Bu fark betonda iç gerilmelere neden olur ve bu durum genellikle çatlama ile sonuçlanır [2]. Çatlaklar, yüksek sıcaklıklara maruz kalan beton veya harçların çeşitli özellikleri kaybetme nedenleri arasında yer alan ana sorunlardan biridir. Bu çatlaklar, betonun basınç dayanımı ve elastisite modülü gibi mekanik ve elastik özelliklerini zayıflatır ve agrega ile çimento matrisi arasındaki bağı gevşetir [3]. Aynı zamanda, kılcal gözeneklerdeki buhar basıncı, sıcaklığın artmasına bağlı olarak artar. Bu durum betonun veya harçların patlayarak parçalanmasına neden olabilir [4]. Özellikle, yüksek mukavemetli betonlar, daha fazla çatlamaya ve dağılmaya yol açan yüksek sıcaklıklardan önemli ölçüde etkilenir [5]. Çatlakların etkilerini azaltmak ve önlemek için yüksek sıcaklıklara maruz kalan betonlar ve harçlarda farklı lifler kullanımı tercih edilmektedir [6, 7]. Çimento esaslı malzemelerin yüksek sıcaklıklarda dayanım kayıplarına yol açan bir başka sebep ise hidratasyon ürünlerinin ayrışmasıdır. Araştırmacılar, çimentolu matrisin ayrışmasının 105 °C'nin üstünde başladığını ifade etmişlerdir. Kimyasal ve fiziksel ayrışmanın ilk adımı, gözeneklerdeki ve kalsiyum silikat hidrat (C-S-H) jellerinin yapısındaki kimyasal olarak bağlı suyu serbest bırakmasıdır. Bu sürece dehidrasyon denmektedir [8]. Bu aşamada, diğer hidratlar ve etrenjit de ayrışmaya başlar. Ayrıca köken ve türüne göre, agregalar da etkilenmeye başlayabilir [9]. Yaklaşık 300-400 °C'de, C-S-H jelindeki kimyasal olarak bağlanmış ara tabaka suyu buharlaşır. Ayrıca, ilk mikro çatlaklar Ca(OH)2 ve anhidrit çimento bölgelerinde ortaya çıkmaya başlar [10]. Bu aşamada Ca(OH)2, CaO ve H20'ya ayrışır. Isıtma aşamasında, Ca(OH)2'nin ayrışması, mekanik açıdan kritik bir reaksiyon değildir. Bununla birlikte, soğutma işleminde kullanılan su nedeniyle CaO, Ca(OH)2'ye rehidrate olabilir ve bu rehidrasyon, yaklaşık % 44'lük ciddi bir hacim genişlemesi oluşturur [11, 12]. Bu hacimsel genişleme, çatlak sayısını arttırır. Çimento esaslı malzemelerde mineral katkıların kullanılmasının Ca(OH)2'yi tükettiği bilinmektedir. Bu nedenle betonların veya harçların mineral katkılar içermesi, kireç rehidrasyonunun zararlı etkisinden korunmasına sebep olabilir [13]. Ayrıca puzolanik malzemelerin betonların yangına karşı dayanımını arttırdığı da bilinmektedir [14]. 500-600 °C'de karbonatlar parçalanmaya başlar ve bu sıcaklıkların betonda geri dönüşü olmayan zararlar verdiği bilinmektedir. Çünkü betonun ana bağlayıcı fazının önemli bir kısmı, yani C-S-H jelleri ayrışır. Genel olarak 800 °C'nin üzerinde, hemen hemen betonu oluşturan tüm bileşenler parçalanır ve bu da önemli mukavemet ve ağırlık kaybına yol açar [15]. Son yıllarda, yüksek sıcaklık dayanımı sağlamak için karışımlarda mineral katkılar olarak uçucu kül, YFC ve silis dumanı kullanımı yaygınlaşmıştır [16, 17].

Bor minerali, tincal, kolemanit, kernit, uleksit, pandermit, borasit, szaibelyit ve hidroborasit gibi farklı biçimlerde olabilir, en basit bor bileşikleri bor oksit (B2O3) ve borik asittir (H2BO3) ve kalsiyum ile bulunduğunda kolemanit, kalsiyum-sodyum ile uleksit ve sodyum ile bağlandığında "boraks" olarak adlandırılır [18]. Türkiye'nin bor rezervleri bakımından çok zengin olduğu bilinmektedir. Kolemanit B2O3 içeren mineraller arasında en yaygın mineraldir [19]. Kolemanit, yapıştırıcılar, gübreler, yangın geciktiriciler, deterjanlar, tekstil, dezenfektanlar, cam, cam elyaf, emaye, tekstil, kozmetik, antiseptikler, naylon, nükleer güç istasyonu asfalt betonunda kullanılmaktadır [20, 21, 22]. Kolemanit ve kolemanit cevheri atıklarının çimentolu malzemelerde farklı amaçlar için kullanılması konusunda az sayıda çalışma vardır [23, 24]. Literatürdeki çalışmaların sonuçları, çimento bazlı malzemelerdeki bor minerallerinin kullanılmasını teşvik etme yönündedir. Bu çalışmada, gerek atık ürünlerin değerlendirilmesi gerekse günümüzde her an karşılaşılabilecek yangın afeti karşısında çimento esaslı malzemelerin dayanıklılığını arttırmak için mineral katkı kullanımı incelenmekte ve bu kapsamda Kolemanit minerali ile üretilmiş harçların, fiziksel ve mekanik özellikleri yanında yüksek sıcaklık etkisi altındaki davranışları araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda kolemanit %5'den fazla kullanılmaması yönünde önerilerde bulunmuşlardır [25]. Kolemanit oranları çimentonun %2'sinden fazla kullanıldığında hidrasyon sürecine zarar verici etkisi nedeniyle diğer katkı maddelerinden farklı seçilmiştir [26].

Yüksek sıcaklığın hafif harçlar üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada agrega olarak Osmaniye yöresinden temin edilen pomza kullanılmıştır. Pomza taşları oluşumu esnasında, gazların hızlı bir şekilde uzaklaşması ve hızlı soğuması nedeniyle, faklı boyutlarda ve sayıda boşluk içerir. Gözenekler çoğunlukla birbirlerinden bağımsız olduklarından hafif, su içerisinde uzun zaman yüzen, geçirimliliği az ve yalıtımı oldukça fazladır. Al2O3 bileşimi sayesinde ısıya karşı yüksek dayanım özelliği kazanır. Ürgüp Avanos ve Kayseri'nin Talas-Tomarza-Develi ve Osmaniye'de pomza rezervleri bulunmaktadır [27]. Agrega olarak kullanılan pomzalı harçlarda yüksek sıcaklık etkisi sonucunda ara yüzeyde çatlak gelişimi olmayıp yerine agregada çatlak meydana geldiği gözlemlemiştir. Bu durum pomzalı harçlarda arayüzeyin kuvvetli olduğunu ortaya koymaktadır [28]. Ayrıca pomza, düşük ısıl iletkenliği nedeniyle yüksek sıcaklığa karşı direnci oldukça fazla olan hafif agrega türüdür [39]. Sancak ve Şimşek (2006)'in bildirdiklerine göre hafif agregalı betonun 500°C'ye kadar dayanımını koruduğu ve hafif betonun yangın etkisinden sonra kalan dayanımı,

sıcaklığın yaklaşık 500°C'den 800°C'ye yükselmesi sonucunda yaklaşık %100'den %40'a lineer olarak azaldığı belirtilmiştir [30].

Bu kapsamda, hafif harçlara çimentoyla ağırlıkça yer değiştirmek suretiyle %1, %2 ve %3 oranlarında Kolemanit, %10, %20 ve %30 oranların da ise YFC ilave edilerek numune üretimi yapılmıştır. Harç numunelerine 7 gün kürleme işlemi yapıldıktan sonra eğilme ve basınç dayanımı, 28 gün kürleme işlemi yapıldıktan sonra ise su emme ve porozite oranlarını belirlemek için deneyler uygulanmıştır. Harç numuneleri 28 gün sonunda nihai dayanıma ulaşmasının ardından 200, 400, 600 ve 800 ^{0}C sıcaklıklara maruz bırakılmıştır. Uygulanan sıcaklık sonrası ağırlık kayıpları, eğilme ve basınç dayanımları belirlenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Numunelerin hazırlanmasında bağlayıcı olarak TS EN 197-1 (2012) standardına uygun olarak üretilmiş, özgül ağırlığı 3,16 g cm3 olan CEM I 42,5 R tipi Portland Çimentosu kullanılmıştır [31]. Kullanılan çimentonun kimyasal analizi, üretici çimento fabrikasından alınmış olup, fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

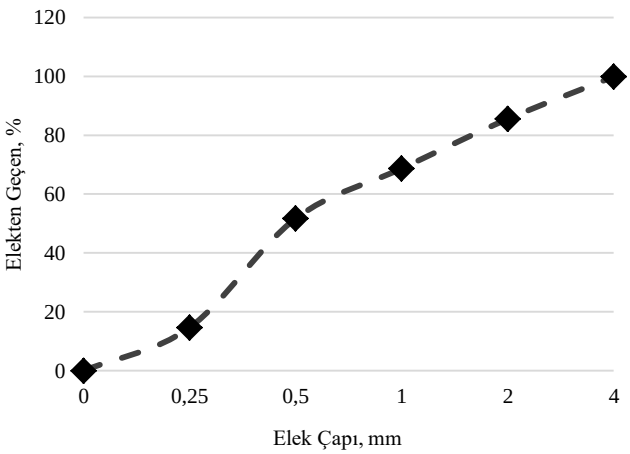
Tablo 1. CEM I 42.5-R Portland çimentosunun kimyasal ve fiziksel analizi

CEM I 42,5	
Kimyasal Analiz	**Miktar (%)**
CaO	62,72
SiO2	20,00
Al2O3	4,92
Fe2O3	3,76
MgO	1,84
SO3	2,65
K2O	0,73
Na2O	0,26
Kızdırma Kaydı	2,54
Çözünmeyen Kalıntı	-
Fiziksel Özellikler	
Özgül Yüzey (Blaine) (cm2/g)	3250
Priz Başlangıcını (saat:dk.)	2:25
Priz Sonu (saat:dk.)	3:40
Hacim Genleşmesi (mm)	1

Deneysel çalışmada kapsamında üretilen harçlarda, TS EN 1008 (2003)'e uygun olan Osmaniye ili şehir şebeke suyu kullanılmıştır [32]. Üretilen harç numunelerinde incelik modülü 3,50 olan ve kırma kum gibi 0-4 mm tane boyutlarına sahip Osmaniye ilinden temin edilen pomza agregası kullanılmıştır. Özgül ağırlığı 1,70 g/cm3 ve su emmesi %14 olan bazik karaktere sahip pomzanın Tablo 2'de kimyasal özellikleri Şekil 1'de ise tane dağılımı verilmiştir.

Tablo 2. Pomzanın kimyasal analizi

Pomza Agregası	
Kimyasal Analiz	**Miktar (%)**
SiO2	45,95
Al2O3	19,95
Fe2O3	7,53
CaO	13,23
MgO	6,24
Na20+K2O	6,69
Diğer	0,41
Toplam	100



Şekil 1. Pomza agregasının granülometri eğrisi

YFC, beton ve çimento üretiminde yapay puzolan olarak kullanılan bir endüstriyel atıktır. Demir-çelik fabrikalarının demir üretimi aşamalarında, 1500 ºC sıcaklığa ulaşan yüksek fırınlarda ergimiş halde oluşan bir yan üründür. Bünyesinde yüksek oranda silis ve alümin içeren granüle YFC, öğütülerek çok ince taneli yapıya sahip olduklarında, puzolanik özellik göstermektedir [33]. Hatay ili İskenderun ilçesinde bulunan İskenderun Demir Çelik Fabrikası'ndan temin edilen YFC'nin kimyasal ve fiziksel özellikleri Tablo 3'te verilmiştir.

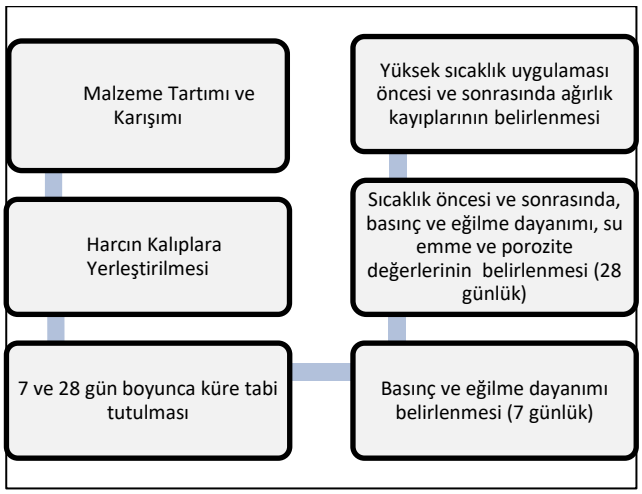
Mineral katkı olarak kullanılan Kolemanit'nin kimyasal analizi Tablo 3'de verilmiştir. Eti Maden İşletmelerinden temin edilmiş Kolemanit, bor madenlerinden çıkarılan ürünün işlemesi esnasında atık malzeme olarak açığa çıkan 75 mikron boyutuna sahip bir malzemedir. Çalışma kapsamında kullanılan Kolemanitin fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. YFC ile Kolemanitin kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları

Kimyasal Kompozisyon (ağırlıkça, %)	**Kolemanit**	**YFC**
B2O3	39,85	-
SiO2	5,6	32,8
Fe2O3	0,03	1,45
Al2O3	0,15	11,8
CaO	27,24	39,8
MaO	2,84	4,15
Na2O	0,1	0,51
Diğer	24,19	9,49
Fiziksel Özellikler		
Kızdırma kaybı (%)	24,06	2,2
Özgül yüzey (g cm-3)	3839	4982
Özgül ağırlık (g cm-3)	2,42	2,8

2.2. Metot

Yüksek sıcaklık etkisine maruz bırakılmış farklı mineral katkı içeren hafif harçların fiziksel ve mekanik özelliklerindeki değişimin incelenmesi için yapılan çalışmanın işlem basamakları Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Çalışmanın işlem basamakları

Yüksek sıcaklık etkisine maruz bırakılmış hafif harçların fiziksel ve mekanik özelliklerinin incelenmesi için yapılan çalışmada 40x40x160 mm boyutlarında harç numuneleri üretilmiştir. Deneysel çalışmada kullanılmak üzere üretilen numunelerde kullanılan malzeme miktarları, TS EN 196-1 (2016)'ye göre belirlenen ağırlıkça karışım oranları kum:çimento:su=3:1:0.5 olacak şekilde Tablo 4'te verilmiştir [34].

Tablo 4. Deneyde kullanılan malzeme miktarları

Numune Adı	Pomza Agregası (gr)	Su (gr)	Çimento (gr)	Mineral Katkı (gr)
REF	850	225	450	0
%10 YFC (%10 Yüksek Fırın Curufu)	850	225	405	45
%20 YFC (%20 Yüksek Fırın Curufu)	850	225	360	90
%30 YFC (%30 Yüksek Fırın Curufu)	850	225	315	135
%1K (%1 Kolamenit)	850	225	445,5	4,5
%2K (%2 Kolamenit)	850	225	441	9,0
%3K (%3 Kolamenit)	850	225	436,5	13,5

YFC ve Kolemanitin harçta puzolanik malzeme olarak kullanımını araştırmak için dayanım indisini belirlemek amacıyla döküm yapılmıştır [35]. YFC'de standart çimento dayanımının %70'inden fazla karşıladığı görülmüştür. Kolemanit oranının artmasıyla birlikte priz süresinde uzamalar görülmüştür ve tayanım indisi deneyi için gerekli malzeme miktarı uygulandığında priz sonlanmadığından kaynaklı kolemanitin dayanım indis deneyi yapılamamıştır.

YFC ve Kolemanit için literatürde belirtilen oranlar dikkate alınarak karışım oranları belirlenmiştir. Referans numune pomza agregası, çimento ve su karışımından meydana gelmektedir. Diğer numunelerde YCF ve Kolemanit kullanılmış ve aradaki fark gözlemlenmiştir. %10, %20, %30 oranlarında YFC ve %1, %2, %3 oranlarında ise Kolemanit mineral katkısı çimento ile ağırlıkça ikame edilmiştir. Harç karışımı yapıldıktan sonra yağlanan kalıplar çimento sarsma masasına yerleştirilerek kalıplara iki aşamada harç dökümü gerçekleşmiştir. 24 saat kalıpta bekletildikten sonra harç numuneleri, kalıplardan çıkartılarak standart kür havuzunda 7 ve 28 gün boyunca kür uygulanmıştır. 7. günü dolduran harç numuneleri üzerinde, TS EN 196-1 (2016) standardına göre eğilme dayanımı tayini ve TS EN 12390-4 (2002) standardına uygun basınç dayanımı tayin edilmiştir [36, 37].

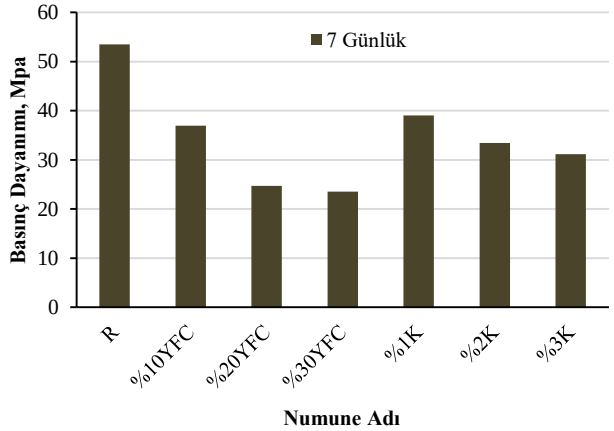
Tüm seriler üzerinde arşimet prensibi ile çalışan terazi yardımıyla porozite ve su emme özelikleri TS EN 1170-6 (1999) standardına uygun olarak belirlenmiştir [38]. Harç numuneleri 28 gün sonunda kür havuzundan çıkartılıp Arşimet Terazisi kullanılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Daha sonra numunelerin havadaki ağırlıkları alınarak 24 saat süresince 110 ºC'de etüvde kurutulup etüv kurusu haline getirilmiştir. Bu işlemin ardından etüvden çıkarılan numuneler oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulduktan sonra etüv kurusu ağırlıkları tartılmıştır. Ölçümler herbir seri için üçer numune kullanılarak bulunan ortalama değerleri alınarak kaydedilmiştir.

Üretilen numuneler üzerinde yüksek sıcaklık uygulanması TS EN 13501-1 (2013) standardına göre yapılmıştır [39]. Bu standarda göre yangın ortamının sıcaklığı 20-1000 °C aralığından, uygulama süresi de 15-300 dk.'dan oluşmaktadır. Harç örnekleri 1800 ºC kapasiteli etüvde 200 ^{0}C, 400 ^{0}C, 600 ^{0}C ve 800 ^{0}C de sıcaklık etkisine maruz bırakılmış ve bütün sıcaklık değerlerinde 60 dk. fırın içerisinde bekletilmiştir. Ardından laboratuvar koşullarının sıcaklığına gelinceye kadar soğumaya bırakılmıştır. Yüksek sıcaklığa maruz bırakılan numuneler soğuma işleminden sonra tekrar eğilme, basınç deneyleri ve ağırlık kayıpları belirlenmiştir.

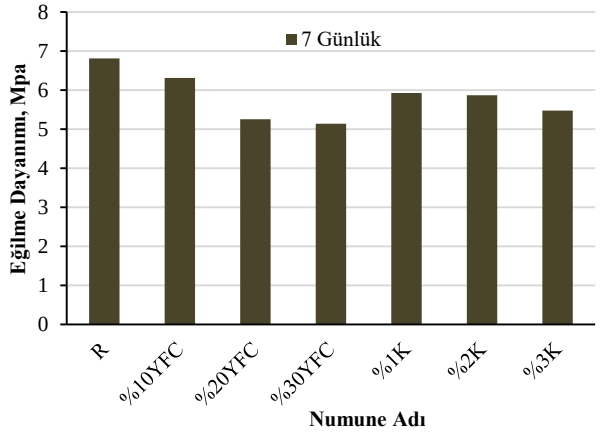
3. BULGULAR

Harç numunelerinin Şekil 2'de verilen 7 günlük basınç dayanım değerleri incelendiğinde, katkı oranının artmasına bağlı olarak referans örneğine göre dayanımlarda azalmalar meydana geldiği görülmektedir. Referans numunenin basınç dayanımı 43,48 MPa iken, %10, %20 ve %30 oranlarında YFC kullanıldığında basınç dayanımları sırasıyla 36,96, 24,67 ve 23,54 MPa şeklindedir. Kolimanit kullanıldığında da benzer bir davranış gözlenmekte, fakat katkı oranına bağlı olarak meydana gelen azalma oranlarının daha az olduğu görülmektedir. Bu oranlar, %1K, %2K ve %5K oranlarında Kolemanit kullanıldığında basınç dayanımları sırasıyla 39,06, 33,45 ve 31,13 MPa şeklinde elde edilmiştir. Referans numuneye kıyasla %30 YFC kullanımında basınç dayanımı %45,86 oranında, %5 Kolemanit kullanımında %28,40 oranında azaldığı görülmüştür. Harç numunelerinin Şekil 3'deki 7 günlük eğilme dayanımları incelendiğinde, referans numunenin eğilme dayanımı 6.81 MPa iken, %10YFC, %20YFC ve %30YFC oranlarında kullanıldığında eğilme dayanımları sırasıyla 6,31, 5,26 ve 5,14 MPa olmuştur. %1K, %2K ve %3K oranlarında kullanıldığında eğilme dayanımları sırasıyla azalarak

5,93, 5,87 ve 5,48 MPa değerine düşmüştür. Bazı puzolanların dayanım üzerindeki olumlu etkisinin uzun vadede kendisini gösterdiği bilinmektedir. Burada da belirtilen oranlarında kullanılan Kolemanitin üretilen harçların erken dayanımı üzerinde fazla etkili olmadığı, fakat YFC'den daha az dayanım kaybına neden olduğu gözlenmiştir. Referans numuneye kıyasla %30 YFC kullanımında basınç dayanımı %24,52 oranında, %5 Kolemanit kullanımında %19,53 oranında azaldığı görülmüştür. 7 günlük eğilme dayanımlarında meydana gelen azalmanın basınç dayanımlarında meydana gelen azalmadan daha az olduğu, erken yaştaki dayanımlarda Kolemanitin YFC'ye göre daha yüksek çıktığı görülmüştür. Kolemanitin oranlarının YFC'den daha az olmasından kaynaklı harç içerisinde ki çimento miktarında daha yüksek olması nedeniyle erken yaşta dayanımlar daha yüksek çıkmaktadır.

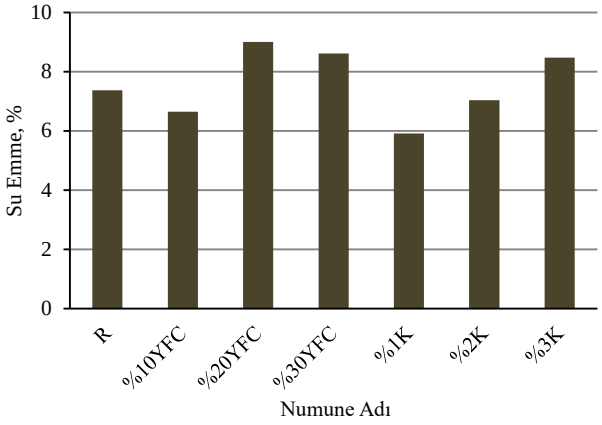


Şekil 2. Harç numunelerinin 7 günlük basınç dayanımları

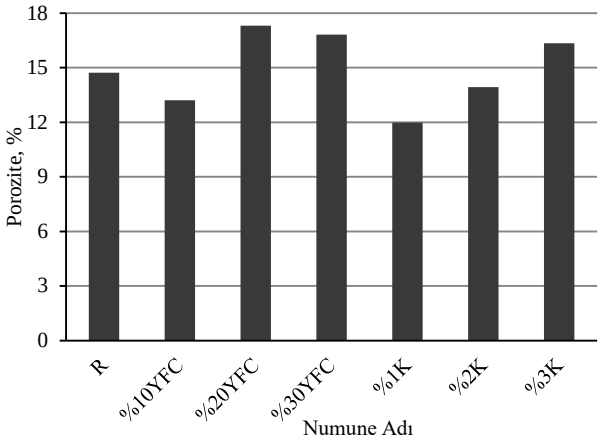


Şekil 3. Harç numunelerinin 7 günlük eğilme dayanımları

Harç numunelerinin su emme (%) oranları Şekil 4'te, porozite (%) oranları Şekil 5'de verilmiştir. %10YFC kullanıldığında numunenin su emme ve porozite oranları azalmakta, %20YFC ve %30YFC olması durumunda ise artmaktadır. Diğer yandan %1K ve %2K kullanıldığında kolemanit minerali ilavesi numunenin su emme ve porozite oranlarında azalmaya, %3K kullanıldığında ise artış meydana gelmiştir. Numunelerde ki mineral katkı oranının artmasıyla birlikte ince madde miktarı da artmaktadır. İnce madde oranının artmasıyla birlikte yüzey alanı arttığından su ihtiyacı da artmaktadır. İşlenebilirliği olumsuz etkileyen yetersiz su kullanımından kaynaklı yerleşme güçlükleri ortaya çıkartarak daha gözenekli yerleşmesine sebep olmaktadır, bu durumda su emme ve porozite oranlarında artışa sebep olmaktadır.



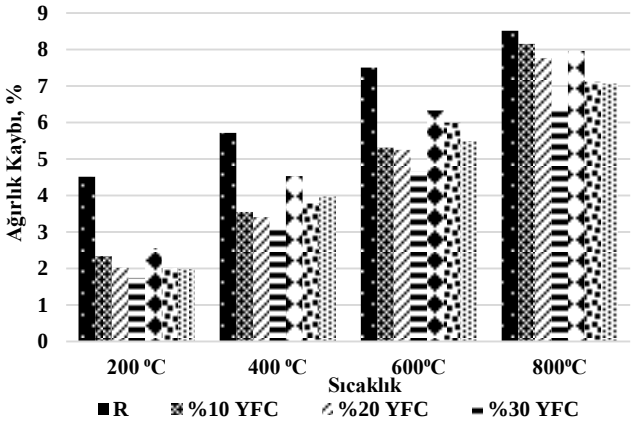
Şekil 4. YFC ve Kolemanit içeren harçların 28 günlük su emme oranları (%)



Şekil 5. YFC ve Kolemanit içeren harçların ve 28 günlük porozite oranları (%)

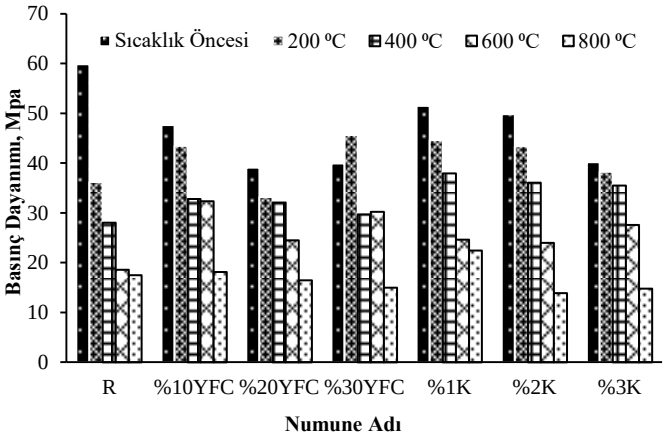
Yüksek sıcaklık uygulandıktan sonra numunelerde meydana gelen ağırlık kaybı oranları Şekil 6'da verilmiştir. Sıcaklığın artmasıyla birlikte ağırlık kayıp oranlarının da arttığı gözlenmiştir. Referans numunede 200 ^{0}C'de %4,51 ağırlık kaybı meydana gelirken sıcaklığın 800 ^{0}C'ye çıkmasıyla birlikte ağırlık kaybının %8,51'ye çıktığı tespit edilmiştir. Mineral katkı kullanılması, harçların ağırlıklarında azalmaya neden olmaktadır. Sıcaklığın 200 ^{0}C olması durumunda referans numunenin ağırlık kaybı %4,51 iken YFC oranının %30 olması ile %1,74 değerine, Kolemanit oranının %3 olması ile %1,99 değerine düştüğü belirlenmiştir. Sıcaklık 800 ^{0}C'ye çıktığında ise referans numunede ağırlık kaybı %8,52 iken, %30YFC katkılı örnekte %6,34, %3K katkılı numunede ise %7,07 oranında olduğu tespit edilmiştir. YFC kullanımı, 200 ^{0}C'de ağırlık kaybında %61,50 ve 800 ^{0}C'de ise %25,59 oranında azalmaya yol açmaktadır. Kolemanit kullanımı ile 200 ^{0}C'de ağırlık kaybı %55,97 ve 800 ^{0}C'de %17,02 oranında azalma meydana gelmiştir. Mineral katkı kullanılarak harçların yüksek sıcaklık sonucunda meydana gelen ağırlık kayıplarında %55 oranlarına varan azalmalara neden olmuştur. Yüksek sıcaklıkta

hidratasyon ürünlerinden ilk olarak kalsiyum hidroksitler daha sonra C-S-H jelleri parçalanmaktadır. Mineral katkı kullanımı ilk yıkıma uğrayacak kalsiyum hidroksitleri, C-S-H jellerine dönüştürdükleri için yüksek sıcaklığa karşı dayanıklılığı arttırmaktadırlar [40].

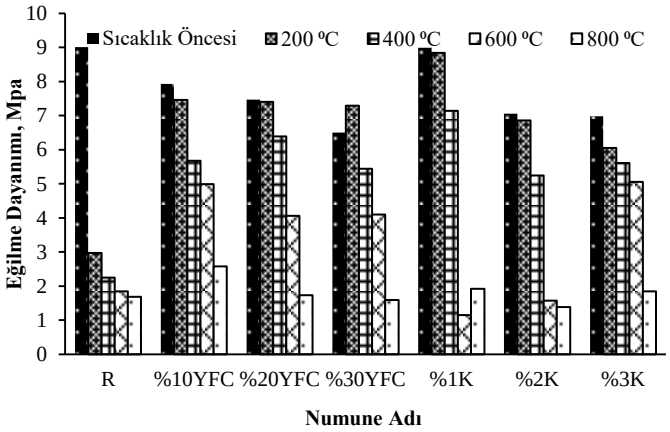


Şekil 6. Sıcaklık öncesi ve sonrası ağırlık kaybı oranları (%)

28 günlük numunelerin sıcaklık öncesi ve sonrası basınç dayanımları Şekil 7'de, eğilme dayanımları da Şekil 8'de verilmiştir. Sıcaklığın artması birlikte Şekil 7 ve Şekil 8'de görüldüğü gibi basınç ve eğilme dayanımlarında düşüler meydana gelmektedir. Basınç dayanımları incelendiğinde, referans numunede sıcaklığın 800 ^{0}C'ye çıkmasıyla basınç dayanımında %70,82, %30YFC'de %62,51 ve %3K'da ise %63,17 oranlarında azalmalar ortaya çıkmıştır. Eğilme dayanımları incelendiğinde, referans numunede sıcaklığın 800 ^{0}C'ye çıkmasıyla basınç dayanımında %81,24, %30YFC numunesinde ise %78,19, %3K numunesinde ise %73,50 oranlarında düşüşler meydana gelmektedir. Belirtilen oranlarda kullanılan her iki mineral katkının, artan sıcaklık etkisi altında harçların basınç ve eğilmede çekme dayanımlarını azalttığı belirlenmiştir. Referans numuneye kıyasla mineral katkılı harçların yüksek sıcaklık altın meydana gelen mekanik kayıplar daha az olduğu görülmüştür. Yüksek sıcaklık sonucunda dayanım sağlayan hidratasyon ürünlerinin yıkılması ile birlikte mekanik dayanımlarda azalmalar meydana gelmektedir [41]. Harçların sıcaklık sonrası ağırlık kayıpları ile mekanik dayanımlarında meydana gelen kayıplar paralellik göstermiştir. Mineral katkı oranının artmasıyla birlikte daha çok kalsiyum hidroksitin daha çok C-S-H jeline dönüşmesinden kaynaklı mekanik özelliklerde sıcaklık etkisi altında artış gözlemlenmiştir. Kolemanitin, YFC'ye kıyasla daha düşük oranlarda kullanılması kullanılması daha az puzolanik etki sağladığı için daha fazla dayanım düşüşlerine sebep olmuştur.



Şekil 6. Sıcaklık öncesi ve sonrası basınç dayanımları (MPa)



Şekil 7. Sıcaklık öncesi ve sonrası eğilme dayanımları (MPa)

4. SONUÇ

- Harç içerisinde mineral katkı oranının artması, harçların 7 günlük basınç ve eğilme dayanımlarını düşürmektedir.
- %20'ye kadar YFC katkı oranı harçların su emme ve porozitesi üzerinde azaltıcı, bu oranın %30 olması durumunda da arttırıcı bir etki yapmaktadır. Kolemanit oranının %1'dan fazla olması ise harcın su emme ve porozite oranlarını arttırmaktadır.
- Kolemanit ve YFC katkılı harçların gerek fiziksel ve mekanik özellikleri gerekse yüksek sıcaklığa maruz kaldıklarında meydana gelen değişimlerin birbirlerine benzerlik gösterdiği saptanmıştır.
- Sıcaklığın artmasıyla birlikte tüm numunelerde ağırlık kayıp oranlarının arttığı, eğilme ve basınç dayanımlarının azaldığı görülmektedir.
- YFC kullanımı 200 ^{0}C'de ağırlık kaybında %61,50 ve 800 ^{0}C'de ise %25,59 oranında azalmaya neden olmaktadır.
- Kolemanit kullanımı 200 ^{0}C'de ağırlık kaybı %55,97 ve 800 ^{0}C'de %17,02 oranında azalma meydana getirmiştir.
- Mineral katkı kullanımı ile yüksek sıcaklığın etkisiyle meydana gelen ağırlık kayıplarının ve mekanik dayanımlardaki kayıpların azaldığı gözlemlenmiştir.
- %3 oranında Kolemanit kullanılması harcın yüksek sıcaklıklarda meydana gelen ağırlık kayıplarını azaltmaktadır.

• Mekanik dayanım açısından YFC katkısının kolemanite göre harçların mekanik özellikleri üzerine daha iyi bir etki yaptığı, bu karşın kolemanit katkısının ise YFC ye göre daha az ağırlık kaybına neden olduğu tespit edilmiştir.
• Referans numuneye kıyasla mineral katkılı harçların yüksek sıcaklık altın meydana gelen mekanik kayıplar daha az olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

[1] Wang W, Lu C, Li Y, Li Q. An investigation on thermal conductivity of fly ash concrete after elevated temperature exposure. Constr. Buıld. Mater. 2017; 148: 148-157.

[2] Fu YF, Wong Y. L, Tang C. A, Poon CS. Thermal induced stress and associated cracking in cement-based composite at elevated temperatures-Part II: Thermal cracking around multiple inclusions. Cem. Concr. Compos. 2004; 26 (2): 99-111.

[3] Yüzer N, Aköz F, Öztürk LD. Compressive strength-color change relation in mortars at high temperature. Cem. Concr. Res, 2004; 34 (10): 1803-1807.

[4] Abid M, Hou X, Zheng W, Hussain RR. High temperatureandresidualproperties of reactive powder concrete-A review. Constr. Buıld. Mater; 2017;147: 339-351.

[5] Noumowe AN, Siddique R, Debicki G. Permeability of high-performance concrete subjected to elevated temperature (600°C). Constr. Buıld. Mater. 2009; 23 (5): 1855-1861.

[6] Abaeian R, Behbahani P, Moslem SJ. Effects of high temperatures on mechanical behavior of high strength concrete reinforced with high performance synthetic macro polypropylene (HPP) fibres. Constr. Buıld. Mater. 2018; 165: 631-638.

[7] Köksal F, Şahin M, Lopez MAS, Gencel O. Combined effect of steel fibre and expanded vermiculite on properties of lightweight mortar at elevated temperatures. Mater. Struct. 2015; 48: 2083-2092.

[8] Arioz O. Effects of elevated temperatures on properties of concrete. Fire Saf. J. 2007; 42 (8):516-522.

[9] Gavin D, Pesavento F, Schrefler A. Modelling of deformations of high strength concrete at elevated temperatures, Mater. Struct. 2004; 37 (4): 218-236.

[10] Aydın S, Baradan B. Effect of pumice and fly ash in corporation on high temperature resistance of cement-based mortars. Cem. Concr. Res. 2007; 37: 988-995.

[11] Lin WM, Lin TD, Powers LJ. Microstructures of fire-damaged concrete, ACI Mater. J. 1996; 93 (3): 199–205.

[12] Mendes A, Sanjayan JG, Collins F. Effects of slagandcooling method on the progressive deterioration of concrete after exposure to elevated temperatures as in a fire event. Mater. Struct. 2011; 44:709-718.

[13] Oner A, Akyüz S, Yildiz R. An experimental study on strength development of concrete containing fly ash and optimum usage of fly ash in concrete. Cem. Concr. Res. 2005; 35 (6): 1165-1171.

[14] Yüksel I, Siddique R, Özkan Ö. Influence of high temperature on the properties of concrete made by industrial by-products as fine aggregate replacement. Constr. Buıld. Mater. 2011; 25 (2): 967-972.

[15] Crook DN, Murray MJ. Regain of strength after firing of concrete. Mag. Concr. Res. 1970; 22(72): 149-154.

[16] Akça AH, Özyurt N. Effects of re-curing on microstructure of concrete after high temperature exposure. Constr. Buıld. Mater. 2018; 168: 431-441.

[17] Liang X, Wu C, Su Y, Chen Z, Li Z. Development of ultra-high-performance concrete with high fire resistance. Constr. Buıld. Mater. 2018; 179: 400-412.

[18] Bideci ÖS. The effect of high temperature on lightweight concretes produced with colemanite coated pumice aggregates. Constr. Buıld. Mater. 2016; 113: 631-640.

[19] Chan YN, Luo X, Sun W. Compressive strengt hand porestructure of high-performance concrete after exposure to high temperature 800°C. Cem. Concr. Res. 2000; 30: 247-251.

[20] Kütük S, Kütük-Sert, T. An examination of nanoparticle colemanite mineral added warm mix asphalt. Constr. Buıld. Mater. 2020; 118-252.

[21] Kütük-Sert TK, Kütük S. Physical and marshall properties of borogypsum used as filler aggregate in asphalt concrete, J. Mater. Civ. Eng. 2013; (25): 266-273.

[22] Kütük-Sert T, Stability analyses of submicron-boron mineral prepared by mechanical milling process in concrete roads, Constr. Build. Mater. 2016; (121): 255-264.

[23] Uysal M, Al-Mashhadani MM, Aygörmez Y, Canpolat O. Effect of using colemanite waste and silicafume as partial replacement on the performance of metakaolin-based geopolymer mortars. Constr. Build. Mater. 2018; 176: 271-282.

[24] Korkut T, Karabulut A, Budak G, Aygün B, Gencel O, Hançerlioğulları A. Investigation of neutron shielding properties depending on number of boron atoms for colemanite, ulexite and tincal ores by experiments and FLUKA Monte Carlo simulations. Appl. Radiat. Isot. 2012; 70 (1): 341-345.

[25] Oto B, Gür, A, Kaçal MR, Doğan B, Arasoğlu A. Photon attenuation properties of some concretes containing barite and colemanite in different rates. Annals of Nuclear Energy, 2013; 51: 120-124.

[26] Yalçın S. The inhibitive effect of colemanite added cement on the corrosion of reinforcing steels M.Sc. Thesis, Gazi University, Institute of Science and Technology, Ankara, 1996 Türkiye.

[27] Yaşar E, Erdoğan Y. Asidik (Nevşehir) ve bazik (Osmaniye) pomzaların yapı sektöründe değerlendirilmesi. Türlüye 19. Uluslararant Madencilik Kongresi ve Fuarı. 2005; İzmir, 409-413

[28] Türker P, Erdoğdu K, Erdoğan B. Farklı tiplerde agregalar içeren yangına maruz kalmış

harçların incelenmesi, Çim. Bet. Dün. 2001; 6: 52-69.
[29] Shoaib MM, Ahmed SA, Balaha MM. Effect of fire and cooling mode on the properties of slag mortars, Cement Concrete Res. 2001; 31 (11): 1533-1538.
[30] Sancak, E. ve Şimşek, O., (2006) Yüksek Sıcaklığın Silis Dumanı ve Süper akışkanlaştırıcı Katkılı Hafif Betona Etkileri Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der. Cilt:21, No: 3, ss:443-450,
[31] TS EN 197-1. Çimento- Bölüm 1: Genel çimentolar-Bileşim, özellikler ve uygunluk kriterleri, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2012.
[32] TS EN 1008. Beton-Karma suyu-Numune alma, deneyler ve beton endüstrisindeki işlemlerden geri kazanılan su dahil, suyun, beton karma suyu olarak uygunluğunun tayini kuralları, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2003.
[33] Hosseini SV, Eilbeigi S, Nilforoushan MR. Effects of three types of iron and steel slag on fresh and hardened properties of ordinary portland cement, Advances in Molten Slags, Fluxes, and Salts: Proceedings of the 10th International Conference on Molten Slags, Fluxes and Salts. 2016; 837-846.
[34] ASTM C 618. Standart Specification for Coal Fly Ash and Raw or Calcined Naturel Pozzolan for Use as a Mineral Admixture in Portland Cement Concrete. Annual Book of ASTM Standards, 1994.
[35] Dündar B, Çınar E, Çalışkan AN. An investigation of high temperature effect on pumice aggregate light mortars with brick flour. Res. Eng. Struct. Mat. 2020; X(X): 1-15, http://dx.doi.org/10.17515/resm2019.163ma1121 (basımda)
[36] TS EN 196-1. Çimento deney metotları-Bölüm 1: Dayanım tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2016.
[37] TS EN 12390-4. Beton-Sertleşmiş beton deneyleri-Bölüm 4: Basınç dayanım Deney makinelerinin özellikleri, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2002.
[38] TS EN 1170-6. Ön yapımlı beton mamuller-Cam elyaf takviyeli çimento (ctc) deney metodu-Bölüm 6: Suya daldırma yoluyla su emme ve kuru yoğunluk tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 1999
[39] TS EN 13501-1+A1. Yapı mamulleri ve yapı elemanları, yangın sınıflandırması bölüm 1: Yangın karşısındaki davranış deneylerinden elde edilen veriler kullanılarak sınıflandırma, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2013.
[40] Sarshar R, and Khoury GA. Material and environmental factors ınfluencing the compressive strength of unsealed cement paste and concrete at high temperatures. Magazine of Concrete Research. 1993; 45: 51-61.
[41] Yüzer N, Aköz F, Öztürk LD. Compressive strength-color change relation in mortars at high temperature. Cement and Concrete Research. 2004; 34: 1803-1807.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.731005 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Effect of Boron Wastes on the Engineering Properties of Perlite Based Brick

Selçuk ÇİMEN[1], Hakan ÇAĞLAR[2], Arzu ÇAĞLAR[3], Ömer CAN[4]*

[1]Bayburt University, Graduate Education Institute, Department of Civil Engineering Bayburt, Turkey
[2]Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Civil Engineering, Kırşehir, Turkey
[3]Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Architecture, Kırşehir, Turkey,
[4]Bayburt University, Faculty of Engineering, Department of Civil Engineering Bayburt, Turkey
Selçuk ÇİMEN ORCID No: 0000-0003-4536-7693
Hakan ÇAĞLAR ORCID No: 0000-0002-1380-8637
Arzu ÇAĞLAR ORCID No: 0000-0003-3928-8059
Ömer CAN ORCID No: 0000-0002-8182-2967

Sorumlu yazar: ocan@bayburt.edu.tr

(Alınış: 02.05.2020, Kabul: 26.10.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Keywords
Boron waste, Brick production, Perlite, Physical properties, Mechanical properties

Abstract: The industrial development brings about the formation of wastes. These wastes can be reused in other sectors as byproducts to mitigate the harmful effects they have on the environment. One of the areas where these wastes are evaluated is in brick manufacturing for the construction sector. This study focuses on the use of industrial boron waste to improve physical and mechanical properties of bricks locally produced adding perlite. In this study brick samples were produced by using boron wastes at ratios of 5%, 10%, 15% and 20% while keeping perlite materials constant at 5%. The samples were heated at 900°C. Physical and mechanical tests were performed on brick samples obtained after heating in the oven. Specific gravity, water-saturated unit volume, porosity and freezing-dissolution tests were performed to determine physical properties. In order to determine the mechanical properties, compressive strength and bending tensile strength tests were conducted to the brick samples. As a result of the mechanical tests, the best result was obtained from 20%BT+5%P doped brick samples. It is concluded that the usage of perlite and boron wastes as additives in the production of bricks has desirable effects on improving physical and mechanical properties of bricks.

Bor Atıklarının Perlit Esaslı Tuğlanın Mühendislik Özelliklerine Etkisi

Anahtar Kelimeler
Bor atığı, Tuğla üretimi, Perlit, Fiziksel özellikler, Mekanik özellikler

Öz: Endüstrinin gelişmesi atıkların oluşumunu beraberinde getirmektedir. Bu atıkların uygun sektörlerde kullanılması atıkların çevreye vereceği zararı minimize etmektedir. Bu atıkların değerlendirildiği alanlardan biri de inşaat sektörünün tuğla koludur. Bu çalışmada yerel malzemelerimizden olan perlit ve kıymetli endüstri atığı olan bor atığının tuğla yapı malzemesi özelliklerinin iyileştirilmesi üzerinde durulmuştur. Çalışmada tuğla bünyesine %5 perlit malzemesi sabit tutularak, %5, %10, %15 ve %20 oranlarında bor atığı ikame ederek tuğla numuneleri üretilmiştir. Üretilen numuneler 900 0C'de pişirilmiştir. Pişirilme sonucunda elde edilen tuğla numunelerine fiziksel ve mekanik deneyler uygulanmıştır. Fiziksel farklılıklarının tespiti için özgül ağırlık, suya doygun birim hacim ağırlık, porozite ve donma-çözünme deneyleri yapılmıştır. Mekanik özelliklerinin tespiti için ise tuğla numunelerine basınç dayanımı ve eğilmede çekme dayanımı deneyleri uygulanmıştır. Sonuç olarak; perlit ve bor atığı katkısının uygun oranlarda tuğla üretiminde kullanılabileceği, kullanılması durumunda tuğla özelliklerine herhangi bir sakıncası olmadığı ve olumlu yönde etki sağladığı görülmüştür.

1. INTRODUCTION

Brick is a construction material obtained by heating in special kilns a mixture of clay or clay soils with water, sometimes sand is also added [1]. The fact that the proper soil for brick production is abundant and the production is cheap and easy causes bricks to be used intensively in the construction industry [2]. A through rapid industrial and technology development, new products are added to the construction sector. The process of improving the properties of brick materials by partially replacing local raw materials with industrial wastes of these additives is also gaining momentum. When studies in the literature are considered on the improvement of brick materials It has been determined that boron clay wastes can be used in brick construction as replacement of raw materials [3].

Recent studies have reported on the manufacturing of bricks by using different industrial wastes such as boron wastes, thermal power plant ash, colemanite and coal dust [4, 5]. Yamık et al. examined the usability of industrial byproducts such as fly ash, colemanite waste and brick clay obtained from the Seyitömer thermal power plant as partial replacement of raw materials into brick making. As a result, they stated that bricks meeting Turkish Standards were successfully produced by using 15%, 15% and 70% of fly ash, colemanite and clay respectively [6]. Uslu and Arol found that boron waste causes environmental pollution. They investigated the use of borax wastes in brick production to reduce waste problems. They produced bricks by adding up to 30% boron waste by weight. They made physical and mechanical tests on the samples they produced. As a result, they determined that boron is suitable for brick production [7] .

It was found by Kavas that mechanical properties of bricks were greatly improved by substituting 15% of clay by boron waste, furthermore boron waste can be used as a fluidizing material [8]. It was reported by Abali that industrial waste bricks have positive effects on shortening of drying time, water absorption and weight loss properties [9]. Christogerou et al. in their studies, substituted 0.5% and 15% of the clay material used in the production of ceramics [10]. In his study Rashad investigated the effect of expanded perlite, which is generally used as building material, on the fresh and hardened properties of conventional cementitious materials and other binders [11]. Topçu et al. used perlite to provide thermal insulation in buildings. In the traditional brick manufacturing, they have produced high temperature resistant bricks by adding perlite to clay. Clay and perlite were used in the study. It worked to form a material resistant to high thermal conductivity, and as a result, the best mixture was determined to be a mixture containing 30% perlite [12]. Velasco et al. has used various environmentally friendly wastes in brick production. Reuse of waste in brick production is a different way of managing waste. In addition to increasing brick properties, it can have several advantages for brick manufacturers [13]. Çiçek et al. to evaluate boron wastes, wall and floor tile production. The place has been found to meet the requirements of TS EN ISO 10545 standard [14].

In this study, it is aimed to investigate the usability of our local materials such as perlite (main raw material) and clay-boron waste (natural binder) into the production sustainable bricks. By using perlite and boron wastes it is intended to produce bricks having low weight and high strength. There is a large amount of perlite aggregate in our country. In addition, boron waste is generated during the processing of boron.

2. MATERIAL AND METHOD

2.1. Materials

2.1.1. Boron waste

Boron, indicated with the symbol B in the periodic table. Ca, Mg and Na elements exist as hydrate compounds. These are boron minerals of economic value. Tincal ($Na_2B_4O_7.10H_2O$), which have commercial value among boron minerals, were used in our study [15, 16]. Boron is a valuable underground richness that is widely used in industry (glass-ceramic industry, cleaning-whitening industry, health, cement, metallurgy, energy, etc.). In the study, the boron waste used as additive material was obtained from Eti Mine Enterprises, Directorate General of Kırka Boron (Kırka/Eskisehir, Turkey). The physical and chemical properties of boron waste are given in Table 1 and The component rates of boron waste are given in Table 3.

Table 1. Chemical analysis of boron waste

Chemical Properties											
%	B_2O_3	CaO	SiO_2	MgO	SrO	Al_2O_3	Fe_2O_3	Na_2O	K_2O	SO_3	A.Za.
Boron Waste	22.9	11.8	9.06	12.63	0.59	0.47	0.10	4.48	0.20	0.11	40.59

2.1.2. Clay soil

Clay mineral is a soft and very fine-grained raw material which can be found easily and abundantly in nature. Clay is an aluminum silica compound with high water holding power. In experimental studies, the content of 38.49% Si, 21.83% O, 14.95% Ca, 8.67% Mg, 6.93% Fe, 5.21% Nb, with 2.06% K and 1.87% Mg, Taşköprü from the region (Kastamonu, Turkey) subtracted, red clay was used (Table 2).

Table 2. Chemical analysis of clay soil

Chemical Properties								
%	O	Mg	Al	Si	Nb	K	Ca	Fe
Clay Soil	21.83	1.87	8.67	38.49	5.21	2.06	14.95	6.93

2.1.3. Perlite

The perlite material was obtained from Persan Inc. in Erzincan. The properties of perlite aggregate are given in Table 3.

Table 3 Perlite constituents of perlite aggregate

Chemical Properties									
%	SiO_2	K_2O	CaO	Fe_2O_3	MnO	Al_2O_3	Na_2O	MgO	TiO_2
Perlite	71-75	4-5	0.40-0.82	0.3-0.5	0.071	12.5-16	3.2	0.02-0.03	0.01

2.2. Method

A total of 192 samples were produced for the determination of physical and mechanical properties. To determine the physical properties, specific gravity, water saturated unit volume weight, porosity, capillary water absorption, freeze-thaw effect test, compressive strength and flexural tensile strength tests were applied on the prepared samples.

Specific gravity test and water saturated unit volume weight test was performed according to [17]. Similarly, porosity test, capillary water absorption and freeze-thaw test were performed according to TS EN 772-4, TS EN 772-11 and TS CEN / TS 12390-9 respectively [18–20]. In order to specify the mechanical properties of brick samples produced with boron waste and perlite added The compressive strength [21], tensile strength tests for bending was carried out according to TS EN 772-6 [22].

2.2.1. Preparation of test samples

The production of doped boron waste samples was made in the Emek Brick Factory R & D laboratory located in Boyabat district of Sinop province. The sample taken from the clay soil masses by the method of quartz was grinded in the laboratory type roller hammer and then 1 mm. sieve material was obtained. Boron waste and expanded perlite to be used as additive in the test were also applied to the same processes. The recipe prepared for brick stuff is given in Table 4. When preparing the samples, 20% of the total weight of the material was added to each mixture. The samples were produced in 4x4x16 cm sizes using the moulding procedure.

The samples were first become oven dry in the oven and then weighed on the sensitive scale and taken in the prescribed proportions. The collected dry materials were mixed for 15 minutes to obtain a homogeneous dry mixture. Water was added to the dry mixture and mixed with a mixer and the resulting paste was rested. The prepared dough was allowed to stand for 24 hours in such a way that it did not lose its moisture and was stirred (5 minutes) in the mixer until no air bubbles were left in it. After the kneading process was finished, the mixture prepared in plastic consistency was poured into steel molds.

Table 4. The prescription of mixture ratio

	Clay Soil (%)	Boron Waste (%)	Perlite Additive (%)	Water (%)
Ref. Sample	100	-	-	20
%5BW+%5P	90	5	5	20
%10BW+%5P	85	10	5	20
%15BW+%5P	80	15	5	20
%20BW+%5P	75	20	5	20

BW: Bor Waste; **P:** Perlite Additive

The test samples were removed from the molds after standing for 24 hours under normal weather conditions. Samples of semi-finished bricks was left to dry in a semi-open area for 7 days. After 7 days, it was baked in an electric ash oven with timed temperature at 900°C, which was suitable for brick material [7]. After the cooking process was finished, the samples were allowed to cool and removed from the oven. Extracted bricks samples were brought to room temperature (+2°C) as shown in Figure 1. Laboratory type electric furnace with a volume of 500 lt and a cooking capacity of 1200 oC was used in the firing process of the brick samples. As a firing regime, 2.5 oC / minute was applied and the oven was turned off after the samples were kept for one hour at the final temperatures. Six samples were produced for each experiment. The required tests were performed to determine the mechanical and physical properties of the samples.

Figure 1. View of brick samples

2.2.2. Samples tests

Physical (specific gravity, water-saturated unit volume weight, porosity, effect of freezing-dissolution on compressive strength) and mechanical (compressive strength, tensile strength in bending) experiments were applied to brick samples.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Given in the graphs, REF; refers to reference sample, 5%BT; 5% boron waste added samples, 10%BT; 10% boron waste added samples, 15%BT; 15% boron waste added samples, 20%BT; 20% boron waste added samples, 5%P; 5% of perlite added samples.

3.1. Specific Gravity

When compared between doped samples, it is seen that the highest specific gravity is obtained from the 5%BT+5%P doped brick sample and the lowest specific gravity is 20%BT+5%P brick Figure 2. As a result, with the increase of the amount of boron waste, it was determined that the specific gravity of the brick samples decreased.

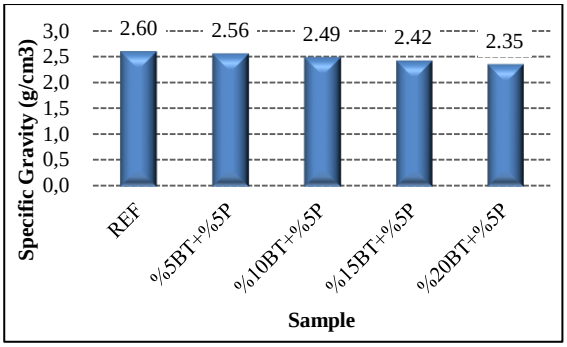


Figure 2. Comparison of specific gravity of samples

3.2. Water-Saturated Unit Volume Weight

The doped sample brick of 20%BT+5%P is the highest sample with a weight value of 1.98 gr/cm³ water-saturated unit volume Figure 3. This brick sample is followed by 1.92 gr/cm³ with 15%BT+5%P doped sample brick. Sample with the water-saturated unit weight is %5BT+%5P doped brick sample. Due to the fact that water-saturated unit volume of the %5BT+%5P doped brick sample is low, it is seen that the samples of the brick which will be exposed to atmospheric conditions and the building envelope will be more durable against rain and snow waters compared to other samples.

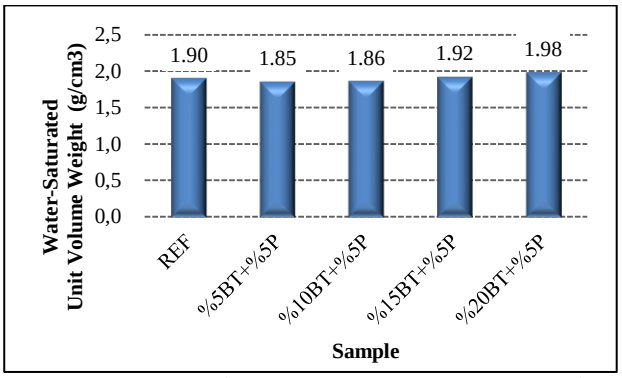


Figure 3. Comparison of water-saturated unit volume weights of the samples

3.3. Porosity

It is seen in the graph that the void ratio of the reference sample is higher than boron waste and doped samples Figure 4. The highest porosity value of boron waste and perlit doped brick samples with a ratio of 26.8% belongs to the sample of 5%BT+5%P brickdoped sample. The lowest porosity value is 20%BT+5%P doped brick sample with 24.8%. Although perlite admixture creates cavities within the brick sample, it passes through the glass to the vitreous phase during cooking and fills the cavities. For this reason, the decrease in porosity value occurs with the increase in the amount of boron waste in the brick sample.

3.4. The Effect of Freezing-Dissolution on Compressive Strength

When the graph is examined, the reference sample was the most resistant brick sample with 25.27% compared to other samples Figure 5. The reference sample was followed by 24.94% with 5%BT+5%P added brick sample, 24.32% with 10%BT+5%P doped brick sample, 20.46% with 15%BT+5%P doped brick sample and 11.71% with 20%BT+5%P doped brick sample. Even though 20%BT+5%P doped brick sample with 11.71% value is seen the lowest, this low value indicates that the strength loss of 20%BT+5%P doped brick sample is low. That is, the low compressive strength value of the 20%BT+5%P doped brick sample after freezing dissolution means that this sample is less affected by the freeze dissolution test than other samples.

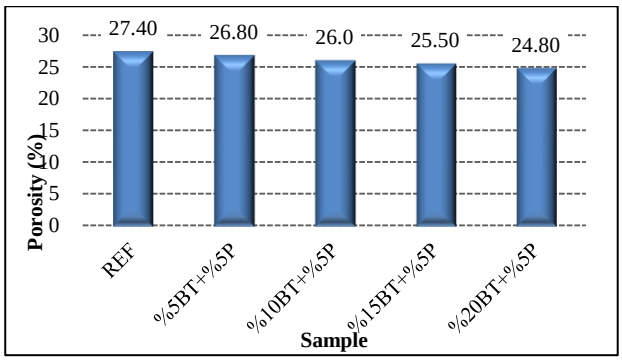


Figure 4. Comparison of porosity values of samples

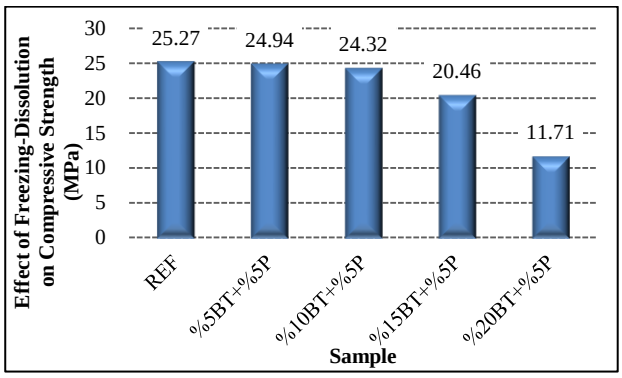


Figure 5. Comparison of the effects of freezing-dissolution on compressive strength of samples.

In the literature; Demirboğa found that silica fume and fly ash improve the freezing-dissolution properties in lightweight concretes produced by various mixtures of expanded perlite and pumice aggregates. This study supports freezing-dissolution test results within the scope of made under the thesis study [23].

3.5. Compressive Strength

Uslu found the compressive strength of the reference sample as 20.7 MPa, and found the highest compressive strength as 22.5 MPa in the sample with 30% waste clay [7]. In his study, Elbeyli found values in the range of 16.64-28.0 MPa for the average compressive strength in the 10% boron doped sample[24]. In this study, reference sample has the lowest compressive strength. It was observed that the compressive strength of the brick samples increased as the boron waste was added to the samples. While the highest compressive strength is 20%BT+5%P doped brick sample with 30.42 MPa, this brick sample is followed by 15BT+5%P doped brick sample with 28.82 MPa, 10%BT+5%P doped brick sample with 25.48 MPa and 10%BT+5%P doped brick sample with 21.12 MPa. The compressive strength values of the samples are given in Figure 6. Although the addition of the perlite contribution to the brick sample has a compressive strength decreasing effect [25], addition of the 5%, 10%, 15% and 20% boron waste to the brick structure increases the compressive strength of the produced brick samples. The increase of the compressive strength generally means the external effects of the brick to be used in the building shell and the strength of the structure under moving and dead loads. This will extend the life of the building, reducing

maintenance costs and transferring the building to future generations.

When examined the studies in the literature; [7, 24] reported in their studies that the brick sample produced by adding 10% boron waste has a higher compressive strength than the reference sample. It was found that bricks produced with boron waste additive have high strength properties compared to standard bricks. The results of the compressive strength test conducted within the scope of the thesis study are consistent with the studies in the literature. Compressive strength and after the effect of freezing-dissolution compressive strength values comperatives was given Table 5.

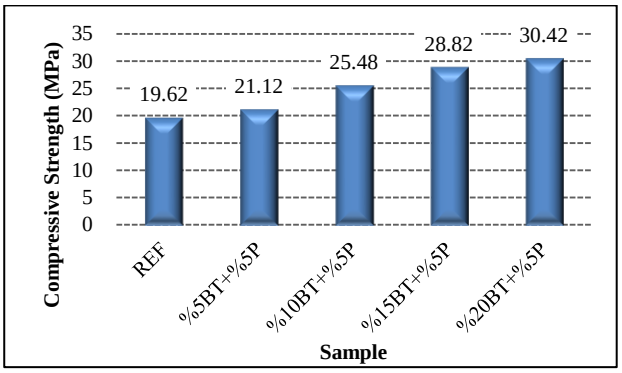


Figure 6. Comparison of compressive strength values of samples

Table 5. Comparison of compressive strength values before and after freeze-thaw testing

Boron waste and Perlite added sample values (MPa)							
Sample		**N1**	**N2**	**N3**	**N4**	**N5**	**N6**
Comp. Strength	REF	19.6	19.61	19.6	19.63	19.64	19.64
	%5BT+%5P	21.09	21.09	21.12	21.15	21.12	21.15
	%10BT+%5P	25.48	25.52	25.48	25.44	25.44	25.52
	%15BT+%5P	28.72	28.85	28.92	28.82	28.78	28.83
	%20BT+%5P	30.4	30.4	30.42	30.42	30.46	30.42
TEF-DCS	REF	14.65	14.65	14.66	14.66	14.67	14.67
	%5BT+%5P	15.83	15.92	15.85	15.8	15.85	15.85
	%10BT+%5P	19.24	19.26	19.27	19.23	19.21	19.24
	%15BT+%5P	22.9	22.91	22.93	22.92	22.94	22.92
	%20BT+%5P	26.84	26.87	26.85	26.86	26.88	26.86

TEF-DCS: The Effect of Freezing-Dissolution Compressive Strength

3.5. Tensile Strength in Bending

When examined the tensile strength values of bending of brick samples given Figure 7, it is seen that the reference sample has the lowest bending tensile strength. The results of the brick samples produced by increasing the perlite rate by 5% and increasing the amount of boron waste indicate that the tensile strength of the bending increases with the rising in the amount of boron waste. While the highest bending tensile strength is obtained from 20%BT+5%P doped brick sample with 2.85 MPa, this brick sample is followed by 15%BT+5%P doped brick sample with 2.78 MPa, 10BT+5%P doped brick sample with 2.63 MPa 5BT+5%P doped brick sample with 2.52 MPa and reference sample with 2.40 MPa.

Increasing tensile strength in bending means that perlite and boron waste add plastic properties to the brick sample. Due to this feature, the use of the produced samples in the structure will help to stretch the brick walls at the time of the earthquake, thus reducing the damage rate.

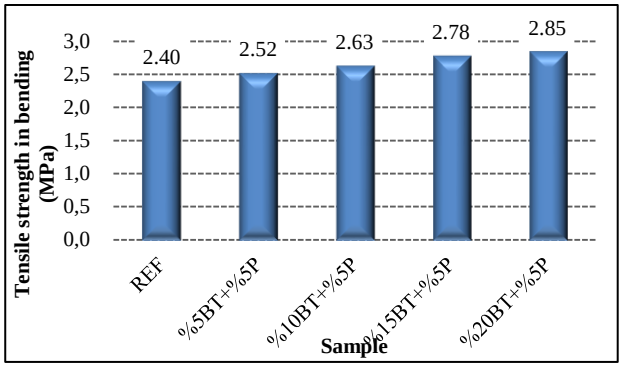


Figure 7. Comparison of bending tensile strength values of samples

4. CONCLUSIONS

The use of boron waste as an additive in brick production means eliminating a waste that causes environmental pollution and joining it into the industry. Thus, the use of boron wastes, which is an industrial waste, in the brick production sector is an important step in preventing the pollution of air, water and soil wastes left to the nature. The results of the experimental study carried out to determine the physical and mechanical characteristics of brick produced by adding boron waste and perlite is given below.

- In the specific gravity test, the highest specific gravity was found to belong to the reference sample. As a result of keeping 5% perlite ratio constant and the increasing addition of boron waste by 5%, 10%, 15%, 20% to the brick sample, it was occurred that the specific gravity values decreased.

- With the increase of boron waste contribution of in brick samples, the values of water-saturated unit volume weight have increased, the best result was obtained with 5% boron waste and 5% perlite admixture. The perlite admixture resulted in an increase in the water-saturated unit volume weight.

- It was determined that the samples with 20% boron waste and 5% doped perlite had the lowest porosity value. It has been found that the boron waste which is substituted into the brick samples can form enough liquid phase for sintering at 900 0C. This result has a positive effect on the cost of heating.

- Keeping constant the amount of perlite and increasing the amount of boron waste had positive effects on the compressive strength after freezing-dissolution. As a result of the increase in the amount of boron waste, an increase in the compressive strength after freezing-dissolution occurred.

- The addition of boron waste amount also increased the compressive strength. The best result was obtained from 20% boron waste and 5% doped perlite brick samples.

- By increasing the amount of boron waste, the tensile strength of bending has increased. While the best results were obtained from 20% boron waste and 5% perlite brick samples, it has detected that all brick samples were above the standards.

According to the results of the tests, it was concluded that perlite and boron waste would improve mechanical properties of bricks if they were replaced in appropriate proportions to the brick sample. The high strength and elastic properties of the bricks manufactured by using perlite and boron waste will increase the resistance of these bricks to the earthquakes in the buildings built through the earthquake zone. The number of studies to evaluate boron waste in larger areas and different sectors should be increased. Studies in this area should not only be included in the literature, but also be effectual in the industry. Because it has been determined from this stuıdy that natural resources such as perlite and industrial wastes such as boron waste can be used in brick production.

The results obtained with boron waste and perlite additive used in the production of bricks should be investigated in more detail and considered seriously in order to gain the industry. Furthermore, the scope of this study focused on the investigation of mechanical properties, there is a need for further studies on the effect of boron waste utilization on physical properties of bricks.

REFERENCES

[1] Karaman S. Color Formation in Building Bricks. KSU J Sci Eng. 2006;9(1):125–9.

[2] Marotta T., Coffey JC., Brown CL., LaPlante C. Basic Construction Materials. 8th ed. Pearson Prentice Hall; 2010. 336 p.

[3] Sonmez E., Yorulmaz S. Investigation of Usability of Kırka Boraks Enterprise Waste Clays in Brick Making. In: Industrial Raw Materials Symposium. İzmir; 1995. p. 163–8.

[4] Çelik AG. Investigation on characteristic properties of potassium borate and sodium borate blended perlite bricks. J Clean Prod. 2015;102:88–95.

[5] Çelik AG, Depci T, Kilic AM. New lightweight colemanite-added perlite brick and comparison of its physicomechanical properties with other commercial lightweight materials. Constr Build Mater. 2014;62:59–66.

[6] Yamık, A.; Tosun, I. Y.; Gunes, N. and Topal E. Soda Leaching of Kırka Boraks Wastes. In: Industrial Raw Materials Symposium. İzmir; 1995. p. 43–8.

[7] Uslu T, Arol AI. Use of boron waste as an additive in red bricks. Waste Manag. 2004;

[8] Kavas T. Use of boron waste as a fluxing agent in production of red mud brick. Build Environ. 2006;41(12):1779–83.

[9] Abali Y, Yurdusev MA, Zeybek MS, Kumanlioğlu AA. Using phosphogypsume and boron concentrator wastes in light brick production. Constr Build Mater. 2007;21:52–6.

[10] Christogerou, A., Kavas, T., Pontikes, Y., Koyas, S., Tabak, Y., Angelopoulos GN. Use of boron wastes in the production of heavy clay ceramics. Ceram Int. 2009;35(1):447–52.

[11] Rashad AM. A synopsis about perlite as building material - A best practice guide for Civil Engineer. Constr Build Mater. 2016;121:338–53.

[12] Topçu IB, Işikdağ B. Manufacture of high heat conductivity resistant clay bricks containing perlite. Build Environ. 2007;42(10):3540–6.

[13] Velasco PM., Moralez OMP., Giro MAM., Velasco LM. Fired clay bricks manufactured by adding wastes as sustainable construction material - A review. Constr Build Mater. 2014;63:97–107.

[14] Cicek B, Karadagli E, Duman F. Valorisation of boron mining wastes in the production of wall and floor tiles. Constr Build Mater. 2018;179:232–44.

[15] Çağlar H. Researching Properties Of Boric Acid And Polyvinyl Alcohol Doped Cement Paste In Order To Minimize Environmental Effects Arising From Radioactivity. Gazi University; 2016.

[16] Akyıldız A. Investigation of Usability of Boric Waste as a Pozzolanic Material In Production Of Concrete. Namık Kemal University; 2012.

[17] TS EN 771-1+A1. TS EN 771-1+A1 “Types of masonry - Characteristics - Part 1: Clay masonry units.” Turkey; 2015.

[18] TS EN 772-4. TS EN 772-4 “Masonry Units- Test Methods - Part 4: Determination of the Total and Visible Porosity of Natural Stone Masonry Units and Volumetric and Porous Volume Mass.” Turkey; 2000.

[19] TS EN 772-11. TS EN 772-11 "Methods of test for masonry units - Part 11: Determination of water absorption of aggregate concrete, autoclaved aerated concrete, manufactured stone and natural stone masonry units due to capillary action and the initial rate of water absor. 2012.

[20] TS CEN / TS 12390-9. TS CEN / TS 12390-9 “Testing hardened concrete - Part 9: Freeze-thaw resistance - Scaling.” Turkey; 2017.

[21] TS 772-1. TS 772-1 “Masonry Units - Test Methods - Part 1: Determination of Compressive Strength.” Turkey; 2012.

[22] TS EN 772-6. TS EN 772-6 “Masonry Units - Test Methods - Part 6: Determination of Tensile Strength of Concrete Masonry Units in Bending.” Turkey; 2004.

[23] Demirboğa R, Gül R. The effects of expanded perlite aggregate, silica fume and fly ash on the thermal conductivity of lightweight concrete. Cem Concr Res. 2003;33:723–7.

[24] Elbeyli, Y., Kalpakli, Y., Gülen, J., Piskin, M., Piskin M. Utilization of borax waste as an additive in building brick production. In: Proceedings of the

International Boron Symposium. Eskişehir; 2004. p. 23–5.

[25] Ceylan A., Ebeoğlugil MF. An Investigation of the Usage of Expanded Perlite and Clay Mixture Bearing Light and Heat Isolated Brick Manufacturing. J Sci Technol Dumlupınar Univ. 2002;(003):91–8.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.790808 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Cytotoxic and Genotoxic Effects of Some Azo Dyes in *Allium cepa* Root Tip Cells

Mehmet GÜMÜŞ[1*], H. Erhan EROĞLU[2], Nisa GÜMÜŞ[2], Emre YAĞCI[2]

[1]Yozgat Bozok Üniversitesi, Akdağmadeni Sağlık Yüksekokulu, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, Yozgat, Türkiye
[2]Yozgat Bozok Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Yozgat, Türkiye
Mehmet GÜMÜŞ ORCID No: 0000-0001-9262-7940
H. Erhan EROĞLU ORCID No: 0000-0002-4509-4712
Nisa GÜMÜŞ ORCID No: 0000-0002-5067-3874
Emre YAĞCI ORCID No: 0000-0001-9460-4857

**Sorumlu yazar: mehmet.gumus@bozok.edu.tr*

(Alınış: 05.09.2020, Kabul: 02.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Keywords
Azo dye, Enaminone, Keto-hydrazo form, *Allium* test, Chromosome aberration, Mitotic index

Abstract: Azo dyes (**AD-1, AD-2)** were synthesized from the reaction diazonium salts of the aromatic amines salt with the enaminone derivative. The chemical structure of the synthesized novel azo dye (**AD-2**) was characterized by elemental analysis and other spectral techniques (FTIR, ^{1}H NMR and ^{13}C NMR). Azo dyes are used frequently in the industry and pose a great danger especially for water resources. In this respect, azo dyes threaten many products indirectly in agricultural applications. In this study, the cytotoxic and genotoxic effects of potential azo dyes (**AD-1**, **AD-2**) that can be used in industrial applications were determined using *Allium* test system in five different concentrations (6.25, 12.5, 25, 50 and 100 µM). As a result of the cytogenetic analyzes, it was determined that both azo dyes significantly reduced the number of divisions of *A. cepa* cells and caused chromosomal abnormalities in dividing cells. As a result, in this research, it is emphasized that the azo dyes (**AD-1**, **AD-2**), which are potentially used in the industry, cause genotoxic and cytotoxic effects in the living structures.

Allium cepa Kök Ucu Hücrelerinde Bazı Azo Boyarmaddelerin Sitotoksik ve Genotoksik Etkileri

Anahtar Kelimeler
Azo boya, Enaminon, Keto-hidrazo form, *Allium* test, Kromozomal anormallik, Mitotik indeks

Öz: Enaminon türevleriyle aromatik aminlerin diazonyum tuzlarının reaksiyonundan azo boyaları (**AD-1**, **AD-2**) sentezlendi. Sentezlenen yeni azo boyanın (**AD-2**) kimyasal yapısı, elementel analiz ve diğer spektral tekniklerle (FTIR, ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR) karakterize edildi. Azo boyaları endüstride sıklıkla kullanılmakta ve özellikle su kaynakları için büyük tehlike oluşturmaktadır. Bu bakımdan azo boyalar tarımsal uygulamalarda birçok ürünü dolaylı olarak tehdit etmektedir. Bu çalışmada, endüstriyel uygulamalarda kullanılabilecek potansiyel azo boyaların (**AD-1**, **AD-2**) sitotoksik ve genotoksik etkileri, *Allium* test sistemi kullanılarak beş farklı konsantrasyonda (6.25, 12.5, 25, 50 ve 100 µM) belirlendi. Sitogenetik analizler sonucunda, her iki azo boyanın da *A. cepa* hücrelerinin bölünme sayısını önemli ölçüde azalttığı ve bölünen hücrelerde kromozomal anormalliklere neden olduğu belirlendi. Sonuç olarak, bu araştırmada, endüstride potansiyel olarak kullanılabilecek azo boyaların (**AD-1**, **AD-2**) canlı yapılarda genotoksik ve sitotoksik etkilere neden olduğu vurgulanmaktadır.

1. INTRODUCTION

Natural dyes have been used for centuries to change the color of materials such as paper and leather [1]. Nowadays, dyes and pigments are preferred in industrial applications to color products. Coloring materials are very important especially in textile, cosmetics and paper industries, as well as in lithography and coating processes. It is estimated that there are more than 100,000 different commercially produced paints each year. One of the most important materials used for this purpose are organic compounds classified as azo dyes [2]. Heterocyclic compounds containing the azo functional group (-N=N-) are used in various fields due to their interesting properties. Azo compounds attract the attention of chemists in the industrial field with some of their properties and the ability to be used as reagents in

many synthesis reactions. These compounds are used in many applications such as textile dyes, pharmaceutical chemistry, indicator synthesis, optical materials [3-4]. Especially, in textile dyes, it is highly preferred due to its easy production, wide color range and durability features. It is possible to develop color and other properties by condensing azo dyes with different hetero structures. Therefore, in recent years, synthesis studies to obtain more functional and useful azo compounds have increased its popularity [5]. Among the azo compounds, especially, α-diazocarbonyl compounds are used as a versatile synthetic intermediate in many organic reactions. Wolff arrangements, cyclopropanation, benzannulation and cyclo addition reactions are some of these [6]. Also, azo compounds are used as carbens precursors in the synthesis of many heterocyclic structures [7-8]. These compounds are called amphiphilic reagents because they can react with nucleophiles and electrophiles. Therefore, it is widely used as a reactant, especially in multicomponent reactions [9]. There are many methods in the literature for the synthesis of azo compounds. Azo compounds can be obtained using reagents such as *N*-sulfonylhydrazones and active methylene compounds [10].

Since azo dyes are used extensively in painting processes in many industrial applications, they cause pollution of water sources as industrial waste [11]. It is estimated that more than half of the paint contamination is caused by azo dyes. Contamination of water resources with dyes affects all living things, including humans, animals and plants. This situation damages ecological balance very much. The fact that the broken products or intermediates of the dyes cannot be biodegraded easily is the main source of the problem. Contamination of water resources with dyestuffs poses great danger for agricultural practices. It is always possible for azo dyestuffs that show toxic and carcinogenic effects to pass indirectly to humans [2]. Due to the chromophore group (-N=N-) it contains, it is difficult to biodegrade. It is also resistant to oxidizing compounds and light. For example, Orange G (OG) is one of the azo dyes commonly used in paper industry (Figure 1) [12]. Also, Mordant Black 17 is one of the aromatic dyes compounds and is widely preferred in the textile industry. [13].

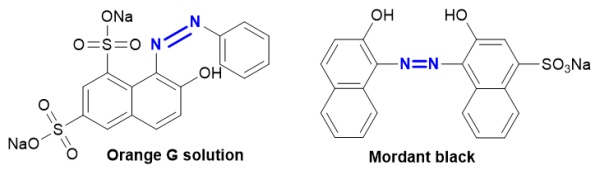


Figure 1. Structures of some important azo dyes

Allium test is an easy to use and inexpensive test and correlates particularly well with mammalian test systems [14]. The results of the *Allium* test may indicate the presence of certain cytotoxic and genotoxic substances that represent direct or indirect risks to living organisms in the environment. In *Allium* test, it is usually explained the reduction of cell division by cytotoxicity and major chromosome aberrations by genotoxicity [15]. If the decrease in the mitotic index (MI) falls below 22% compared to the control, it is accepted as the subletal effect value [16], if it falls below 50% the lethal effect value [17]. These values are cytotoxic breakpoints [18]. Chromosome aberrations (CA) show that chemicals interact with DNA and cause damage and are considered to be a highly reliable assay for evaluating genotoxicity [19-20].

In this study, starting from the enaminone compounds (**EN**), 4-(2-(1,3-dioxo-1-(*p*-tolyl)propan-2-ylidene) hydrazinyl)-*N*-(pyrimidin-2-yl) benzene sulfonamide (**AD-1**) and 4-(2-(1,3-dioxo-1-(*p*-tolyl)propan-2-ylidene)hydrazinyl) benzamide (**AD-2**) were synthesized in two steps. The synthesized new azo compound (**AD-2**) was purified by crystallization method, and their structure was characterized by elemental analysis, FTIR and NMR techniques. The cytotoxic and genotoxic effects of target molecules (**AD-1**, **AD-2**) were studied in five different concentrations in Allium cepa root stem cells (100 µM, 50 µM, 25 µM, 12.5 µM, 6.25 µM).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materials

The reagents and solvents used in all the syntheses were purchased from commercial suppliers. The monitoring of the all reactions and the purity of the substances were done by thin layer chromatography (TLC) using silica gel plates (60F254 aluminium sheets) and ultraviolet light at 254-366 nm. Melting points of the target products were measured on a Electrothermal 9200 melting point apparatus and are reported uncorrected. Elemental analyzes were performed on a Leco-932 CHNS-O Elemental Analyzer at Yozgat Bozok University. FTIR spectra were obtained with a Perkin Elmer Spectrum Two Model FT-IR Spectrophotometer (ATR method). The ^{1}H and ^{13}C NMR spectra were obtained on a Bruker Avance 400 spectrometer in $CDCl_3$ at 400 and 100 MHz, respectively. Coupling constants (*J*) are reported in Hertz (Hz), and proton multiplicities are expressed as singlet (s), dublet (d) and multiplet (m) using $CDCl_3$ as a solvent. Plant materials (A. cepa, 2n = 16) were obtained from local bazaar (Yozgat, Turkey).

2.2. Synthesis

2.2.1. General procedure for azo dyes containing aldehyde group (AD)

The diazonium salt solution (4.0 mmol) was dropwise added to the solution of **EN** (1.0 equiv, 4.0 mmol) and K_2CO_3 (1.0 equiv, 4.0 mmol) in ethanol. The reaction was carried out in an ice bath. Within fifteen minutes, the yellow crude product which precipitated in the reaction medium was filtered. Target products (**AD1** and **AD2**) were purified by crystallization with butanol solvent [21].

4-(2-(1,3-dioxo-1- (*p*-tolyl) propan-2-ylidene) hyd razinyl) benzamide (AD-2)
Color: Yellow, Yield 1.051 g, 85%, mp 225-226 °C, FT-IR (ATR, cm^{-1}): υ_{max} 3370, 3294 (NH_2), 3160 (NH),

3068-2924 (CH, aromatic and aliphatic), 2888 (C-H, aldehyde), 1644 (C=O, amide); 1624 (C=O, aldehyde); 1618 (C=O, ketone); 1602-1462 (C=N and C=C). ^{1}H-NMR (400 MHz; $CDCl_3$, ppm): δ 14.60 (s, 1H, NH); 10.19 (s, 1H, CHO); 7.92-7.90 (m, part A of the system AA'BB', 2H, H_d); 7.88-7.86 (m, part A of the system AA'BB', 2H, H_b); 7.42-7.39 (m, part B of the system AA'BB', 2H, H_a); 7.33-7.31 (m, part B of the system AA'BB', 2H, H_c); 5.98-5.67 (broad d, 2H, NH_2); 2.48 (s, 3H, CH_3). ^{13}C-NMR (100 MHz; $CDCl_3$, ppm): δ 190.1 (CO, aldehyde), 182.3 (CO, benzoyl), 169.6 (CO, amide), 144.2, 135.7, 133.8, 130.6, 130.3, 129.3, 128.8, 128.2, 116.2 (C=C and C=N), 21.7 (CH_3). Calcd. for $C_{17}H_{15}N_3O_3$ (309.3250): C, 66.01; H, 4.89; N, 13.58. Found: C, 66.26; H, 4.67; N, 13.75 %.

2.3. *Allium* Test

Young bulbs were germinated at room temperature until reach a length of about 0.5 cm. Then, root tips were treated with different concentrations (6.25, 12.5, 25, 50, and 100 µM) of **AD-1** and **AD-2** for a period of 24, 48, and 72 h. Then, root tips were fixed in Carnoy's fixative (acetic acid:alcohol, 1:3 v/v) for 24 h, hydrolyzed in 1N HCl at 60 ºC for 8 min, stained in aceto-orcein for 2h, and squashed in 45% acetic acid.

2.4. Observations and Statistical Analysis

In cytogenetic analysis, six slides for each concentration and time period were observed under research light microscope (Olympus BX53, Japan) and photographed by digital camera (Olympus DP72, Japan). About 3500 cells were analyzed for each concentration and time period in the evaluation of MI and CA. MI and CA were calculated to equation 1 and 2.

$$MI\ (\%) = [Total\ number\ of\ dividing\ cells\ /\ Total\ number\ of\ cells\ (3500)] \times 100 \quad (1)$$

$$CA\ (\%) = [Total\ number\ of\ aberrant\ cells\ /\ Total\ number\ of\ cells\ (3500)] \times 100 \quad (2)$$

The data were calculated by one-way analysis of variance (ANOVA) and differences among groups were determined by the Tukey test ($p < 0.05$) in MS-Excel software.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Chemistry

Some studies by our group on the synthesis of azo dyes, which are target compounds, are available in the literature [21]. Compound **AD-1**, one of the target compounds, was synthesized within the scope of this previous study. Compound **AD-2** is original and the synthesis procedure is the same as our previous study [21]. In the two-step synthesis procedure, the reaction of 4-methylacetophenone (**AP**) with the *N*,*N*-Dimethylformamitdimethylacetal (DMF-DMA) reagent was carried out in the first step of the synthesis, and the enaminone derivative (**EN**) was obtained. Then, two azo compounds (**AD-1**, **AD-2**) were synthesized as target compounds by reaction of the compound **EN** with solutions of diazonium salt of aromatic amines (4-amino-*N*-(pyrimidin-2-yl) benzene sulfonamide, 4-methylaminobenzamide) [Figure 2]. FTIR bands of functional groups in compound **AD-2** and the characteristic NMR signals of all atoms were confirmed by spectroscopic analysis.

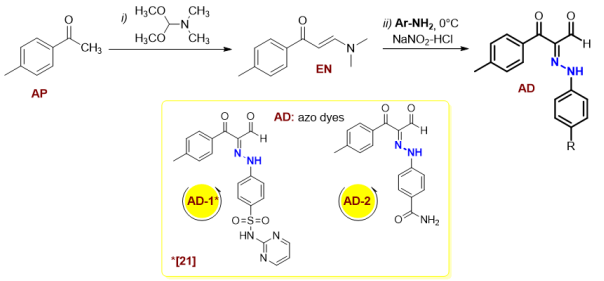


Figure 2. The synthesis route and molecular structures of azo dyes

Among the target compounds, the compound **AD-2** contains amide, aldehyde, ketone and diazo groups. In the FTIR spectrum of **AD-2**, the absorption bands belonging to NH_2 (two bands), NH and carbonyl groups (ketone, aldehyde) stretching vibrations were seen in 3370, 3294, 1644, 1624 and 1618 cm^{-1}, respectively. The absorption bands of aliphatic and aromatic hydrogens in this molecule are identified in the range 3068-2924 cm^{-1}. In addition, the CH stretching vibration belonging to the aldehyde group was characterized in 2888 cm^{-1}. In the ^{1}H NMR spectrum taken in the $CDCl_3$ solvent of compound **AD-2**; NH, CHO (aldehyde), NH_2 groups and CH_3 protons were characterized at 14.60, 10.19, 5.98-5.67 and 2.48 ppm, respectively. Also, the signals of aromatic CH protons in the molecule were seen in the ^{1}H NMR analysis in the range of 7.91-7.32 ppm. In ^{13}C NMR analysis of **AD-2** (in $CDCl_3$ solvent), aldehyde, benzoyl, amide and methyl groups gave characteristic signals at 190.1, 182.3, 169.6 and 21.7 ppm, respectively. The signals belonging to eight aromatic carbon atoms were observed in the range of 144.2-116.2 ppm. FTIR and NMR data showed that the compound **AD-2** is in the form of keto-hydrazo tautomer. The details on spectral findings are given in the supplementary material. The spectral data of this molecule are compatible with the spectroscopic data of azo dyes previously synthesized by our group [21].

3.2. Cytotoxic and Genotoxic Effects

Table 1 shows data of MI and CA in *A. cepa* cells, after exposure to **AD-1**. The MI rates of 48 h time period are 5.96 in 50 µM and 5.77 in 100 µM, and they are considerably lower than the control group (8.98). The MI rates of 72 h time period are 5.28 in 25 µM, 3.98 in 50 µM, and 3.81 in 100 µM, and they are considerably lower than the control group (7.55) ($p < 0.05$). Increasing **AD-1** concentrations have caused decreasing in MI rates at all time periods.

Tablo 1. Cytogenetic analysis of *A. cepa* root tips exposed to different concentrations of **AD-1**.

Concentration (µM)	Bridges	Stickiness	C-mitosis	Lagging	Vagrant	Binucleated	Defected polarization[1]	Chromosome loss	Aberration (%)	Mitotic index (%)
Control (24h)	3	6	5	3	4	2	0	3	0.74	9.03
6.25	2	8	4	3	3	1	2	2	0.71	9.11
12.5	3	4	2	3	7	2	2	2	0.71	8.87
25	6	7	5	4	8	3	4	5	1.20	8.26
50	15	14	15	10	14	9	7	10	2.69*	7.77
100	19	17	16	12	15	11	11	11	3.20*	7.81
Control (48h)	6	6	3	5	6	2	4	2	0.97	8.98
6.25	7	9	5	10	12	3	3	4	1.51	8.56
12.5	6	11	5	8	8	3	3	5	1.40	8.11
25	8	11	12	9	10	8	5	7	2.00	7.03
50	21	26	20	15	19	13	10	13	3.91*	5.96*
100	21	19	19	16	17	15	15	16	3.94*	5.77*
Control (72h)	7	8	3	5	6	2	4	2	1.06	7.55
6.25	8	11	5	8	11	3	2	5	1.51	6.98
12.5	8	11	7	7	9	4	3	5	1.54	7.01
25	13	15	17	14	14	11	9	12	3.00*	5.28*
50	22	29	23	16	21	17	12	16	4.46*	3.98*
100	19	22	20	21	18	20	18	21	4.54*	3.81*

[1] Multipolar and diagonal anaphase/telophase.
* indicate significant differences between control and concentrations. Significance at $p < 0.05$.

Figure 3 shows the normal stages of cell division and CA in meristematic cells of *A. cepa* after exposure to **AD-1**. CA are detected as bridges, stickiness, C-mitosis, lagging, vagrant chromosome, binucleate cell, multipolar and diagonal anaphase/telophase, and chromosome loss. The types and numbers of CA are given in Table 1. The most common chromosomal defects are stickiness, vagrant, and bridges, respectively. The CA rates of 24 h time period are 2.69 in 50 µM and 3.20 in 100 µM, and they are considerably higher than the control (0.74). The CA rates of 48 h time period are 3.91 in 50 µM and 3.94 in 100 µM, and they are considerably higher than the control (0.97). The CA rates of 72 h time period are 4.46 in 50 µM and 4.54 in 100 µM, and they are considerably higher than the control (1.06). Increasing **AD-1** concentrations have caused increasing in CA rates at all time periods ($p < 0.05$).

The compound **AD-1** is a sulfonamide derivative. In literature, there are reports on the cytotoxic and genotoxic potential of sulfonamides. Özkan and Liman showed that penoxsulam as a sulfonamide herbicide had cytotoxic effect by reducing MI and genotoxic effect by increasing CA, which are lagging, bridges, stickiness, polyploidy, and disturbed anaphase/telophase [22]. Badr reported the cytotoxic and genotoxic potential of three sulphonamide derivatives (sulphadimidine, sulphaphenazole, sulphadiazine) [23]. In addition, Leme and Marin-Morales recorded the detailed review regarding *A. cepa* test in environmental monitoring and presented cytotoxicity and genotoxic effects of pesticides, metals, textile dyes, complex mixtures, aromatic hydrocarbons, and other agents as sulfonamide derivatives [24]. The cytotoxic activity of the chiral sulfonamides was evaluated by human hepatocellular carcinoma, glioblastoma, and medulloblastoma cell lines. The compounds were shown to notably reduce cell viability as compared to nonmalignant cells [25]. The cytotoxicity of sulfonamide-based azaheterocyclic schiff base derivatives was performed on human keratinocyte and MCF-7 cell lines. The derivatives were nontoxic and the cytotoxic effects were followed dose-dependent [26]. The cytotoxicity of coumarin-sulfonamide derivatives was evaluated in human colon cancer cells. The results showed that compound 8i could inhibit cellular proliferation [27].

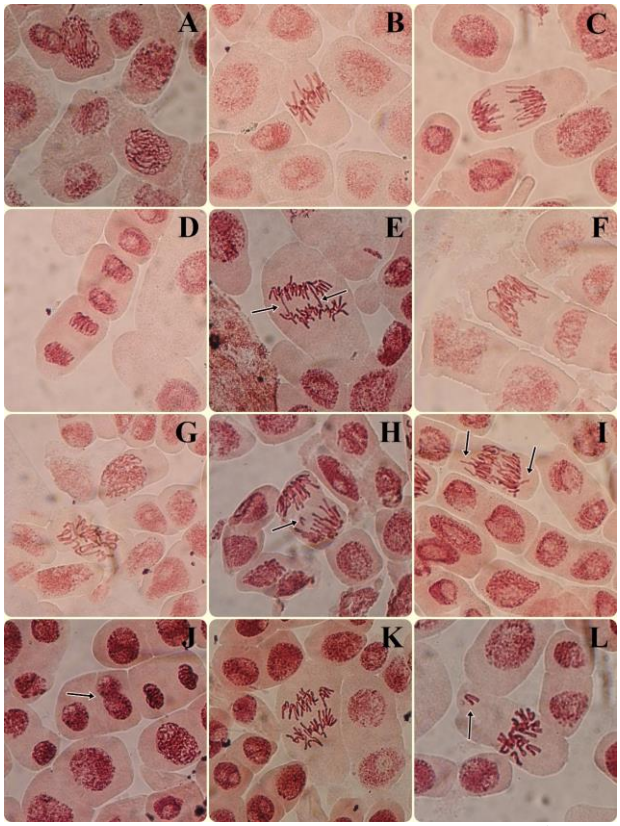


Figure 3. Chromosome aberrations in meristematic cells of *Allium cepa*. A) normal prophase; B) normal metaphase; C) normal anaphase; D) normal telophase; E) anaphase bridges (arrows); F) stickiness; G) C-mitosis; H) lagging (arrow); I) vagrant chromosomes (arrows); J) binucleate cell (arrow); K) defected polarization; L) chromosome loss (arrow). Magnification 400×

Table 2 shows data of MI and CA in *A. cepa* cells, after exposure to **AD-2**. The MI rates of 48 h time period are 4.23 in 50 µM and 4.32 in 100 µM, and they are considerably lower than the control group (6.86). The MI rates of 72 h time period are 2.25 in 50 µM and 2.40 in

100 µM, and they are considerably lower than the control group (6.62) ($p < 0.05$). Increasing **AD-2** concentrations have caused decreasing in MI rates at all time periods.

Figure 3 shows the normal stages of cell division and CA in meristematic cells of *A. cepa* after exposure to **AD-2**. The types and numbers of CA are given in Table 2. The most common chromosomal defects are stickiness, lagging, and vagrant, respectively. The CA rates of 24 h time period are 2.14 in 100 µM, and it is considerably higher than the control (0.74). The CA rates of 48 h time period are 2.46 in 50 µM and 2.69 in 100 µM, and they are considerably higher than the control (0.97). The CA rates of 72 h time period are 3.43 in 50 µM and 3.80 in 100 µM, and they are considerably higher than the control (1.06). Increasing **AD-2** concentrations have caused increasing in CA rates at all time periods ($p < 0.05$).

The compound **AD-2** is a benzamide derivative. In literature, there are reports on the cytotoxic and genotoxic potential of benzamides. Quiwei et al. determined the genotoxic effect of benzamide on chromosomal defects in *Vicia faba* [28]. The results showed that benzamide might induce CA. Maldonado et al. reported that *Allium* root meristem cells post-treated by benzamide after visible light showed high genotoxic potential with increasing sister chromatid Exchange [29]. In addition, it is recorded the genotoxicity newly synthesized *o*-benzoyl benzamide derivatives [30].

Table 2. Cytogenetic analysis of A. cepa root tips exposed to different concentrations of **AD-2**

Concentration (µM)	Bridges	Stickiness	C-mitosis	Lagging	Vagrant	Binucleated	Defected polarization[1]	Chromosome loss	Aberration (%)	Mitotic index (%)
Control (24h)	3	6	5	3	4	2	0	3	0.74	7.26
6.25	2	5	7	5	4	1	0	2	0.74	7.26
12.5	5	6	7	6	6	3	1	4	1.09	7.00
25	3	7	6	5	5	4	0	6	1.03	6.65
50	6	10	6	7	8	4	2	7	1.43	6.01
100	9	12	11	12	10	8	4	9	2.14*	6.11
Control (48h)	6	6	3	5	6	2	4	2	0.97	6.86
6.25	6	7	4	5	5	2	2	4	1.00	6.55
12.5	7	7	6	7	7	4	4	7	1.40	5.99
25	8	5	5	9	6	6	4	9	1.49	5.44
50	12	10	9	15	10	10	7	13	2.46*	4.23*
100	11	12	12	16	15	9	8	11	2.69*	4.32*
Control (72h)	7	8	3	5	6	2	4	2	1.06	6.62
6.25	6	11	5	7	8	2	4	4	1.34	5.91
12.5	8	9	7	8	8	7	3	6	1.60	5.66
25	9	10	11	11	10	9	5	9	2.11	4.00
50	18	15	18	17	15	15	9	13	3.43*	2.25*
100	21	17	17	19	18	17	8	16	3.80*	2.40*

[1] Multipolar and diagonal anaphase/telophase.
* indicate significant differences between control and concentrations. Significance at $p < 0.05$.

4. CONCLUSION

Diazo compounds are widely used in industrial applications with their dye feature, and especially natural water sources are contaminated with industrial wastes containing azo dyes. In this study, two compounds that can be used in industrial applications as azo dyes were synthesized and their cytotoxic and genotoxic effects were evaluated. The aromatic azo dyes (**AD-1**, **AD-2**) containing pyrimidine and amide groups as substituted groups were synthesized by a two-step synthesis procedure. **AD-2**, which is novel from the synthesized azo dyes, was characterized by spectroscopic methods. According to spectral data, compound **AD-2** was found to be in keto-hydrazo form structure. As a result of the cytogenetic analyzes, it was determined that both chemicals significantly reduced the number of divisions of *A. cepa* cells and caused chromosomal abnormalities in dividing cells. As a result, in this research, it is emphasized that the chemicals, which are potentially used in the industry, cause genotoxic and cytotoxic effects in the living structure.

Acknowledgement

This work was supported by Research Fund of Science and Technology Practice & Research Centre of Yozgat Bozok University (Project number: 6602c-ASYO/19-266).

REFERENCES

[1] Ilic DK, Ostafe R, Djurdjevic DA, Popovic N, Schillberg S, Fischer R, et al. Saturation mutagenesis to improve the degradation of azo dyes by versatile peroxidase and application in form of VP-coated yeast cell walls. Enzyme Microb Technol. 2020; 136: 109509.

[2] Bediako JK, Lin S, Sarkar AK, Zhao Y, Choi JW, Song MH, et al. Evaluation of orange peel-derived activated carbons for treatment of dye-contaminated wastewater tailings. Environ Sci Pollut Res Int. 2020; 27: 1053-1068.

[3] Abbas Al-Tahan RA. Synthesis and characterization of azo dyes ligand complexes with

some metal ions. Int J Chemtech Res. 2018; 11(6): 108-113.
[4] Lole BA, Piste PB. Clay mediated one step synthesis of azo dyes with 1,3-benzoxazole moie. J Chem Pharm Res. 2017; 9(12): 53-58.
[5] Demircali A, Karci F, Avinc O, Kahriman AU, Gedik G, Bakan E. The synthesis, characterization and investigation of absorption properties of disperse disazo dyes containing pyrazole and isoxazole. J Mol Struct. 2019; 1181: 8-13.
[6] Ansari MA, Yadav D, Singh MS. Rhodium(II)-Catalyzed Annulative Coupling of β-Ketothioamides with α-Diazo Compounds: Access to Highly Functionalized Thiazolidin-4-ones and Thiazoline. J Org Chem. 2020; 85(13): 8320-8329.
[7] He Y, Lou J, Wu P, Zhou Y, Yu Z. Copper-Catalyzed Annulative Coupling of S,S-Disubstituted Enones with Diazo Compounds to Access Highly Functionalized Thiophene Derivatives. J Org Chem. 2020; 85(2): 1044-1053.
[8] Li X, Ye X, Wei C, Shan C, Wojtas L, Wang Q, et al. Diazo Activation with Diazonium Salts: Synthesis of Indazole and 1,2,4-Triazole. Org Lett. 2020; 22(11): 4151-4155.
[9] Xiong M, Liang X, Gao Z, Lei A, Pan Y. Synthesis of Isoxazolines and Oxazines by Electrochemical Intermolecular [2+1+n] Annulation: Diazo Compounds Act as Radical Acceptors. Org Lett. 2019; 21(23): 9300-9305.
[10] Green SP, Wheelhouse KM, Payne AD, Hallett JP, Miller PW, Bull JA. Thermal Stability and Explosive Hazard Assessment of Diazo Compounds and Diazo Transfer Reagents. Org Process Res Dev. 2020; 24(1): 67-84.
[11] Luna-Alvarado MA, Estrada-Flores M, Manriquez-Ramirez ME, German CMR. Bismuth oxide carbonate structures synthesized by microwave-assisted solvothermal approach and its use as catalyst for the degradation of azo dye in a solution. J Miner Mater Char Eng. 2019; 7(6): 468-479.
[12] Feng T, Bavumiragira JP, Wambui MA, Kabtamu DM, Laszlo K, Wang Y, et al. Hierarchical porous induced competent removal of low concentration azo dye molecules by generating a leachy crystalline structure H-MIL-53(Fe). Chin Chem Lett. 2020; Ahead of Print.
[13] Benkhaya S, M'rabet S, El Harfi A. Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. Heliyon. 2020; 6(1): e03271.
[14] El-Shabhaby OA, Abdel Migid HM, Soliman MI, Mashaly IA. Genotoxicity screening of industrial wastewater using the Allium cepa chromosome aberration assay. Pak J Biol Sci. 2003; 6: 23-28.
[15] Kovalchuk O, Kovalchuk I, Arkhipov A, Telyuk P, Hohn B, Kovalchuk L. The Allium cepa chromosome aberration test reliably measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the Ukraine contaminated by the Chernobyl accident. Mutat Res. 1998; 415: 47-57.
[16] Antosiewicz D. Analysis of the cell cycle in root meristem of Allium cepa under the influence on Ledakrin. Folia Histochem Cytobiol. 1990; 28(1-2): 79-95.
[17] Panda BB, Sahu UK. Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells od Allium cepa by the organophosphorus insecticide fensulfotion. Cytobios. 1985; 42: 147-155.
[18] Sharma, CBSR. Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals. Curr. Sci. 1983; 52(21): 1000-1002.
[19] Saxena PN, Chauhan LKS, Gupta, SK. Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of Allium sativum: Spectroscopic basis of chromosome damage. Toxicology. 2005; 216: 244-252.
[20] Liman R, Cigerci IH, Akyıl D, Eren Y, Konuk, M. Determination of genotoxicity of Fenaminosulf by *Allium* and Comet Tests. Pestic Biochem Phys. 2011; 99: 61-64.
[21] Gümüş M, Sert Y, Koca İ. Synthesis, characterization and theoretical studies of novel sulfonamide-aldehydes derivatives having tautomeric forms. Org Commun. 2019; 12(4): 176-187.
[22] Özkan S, Liman R. Cytotoxicity and genotoxicity in *Allium cepa* L. root meristem cells exposed to the herbicide penoxsulam. CBU Journal Of Science. 2019; 15(2): 221-226.
[23] Badr A. Cytogenetic activities of 3 sulphonamides. Mutat Res Lett. 1982; 104(1-3): 95-100.
[24] Leme DM, Marin-Morales MA. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutat Res. 2009: 682, 71-81.
[25] Samadaei M, Pinter M, Senfter D, Madlener S, Rohr-Udilova N, Iwan D, Kaminska K, Wojaczynska E, Wojaczynski J, Kochel A. Synthesis and Cytotoxic Activity of Chiral Sulfonamides Based on the 2-Azabicycloalkane Skeleton. Molecules. 2020: 13(21), 5010.
[26] Abas M, Rafique H, Shamas S, Roshan S, Ashraf Z, Iqbal Z, Raza H, Hassan M, Afzal K, Rizvanov AA. Sulfonamide-based azaheterocyclic schiff base derivatives as potential carbonic anhydrase inhibitors: synthesis, cytotoxicity, and enzyme inhibitory kinetics. Biomed Res Int. 2020: 5, 1-9.

Attachments

Attachments A. Supplementary material

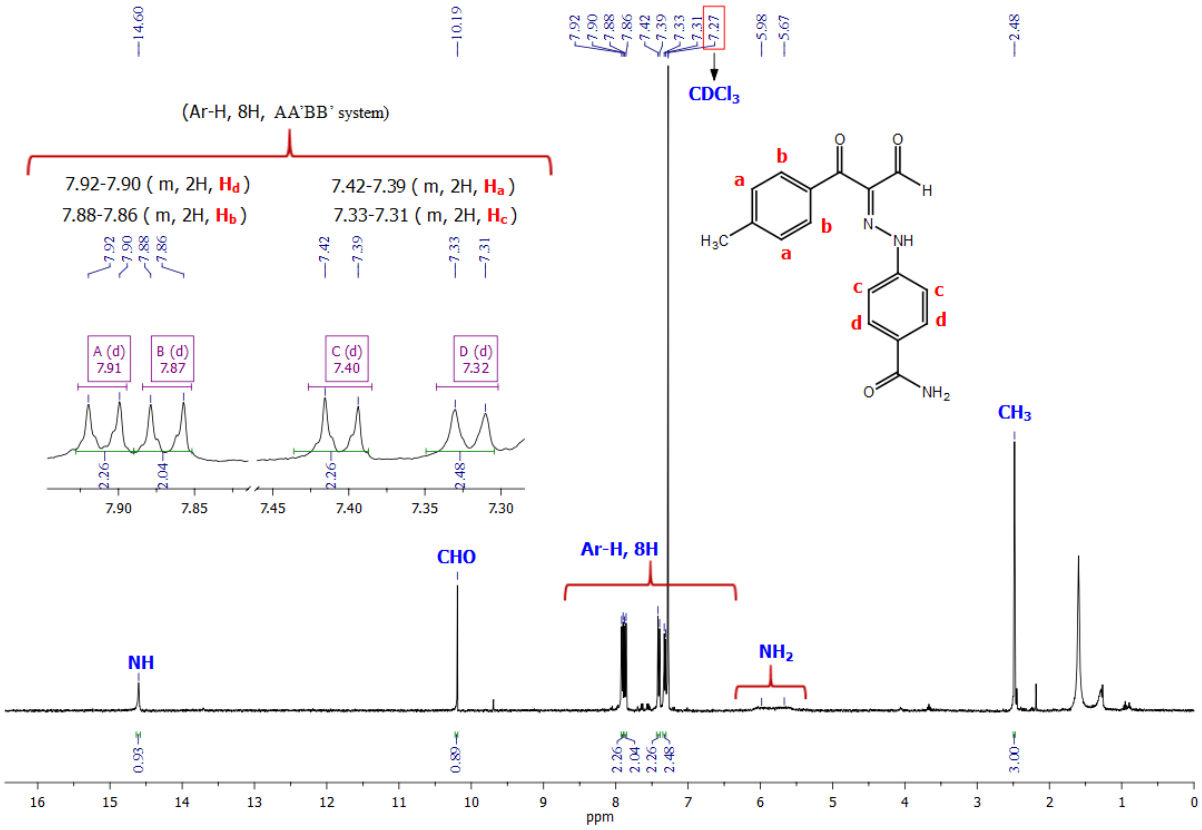


Figure S1: [1]H NMR spectra of **AD-2**

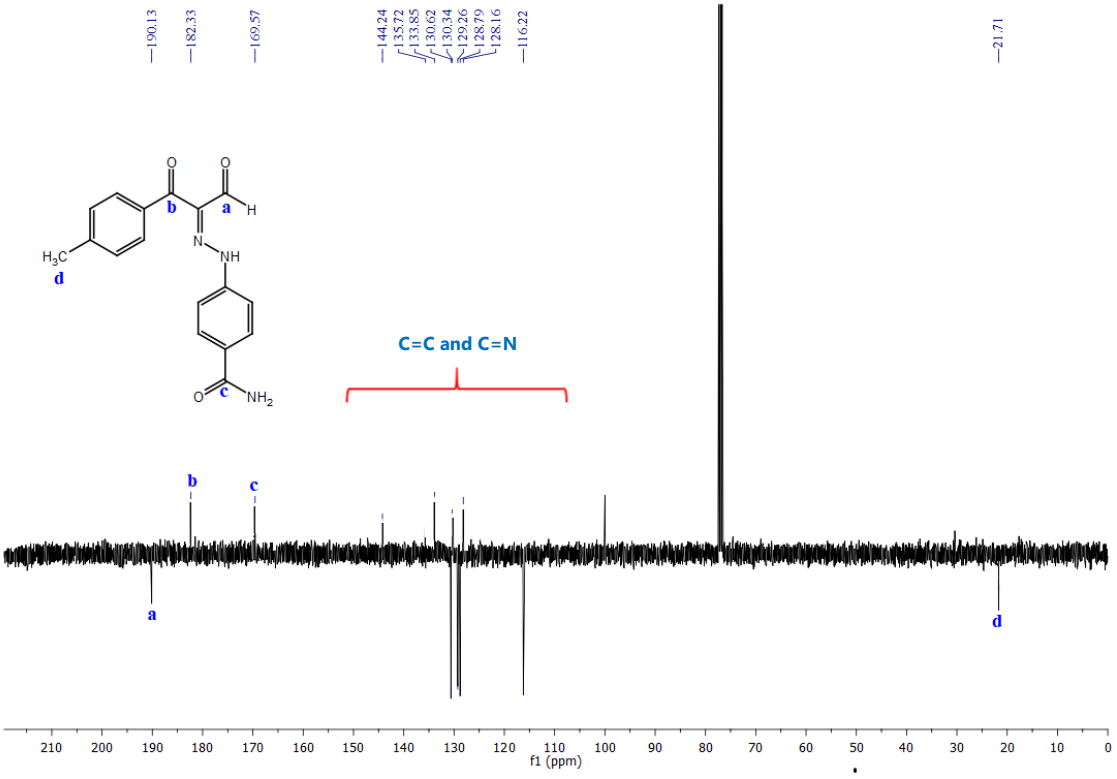


Figure S2: [13]C NMR spectra of **AD-2**

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.732275 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

AASHTO-93 Yönteminin Mekanistik Ampirik Tasarım Yöntemleri İle Uyumunun Belirlenmesi

Murat BOSTANCIOĞLU[1*]
[1] Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Sivas, Türkiye
Murat BOSTANCIOĞLU ORCID No: 0000-0001-6820-2213

**Sorumlu yazar: bostancioglu@cumhuriyet.edu.tr*

(Alınış: 05.05.2020, Kabul: 19.10.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
AASHTO, Mekanistik ampirik tasarım, Transfer fonksiyonu, Esnek üst yapı tasarımı

Öz: Esnek üst yapı tasarımında kullanılan ve ampirik bir yöntem olan AASHTO yönteminin, değişen yük, yükleme durumu, tabaka malzemelerinin tanımlanması ve çevresel koşullar gibi parametrelere uyumunun sağlanması amacıyla mekanistik-ampirik (M-A) yöntemler ile kıyas ve entegrasyonunun sağlanması gerekmektedir. Bu çalışmada geleneksel bir esnek üst yapı kesitinin, bitümlü sıcak karışım (BSK) yüzey tabakası ile temel tabakasının değişen kalınlık ve rijitlik oranlarına bağlı olarak yol ömrü analizleri AASHTO ve M-A yöntem kullanılarak yapılmış ve elde edilen sonuçlar kıyaslanmıştır. M-A yöntemde farklı transfer denklemleri kullanılmış ve bu transfer denklemleri arasından AASHTO yöntemi ile en uyumlu sonucu veren denklemler tespit edilmeye çalışılmıştır. Yapılan analizler sonucunda yorulmaya bağlı Shell modeli ile tekerlek izinde oturmaya bağlı Ulaşım ve Yol Araştırma Laboratuarı modellerinin AASHTO yöntemine en uyumlu sonuçlar veren iki model olduğu tespit edilmiştir.

Determining the Compatibility of AASHTO-93 Method with Mechanistic Empirical Design Methods

Keywords
AASHTO, Mechanistic empirical design, Transfer function, Flexible pavement design

Abstract: AASHTO method, which is an empirical method used in flexible pavement design, must be compared and integrated with mechanistic-empirical (M-E) methods to ensure compliance with parameters such as changing load, loading condition, layer materials, and environmental conditions. In this study, pavement life analyses of a traditional flexible pavement cross-section based on the varying thickness and stiffness ratios of the bituminous hot mix surface layer and the base layer were made using the AASHTO and M-A method, and the results were compared. Different transfer equations are used in the M-A method, and the equations that give the most compatible results with the AASHTO method are tried to be determined. As a result of the analysis, it has been determined that the Shell model due to fatigue and the Transport and Road Research Laboratory models based on rutting are the two models that give the most compatible results to the AASHTO method.

1. GİRİŞ

Esnek üst yapılar, karayolu taşıtlarının konfor ve güvenliklerinin sağlanması ve trafik yükleri ile çevresel etkilere karşı direnç gösterilebilmesi amaçları ile taban zemini üzerine inşa edilen granüler alt temel ve temel tabakaları ile bitümlü yüzey tabakalarından inşa edilmektedir [1].

Üst yapı tabakalarının, trafik yükleri ve çevresel etkiler altında, proje ömrü boyunca bozulmadan hizmet verebilmesi için gerekli ve uygun kalınlıkların hesabı ise üst yapı tasarımı olarak tanımlanmaktadır [2].

Üst yapı tasarımında kullanılan yöntemler, ampirik yöntemler, kayma göçmesi sınırlama yöntemi, deplasman sınırlama yöntemi, regresyon yöntemi ve mekanistik-ampirik (M-A) yöntemler olmak üzere beş ayrı kategoride incelenebilir [3].

Üst yapı dizaynında kullanılan ilk yöntemler arasında sayılabilecek [4,5] ampirik yöntemlerin en olumsuz yönü, yöntemin sadece ilgili deney seti (malzeme, çevresel koşullar ve yükleme koşulları) için geçerli olmasıdır. Eğer bu koşullar değişir ise yöntem geçerliliğini yitirmektedir [3].

Yol testlerine bağlı geliştirilen denklemlerin üst yapı tasarımında kullanıldığı ve Türkiye Karayolları Genel

Müdürlüğü tarafından da esnek üst yapıların tasarımında kullanılan [6] AASHTO (American Association of State Highway Transportation Officilas) yöntemi regresyon yöntemlerine verilebilecek en önemli ve geçerli örneklerden bir tanesidir [7].

Ottowa Illinois yol testlerinden belirli bir deney seti ve çevresel koşul için türetilen AASHTO yönteminde de en önemli dezavantajlar, ampirik yöntemlerde olduğu gibi dizayn denklemlerinin sadece ilgili test yolu kesiti için geçerli olması ve yöntemin, malzeme ve test yolu imalatı ile ilgili çok sayıda belirsizlik içermesidir [3,7,8]. Bu sebeple AASHTO yöntemi gibi ampirik tabanlı yöntemlerin üst yapı tasarımında kullanılması sorgulanmaktadır [9,10].

M-A tasarım yöntemleri yük, yükleme alanı, yükleme koşulları, çevresel koşullar ve tabaka malzemelerinin tanımlanması gibi üst yapı tasarımında çok önemli yer tutan ve sonuçlara etki eden parametrelerin değişimine karşı uyum gösterebilen [11–13] ve son zamanlarda sıklıkla kullanılan bir üst yapı tasarım yöntemidir [14–18].

Mekanistik-ampirik (M-A) tasarım yöntemlerinde tekerlek yükü, malzeme özellikleri ve çevresel etkiler gibi girdiler, temel malzeme mekaniği kullanılarak gerilme ve birim şekil değiştirme hesabında kullanılmakta ve elde edilen bu mekanik tepki değerleri ile yolun bozulma ömrü tahmin edilmektedir [3,19].

Gerilme, birim şekil değiştirme veya deplasman gibi kaplama tepkilerinin belirlenmesi M-A yöntemlerin "mekanistik" bölümünü oluştururken, bu tepkilerin laboratuar deneyleri veya arazi performans verileri ile birleştirilerek tekerlek izinde oturma veya yorulma gibi temel bir göçme tipine bağlı kaplama tasarım ömrünün belirlenmesi ise "ampirik" bölümü oluşturmaktadır [3,10].

Mekanik tepkilerin ampirik transfer fonksiyonları ile kaplama ömrüne dönüştürülmesinde en yaygın kullanılan göçme tipleri yorulma ve tekerlek izinde oturmadır. Yorulmaya bağlı göçme, mekanik tepkilerden yüzey tabakası altında oluşan yatay çekme birim şekil değiştirmeleri ile ilişkilendirilirken tekerlek izinde oturmaya bağlı göçme ise taban zemini üzerinde meydana gelen düşey basınç birim şekil değiştirmeleri ile ilişkilendirilmektedir [10,19].

Yorulma ve tekerlek izinde oturmaya bağlı kaplama ömrü tahmin modellerinin genel formülasyonları 1 ve 2 numaralı eşitliklerde, eşitliklerde kullanılan katsayılar Tablo 1'de verilmiştir.

$$N_f = f1{\varepsilon_r}^{-f2}{E_{yüzey}}^{-f3} \quad (1)$$

$$N_r = f4(\varepsilon_v)^{-f5} \quad (2)$$

Burada, N_f yorulmaya bağlı bozulma için gerekli yük tekrar sayısını, N_r tekerlek izinde oturmaya bağlı bozulma için gerekli yük tekrar sayısını, $E_{yüzey}$ yüzey tabakasının elastisite modülünü (psi) belirtmektedir.

Tablo 1. Farklı kuruluşlar için bozulma modeli katsayıları [19]

	AI	Shell	USACE	BRRC	TRRL	FHWA	ILLINOIS	ARE
f1	0,0795	0,0685	497,156	4,92E-14	1,66E-10	0,1001	5,00E-06	4,88E-01
f2	3,291	5,671	5	4,76	4,32	3,565	3	3,0312
f3	0,854	2,363	2,66	0	0	1,474	0	0,6529
f4	1,37E-09	6,15E-07	1,81E-15	3,05E-09	1,13E-06	---	---	---
f5	4,477	4	6,527	4,35	3,75	---	---	---

Tablo 1'de görüldüğü gibi farklı kuruluşlara ait model katsayıları birbirlerinden oldukça farklı olup bu modeller ile hesaplanan yol ömrü değerleri de birbirlerinden oldukça farklı sonuçlar vermektedir. Bu sebeple uygun transfer fonksiyonun bulunması ve yol ömrü tahmininde kullanılması üst yapı tasarımcıları açısından kritik bir öneme sahiptir.

M-A tasarım yöntemleri, ampirik yöntemler ile kıyaslandığında önemli farklılıklar dikkat çekmektedir. Türkiye Karayolları Genel Müdürlüğü tarafından esnek üst yapı tasarımında kullanılan regresyon tabanlı ampirik bir yöntem olan AASHTO yöntemi ile [6] M-A dizayn yöntemleri kıyaslandığında öne çıkan temel değişiklikler aşağıda kısaca özetlenmiştir.

- AASHTO yöntemi kaplama tasarımında sadece "mevcut servis kabiliyeti indeksi" (PSI) kriterini kullanırken M-A yöntemler tekerlek izinde oturma, yorulma, pürüzlülük gibi birden fazla tasarım kriterini dikkate almaktadır.

- AASHTO yöntemi sınırlı arazi test verilerine ve testlerin yapıldığı tek bir lokasyona (Ottowa, Illinois) odaklanırken M-A yöntemlerde daha spesifik iklimsel veriler (hava sıcaklığı, yağış, rüzgar hızı, bağıl nem vd.) ve malzeme özellikleri (Bitümlü tabakaların dinamik modülleri veya granüler tabakaların neme bağlı rezilyans modülleri vd.) dikkate alınabilmektedir.

- AASHTO yönteminde tüm trafik yükleri eşdeğer 8,2 ton standart dingil yükü ($T_{8,2}$) olarak kullanılırken M-A yöntemlerde daha geniş bir yük dağılımı kullanılabilmektedir [9].

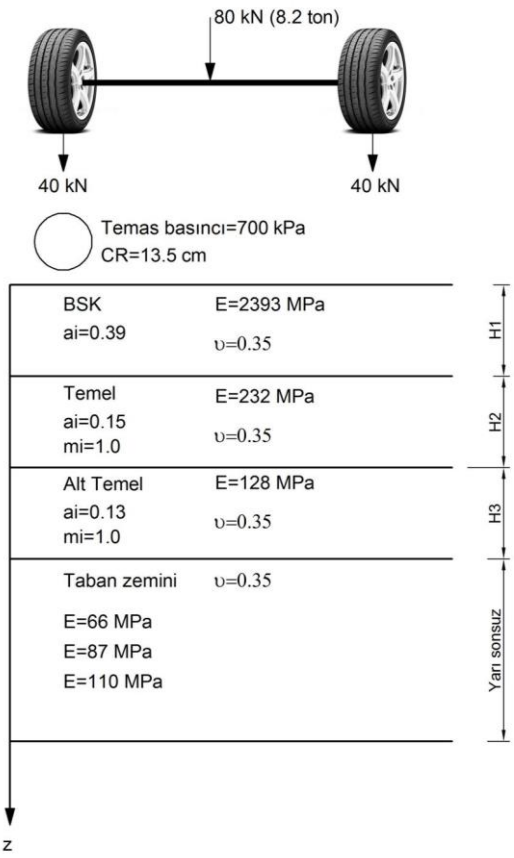
Bir üst yapı mühendisi AASHTO yöntemi ile tasarlanmış mevcut bir kesit geometrisi üzerinde farklı yükler, farklı yükleme alanları (tekerlek izi), farklı malzemeler, farklı malzeme tanımlamaları (lineer elastik, non-lineer elastik, viskoelastik vd.) ve farklı çevresel koşullar (sıcaklık, nem vd) ile yeni analizler yapmak istediğinde mevcut AASHTO yöntemi yukarıda sayılan dezavantajları sebebiyle bu isteğe uyum sağlayamamaktadır. M-A tasarım yöntemleri ile yeni bir analiz yapıldığında ise elde edilen sonuçlar AASHTO yöntemi ile bulunan tasarım ömründen oldukça farklı değerler ortaya koyacak ve değiştirilen dizayn parametrelerine ilişkin bir kıyaslama yapılamayacaktır.

Bu çalışmanın amacı M-A tasarım yöntemlerinde kullanılan transfer denklemlerinden hangisi veya hangilerinin AASHTO yöntemi ile uyumlu sonuçlar verdiğini belirlemek ve tasarımcıya AASHTO yöntemi ile kalınlık ve yol ömrü analizi yapılmış bir yolun M-A yöntem ile yeniden tasarlanması durumunda değişen yük, malzeme ve çevresel koşullar altında meydana gelen değişimi kıyaslama olanağı sunmaktır.

Literatürde AASHTO yöntemi ile M-A yöntemi kıyaslayan çalışmalar mevcut olsa da, M-A yöntemin transfer denklemleri ile AASHTO yöntemi arasında ilişki kuran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu anlamda mevcut çalışmadan elde edilen sonuçların kaplama mühendisliği alanında önemli bir yer tutacağı düşünülmektedir.

2. MATERYAL VE METOT

Çalışmada alt temel, temel ve bitümlü sıcak karışım (BSK) yüzey tabakasından oluşan geleneksel bir üst yapı kesiti seçilmiştir (Şekil 1). Tabaka kalınlıkları z ekseni üzerinde tanımlanmıştır. Tabakalara ait mekanik özellikler (Elastisite modülü, poisson oranı, izafi mukavemet katsayısı), drenaj katsayıları ve AASHTO yöntemine uygun şekilde tanımlanmış yükleme durumu Şekil 1'de verilmiştir [6,20].



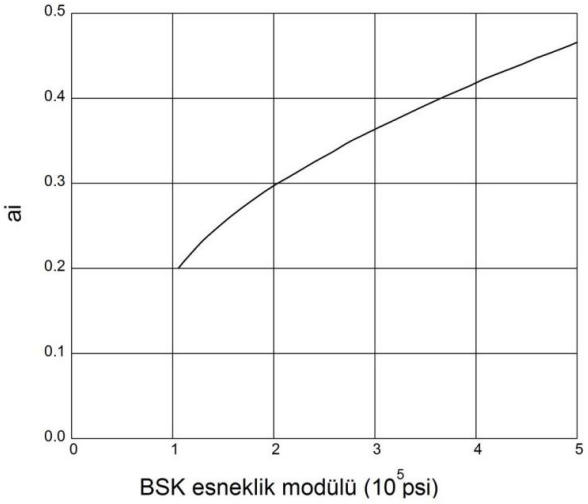
Şekil 1. Model geometrisi

Tabakalara ait izafi mukavemet katsayıları seçilirken Türkiye Karayolları Genel Müdürlüğü Esnek Üst Yapılar Projelendirme Rehberi (EÜPR) [6] dikkate alınmıştır. BSK tabakasının izafi mukavemet katsayısı bitümlü sıcak karışım olarak imal edilen üç tabakanın ortalaması olarak 0,39 seçilmiştir (Aşınma (0,42), binder (0,40), bitümlü temel (0,36)), Temel tabakası için plentmiks temel katsayısı 0,15, alt temel tabakası için kırmataş alt temel katsayısı 0,13 tercih edilmiştir. Poisson oranı değerleri (υ) tüm tabakalar için 0,35 alınmıştır [3,20–22].

Analizlerde hassasiyet sağlamak ve taban zemini rijitlik (E taban) değişiminin etkilerini dikkate almak amacıyla taban zemini esneklik modülü (M_R) 66 MPa (9500 psi), 87 MPa (12600 psi) ve 110 MPa (16000 psi) olarak üç farklı değerde kullanılmıştır [6].

M-A tasarım yönteminde yük altındaki kaplamanın mekanik tepkilerini belirlemek için KENLAYER yazılımı kullanılmıştır. KENLAYER, tekil, dual, dual tandem ve dual tridem yüklemeler altındaki lineer elastik, non-lineer elastik ve viskoelastik tanımlanmış çok tabakalı sistemlerin deplasman, gerilme ve birim şekil değiştirme değerlerinin bulunmasında başarı ile kullanılabilen bir yazılımdır [16,23].

Tabakalara ait izafi mukavemet katsayılarının (ai) mekanik analizlerde kullanılmak üzere BSK, temel ve alt temel elastisite modülüne dönüştürülmesinde sırasıyla Şekil 2, Eşitlik 3 ve 4 kullanılmıştır [3].



Şekil 2. BSK için ai-M_R dönüşüm grafiği [3]

$$a_{temel} = 0{,}249x\log(E_{temel}) - 0{,}977 \quad (3)$$

$$a_{alt\ temel} = 0{,}227x\log(E_{alt\ temel}) - 0{,}839 \quad (4)$$

$$\log(T_{8,2}) = Z_R x S_0 + 9{,}36x\log(SN+1) - 0{,}20 + \frac{\log(\frac{\Delta PSI}{4{,}2-1{,}5})}{0{,}40 + \frac{1094}{(SN+1)^{5{,}19}}} + 2{,}32x\log(M_R) - 8{,}07 \quad (5)$$

Burada;
Z_R: Güvenilirliğin (R) standart normal sapması olup otoyollar için (R=%95) -1,645, devlet yolları için (R=%85) -1,037 ve il yolları için (R=%70) -0,524 olarak önerilmektedir,
S_0: Trafik ve performans tahmininin bileşik toplam standart sapması olup 0,40-0,50 arasında önerilmektedir, çalışmada bu değer 0,45 olarak kullanılmıştır,
ΔPSI: Servis kabiliyetindeki azalma miktarı (P_0-P_t) olup, yolun ilk servis kabiliyeti (P_0) değeri yol ilk hizmete açıldığında 4,2 ile 4,5 arasında alınmaktadır, Çalışmada bu değer 4,2 olarak kullanılmıştır, Son servis kabiliyeti (P_t) ise yol üst yapısının onarım ve takviyeden önce müsaade edilebilecek en düşük servis kabiliyetidir ve otoyol ve devlet yolları için 2,5, il yolları için ise 2,0 olarak önerilmektedir,
M_R: Esneklik modülü (psi)
SN: Üst yapı sayısı (inç) olarak tanımlanmaktadır.
SN, tabakaların kalınlıkları (D_i, D_j), izafi mukavemet katsayıları (a_i, a_j) ve granüler tabakaların drenaj katsayılarına (m_j) bağlı olarak Eşitlik 6 ile hesaplanmaktadır.

$$SN = \sum_{i=1}^{k} a_i D_i + \sum_{j=1}^{n} a_j D_j m_j \quad (6)$$

Eşitlikte k, bitümlü sıcak karışım tabaka sayısını, n ise granüler tabaka sayısını belirtmektedir. Granüler tabaka drenaj katsayıları 1,0 olarak alınmıştır.

Eşitliklerde a_{temel} ve $a_{alt\ temel}$ sırasıyla temel ve alt temel tabakalarının izafi mukavemet katsayılarını, E_{temel} ve $E_{alt\ temel}$ ise sırasıyla temel ve alt temel tabakalarının elastisite modülü değerlerini (psi) belirtmektedir.

Şekil 1'de gösterilen H1, H2 ve H3 tabakalarına değer atamak amacıyla EÜPR incelendiğinde BSK tabakası kalınlığının (H1), farklı güvenilirlik ve trafik yükü ($T_{8,2}$) değerlerine bağlı olarak 19 ile 34 cm arasında değiştiği görülmektedir. Temel tabakası kalınlığı (H2) için 20 cm ve alt temel tabakası kalınlığı (H3) için asgari (kum-çakıl alt temel yapılması durumunda) 20 cm önerilmektedir. Bu değerler referans olarak alındığında çalışmada H1/H2 oranı 1 (19/20) ile 1,7 (34/20) arasında değişen değerlerde kullanılmıştır.

Çalışılan kesitin AASHTO yöntemine göre, ekonomik ömrü boyunca geçirebileceği maksimum standart dingil yükü sayısı ($T_{8,2}$) Eşitlik 5 ile belirlenmiştir [6].

H1/H2 oranı değiştirilerek belirlenen bütün kesitlere ait yol ömrü değerleri AASHTO ve M-A tasarım yöntemleri ile bulunmuştur. M-A tasarım yöntemleri ile hesaplanan değerler AASHTO yöntemi ile bağıl hata oranına (BHO) (Eşitlik 7) göre kıyaslanmış ve belirlenen hata oranına göre uyumlu sonuçlar veren M-A transfer denklemleri tespit edilerek farklı zemin tipleri için uyum abakları hazırlanmıştır.

$$BHO = \left[\frac{y_{AASHTO} - y_{M-A}}{y_{AASHTO}}\right] x100 \quad (7)$$

Eşitlikte y_{AASHTO} AASHTO yöntemi ile elde edilen yol ömrü değerini, y_{M-A} ise M-A dizayn yöntemi ile elde edilen yol ömrü değerini belirtmektedir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Şekil 1'de verilen kesitin, H1=H2=H3=20 cm seçilerek, farklı taban zemini E değerleri ve 1,0 ile 1,7 arasında 0,1 artış ile değiştirilen H1/H2 oranlarına bağlı yol ömrü değerleri AASHTO yöntemi (R%70, 85 ve 95 olmak üzere 3 farklı güvenilirlik seviyesi için) ve M-A tasarım yöntemleri ile hesaplanmıştır. H1/H2 oranı değiştirilirken temel tabakası kalınlığı sabit tutulmuş, BSK tabaka kalınlığı artırılmıştır [6]. Taban zemininin farklı rijitlik değerleri için değişen H1/H2 oranına bağlı olarak elde edilen yol ömrü değerleri Tablo 2 ve 3'te verilmiştir.

Tablo 2 incelendiğinde M-A yöntemlere ait yorulmaya bağlı yol ömrü değerlerini ifade eden Nf değerlerinin, AASHTO yöntemi sonuçlarından önemli ölçüde farklı olduğu açıkça görülmektedir. ARE transfer denklemi

ile elde edilen Nf değerleri, diğer tüm yöntemlerin yol ömrü değerlerine kıyasla oldukça yüksek değerler verirken BRRC, FHWA ve Illinois yöntemlerine ait sonuçların ise AASHTO yöntemi sonuçlarından oldukça düşük oldukları görülmektedir. AI, USACE ve TRRL yöntemlerine ait sonuçlar, BRRC, FHWA ve Illinois yöntemi sonuçlarından daha yüksek olsa da tüm H1/H2 oranları için R(%95) sonuçlarının altında kalmışlardır. Tablo 2'ye göre, özellikle H1/H2 oranının 1,4 ve üzerinde olduğu seçeneklerde Shell yöntemi sonuçlarının R(%95) sonuçlarına yakınlaştığı görülmektedir.

Tablo 2. H1/H2 oranına bağlı olarak elde edilen AASHTO ve Nf değerleri

Taban zemini rijitliği 66 Mpa

	T8,2 (x10^6)			Nf (x10^6)							
H1/H2	R%70	R%85	R%95	AI	Shell	USACE	BRRC	TRRL	FHWA	Illinois	ARE
1	100,8	34,5	18,45	2,52	6,65	3,50	0,02	1,89	0,01	0,71	39213,43
1,1	154,5	52	27,6	3,78	13,35	6,47	0,04	3,22	0,02	1,02	56921,99
1,2	234,2	77,5	41,3	5,57	26,07	11,67	0,08	5,36	0,03	1,46	81418,21
1,3	350	114,5	60,8	8,10	49,67	20,61	0,13	8,76	0,04	2,05	114902,72
1,4	509	164,5	87,5	11,62	92,59	35,68	0,22	14,08	0,06	2,85	160291,96
1,5	740	237	126,4	16,41	167,76	60,27	0,36	22,15	0,09	3,90	220233,99
1,6	1050	337	179,6	22,85	296,91	99,69	0,59	34,21	0,13	5,28	298815,67
1,7	1495	475	253	31,42	514,08	161,75	0,93	51,97	0,19	7,06	400711,27

Taban zemini rijitliği 87 Mpa

	T8,2 (x10^6)			Nf (x10^6)							
H1/H2	R%70	R%85	R%95	AI	Shell	USACE	BRRC	TRRL	FHWA	Illinois	ARE
1	195	67	36	2,64	7,20	3,76	0,03	2,01	0,01	0,74	40934,39
1,1	300	100	53	3,97	14,57	6,99	0,05	3,44	0,02	1,07	59649,32
1,2	452	150	80	5,88	28,66	12,69	0,08	5,76	0,03	1,53	85650,25
1,3	675	220	117	8,59	55,00	22,55	0,14	9,47	0,05	2,16	121343,05
1,4	980	317	170	12,38	103,28	39,29	0,24	15,30	0,07	3,02	169926,20
1,5	1425	456	240	17,55	188,41	66,76	0,40	24,19	0,10	4,15	234329,11
1,6	2040	650	345	24,54	335,83	111,13	0,65	37,58	0,14	5,64	319152,00
1,7	2880	915	485	33,87	585,06	181,29	1,04	57,36	0,20	7,56	429393,37

Taban zemini rijitliği 110 Mpa

	T8,2 (x10^6)			Nf (x10^6)							
H1/H2	R%70	R%85	R%95	AI	Shell	USACE	BRRC	TRRL	FHWA	Illinois	ARE
1	340	116	62	2,73	7,65	3,96	0,03	2,11	0,01	0,76	42274,48
1,1	515	174	93	4,13	15,60	7,42	0,05	3,63	0,02	1,11	61866,68
1,2	790	260	138	6,15	30,96	13,58	0,09	6,11	0,03	1,60	89248,95
1,3	1175	384	204	9,01	59,71	24,24	0,15	10,08	0,05	2,26	126786,26
1,4	1710	553	294	13,02	112,66	42,42	0,26	16,35	0,07	3,16	178010,07
1,5	2460	795	423	18,50	206,43	72,36	0,43	25,94	0,11	4,36	246053,38
1,6	3550	1130	602	25,98	370,50	121,18	0,71	40,50	0,15	5,94	336355,79
1,7	5025	1590	845	35,95	648,18	198,43	1,13	62,01	0,22	7,98	453564,11

Tablo 3. H1/H2 oranına bağlı olarak elde edilen AASHTO ve Nr değerleri

Taban zemini rijitliği 66 Mpa

	T8,2 ($x10^6$)			Nr ($x10^6$)				
H1/H2	**R%70**	**R%85**	**R%95**	**AI**	**Shell**	**USACE**	**BRRC**	**TRRL**
1	100,8	34,5	18,45	7,36	69,69	155,15	5,87	16,94
1,1	154,5	52	27,6	11,60	104,61	301,05	9,12	24,80
1,2	234,2	77,5	41,3	17,91	154,21	567,05	13,91	35,67
1,3	350	114,5	60,8	27,04	222,85	1034,09	20,77	50,38
1,4	509	164,5	87,5	40,18	317,43	1841,85	30,51	70,20
1,5	740	237	126,4	58,65	445,09	3197,31	44,06	96,37
1,6	1050	337	179,6	84,29	615,39	5424,68	62,68	130,57
1,7	1495	475	253	119,38	839,87	9010,81	87,90	174,77

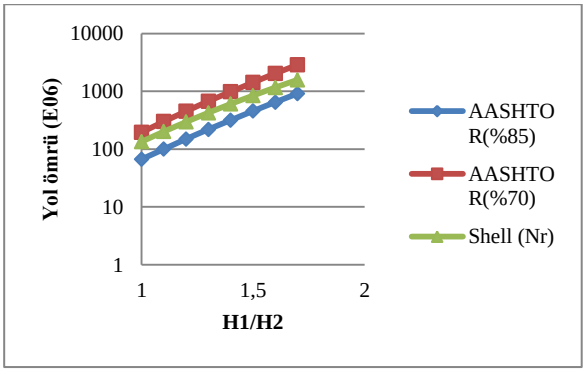
Taban zemini rijitliği 87 Mpa

	T8,2 ($x10^6$)			Nr ($x10^6$)				
H1/H2	**R%70**	**R%85**	**R%95**	**AI**	**Shell**	**USACE**	**BRRC**	**TRRL**
1	195	67	36	15,38	134,58	454,10	12,00	31,40
1,1	300	100	53	24,13	201,31	876,02	18,59	45,80
1,2	452	150	80	37,08	295,44	1638,22	28,22	65,63
1,3	675	220	117	55,88	426,21	2979,04	42,04	92,53
1,4	980	317	170	82,61	604,43	5268,03	61,46	128,39
1,5	1425	456	240	120,04	843,97	9082,64	88,36	175,56
1,6	2040	650	345	172,08	1164,34	15355,18	125,39	237,39
1,7	2880	915	485	242,64	1582,73	25340,40	175,09	316,56

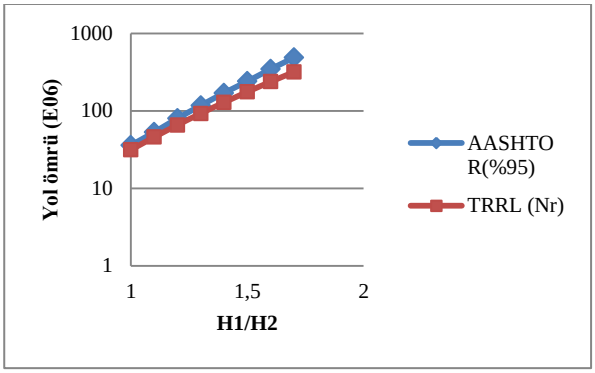
Taban zemini rijitliği 110 Mpa

	T8,2 ($x10^6$)			Nr ($x10^6$)				
H1/H2	**R%70**	**R%85**	**R%95**	**AI**	**Shell**	**USACE**	**BRRC**	**TRRL**
1	340	116	62	30,21	246,03	1215,28	23,13	55,28
1,1	515	174	93	47,29	367,19	2335,84	35,75	80,46
1,2	790	260	138	72,47	537,71	4352,65	54,12	115,05
1,3	1175	384	204	108,65	772,04	7853,89	80,21	161,50
1,4	1710	553	294	159,93	1090,60	13800,37	116,78	223,26
1,5	2460	795	423	232,10	1521,14	23751,32	167,69	304,99
1,6	3550	1130	602	330,90	2088,29	39833,53	236,68	410,50
1,7	5025	1590	845	465,24	2831,39	65461,09	329,57	546,08

Tekerlek izinde oturmaya bağlı yol ömrü değerlerinin AASHTO yöntemi sonuçları ile kıyaslandığı Tablo 3 incelendiğinde, AI ve BRRC yöntemleri ile elde edilen sonuçların, AASHTO yöntemi ile elde edilen en düşük yol ömrü sonuçları olan R(%95) sonuçlarından düşük olduğu görülmektedir. USACE sonuçlarının ise AASHTO yöntemi ile elde edilen en yüksek yol ömrü sonuçları olan R(%70) sonuçlarından yüksek olduğu belirlenmiştir. Shell yöntemi ile elde edilen sonuçların R(%70) ile R(%85) sonuçları arasında konumlandığı (Şekil 3), TRRL yöntemi sonuçlarının ise R(%95) sonuçlarına oldukça yakın olduğu görülmektedir (Şekil 4).



Şekil 3. R(%85) ve R(%70) sonuçları ile Shell (Nr) modeli Sonuçlarının kıyaslanması (Etaban=87 MPa)



Şekil 4. R(%95) sonuçları ile TRRL (Nr) modeli sonuçlarının kıyaslanması (Etaban=87 MPa)

Tablo 2 ve 3'te elde edilen sonuçların daha hassas analiz edilebilmesi amacıyla AASHTO R(%95) sonuçlarına yakın sonuçlar veren Shell yorulma modeli ve TRRL tekerlek izinde oturma modeli ile AASHTO R(%70) ile R(%85) güvenilirlik değeri sonuçları arasında sonuçlar veren Shell tekerlek izinde oturma modeli sonuçlarının, AASHTO sonuçlarına göre BHO değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 4'te verilmiştir.

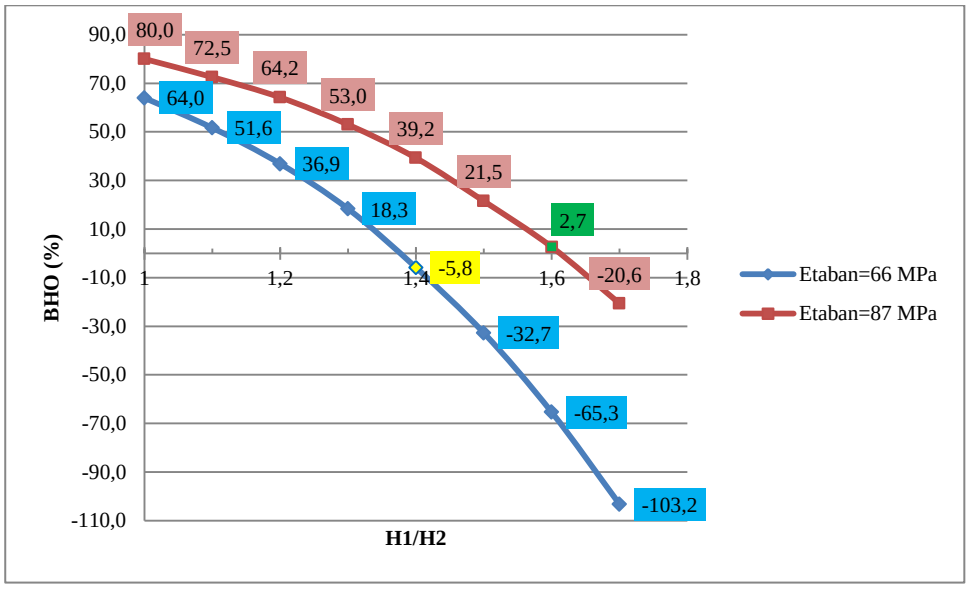
Tablo 4. BHO değerleri

Taban zemini rijitliği (Mpa)	H1/H2	R(%95)'e göre BHO		R(%85)'e göre BHO	R(%70)'e göre BHO
		Shell (Nf)	TRRL (Nr)	Shell (Nr)	Shell (Nr)
66	1	64,0	8,2	-102,0	30,87
	1,1	51,6	10,2	-101,2	32,29
	1,2	36,9	13,6	-99,0	34,16
	1,3	18,3	17,1	-94,6	36,33
	1,4	-5,8	19,8	-93,0	37,64
	1,5	-32,7	23,8	-87,8	39,85
	1,6	-65,3	27,3	-82,6	41,39
	1,7	-103,2	30,9	-76,8	43,82
87	1	80,0	12,8	-100,9	30,98
	1,1	72,5	13,6	-101,3	32,90
	1,2	64,2	18,0	-97,0	34,64
	1,3	53,0	20,9	-93,7	36,86
	1,4	39,2	24,5	-90,7	38,32
	1,5	21,5	26,8	-85,1	40,77
	1,6	2,7	31,2	-79,1	42,92
	1,7	-20,6	34,7	-73,0	45,04
110	1	87,7	10,8	-112,1	27,64
	1,1	83,2	13,5	-111,0	28,70
	1,2	77,6	16,6	-106,8	31,94
	1,3	70,7	20,8	-101,1	34,29
	1,4	61,7	24,1	-97,2	36,22
	1,5	51,2	27,9	-91,3	38,16
	1,6	38,5	31,8	-84,8	41,18
	1,7	23,3	35,4	-78,1	43,65

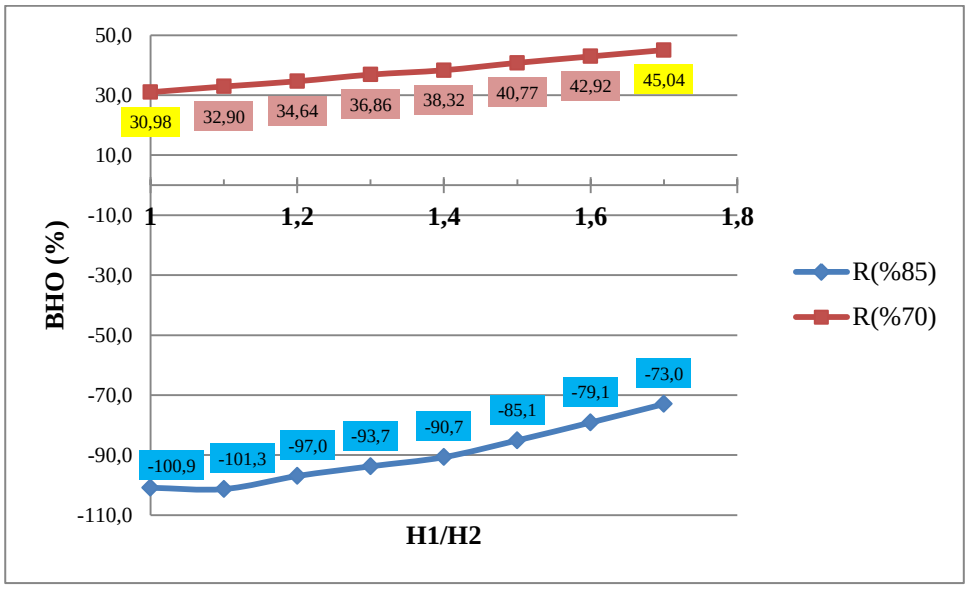
Tablo 4 incelendiğinde tekerlek izinde oturmaya bağlı TRRL modeli sonuçlarının H1/H2 ve taban zemini rijitliğine bağlı olarak AASHTO R(%95) sonuçları ile %8,2 ile %35,4 arasında değişen oranlarda uyum gösterdiği belirlenmiştir. H1/H2 oranı artışına bağlı olarak BHO değerleri artmıştır. Yorulmaya bağlı Shell modeli sonuçlarının R(%95) sonuçlarına göre BHO değerleri incelendiğinde H1/H2 oranı artışına bağlı olarak BHO değerleri azalmıştır. Taban zemini rijitliği 66 MPa ve H1/H2 oranı 1,4 iken hata oranı -%5,8'e, taban zemini rijitliği 87 MPa ve H1/H2 oranı 1,6 olduğunda hata oranı %2,7'ye (Şekil 5) inmiştir.

R(%85) ve R(%70) sonuçlarına göre BHO değerleri incelendiğinde, tekerlek izinde oturmaya bağlı Shell modelinin R(%70) sonuçlarına daha yakın sonuçlar verdiği anlaşılmaktadır. Ancak elde edilen BHO değerleri R(%95) güvenilirlik seviyesinde olduğu kadar düşük olmayıp %31 ve daha üzerindedir. Özellikle H1/H2 oranı arttıkça BHO değerlerinin %31 seviyesinden %45 seviyesine yükseldiği görülmektedir (Şekil 6). Tablo 4'te bulunan BHO değerleri ile taban

zemini rijitlikleri birlikte değerlendirildiğinde taban zemini rijitliği artışına bağlı olarak BHO değerlerinde anlamlı bir artış veya azalış belirlenememiştir.



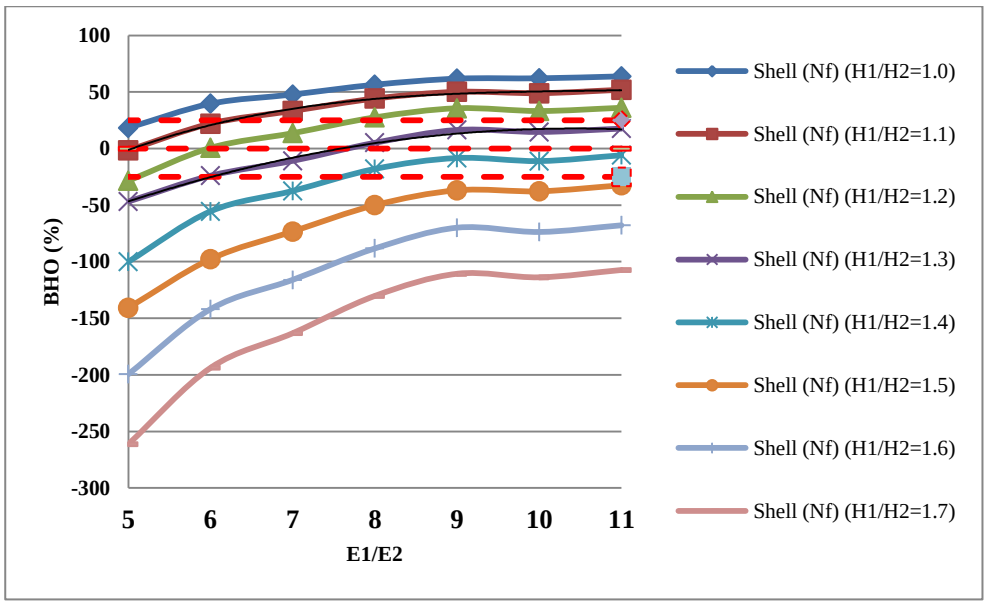
Şekil 5. Shell (Nf) modelinin H1/H2 oranına bağlı BHO değerleri



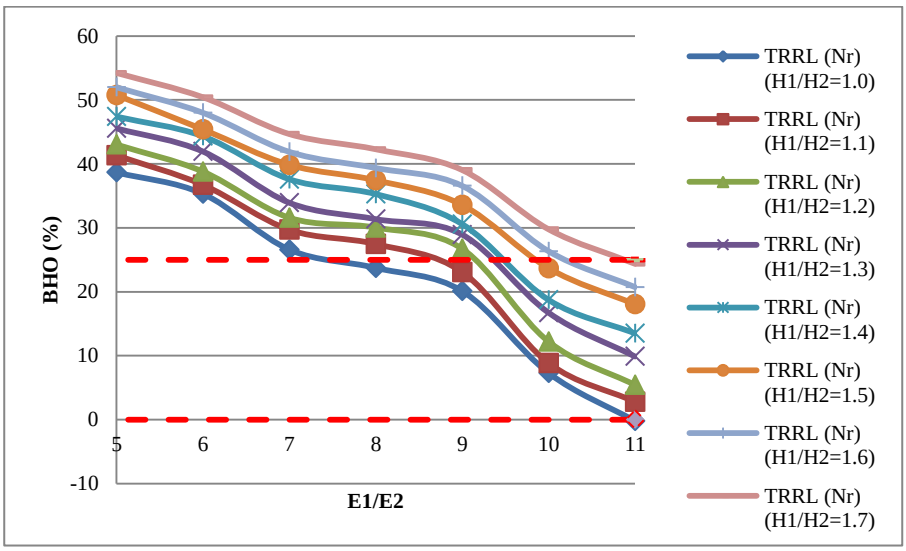
Şekil 6. Shell (Nr) modelinin R(%85) ve R(%70) sonuçlarına göre BHO değerleri (Etaban=87 MPa)

AASHTO yönteminin R(%95) güvenilirlik seviyesindeki sonuçlarına yakın sonuçlar verdiği belirlenen Shell (Nf) ve TRRL (Nr) modellerinin, H1/H2 oranı değişirken aynı zamanda E1/E2 (BSK/Temel) rijitlik oranı değişimine bağlı duyarlılıklarını tespit etmek amacıyla E1 değeri sabit tutularak E1/E2 oranı 5 ile 11 arasında 1,0 artış ile değiştirilerek analizler yapılmıştır. E1/E2 oranı için aralık belirlenirken EÜPR'deki BSK ve temel tabakaları için izafi mukavamet katsayıları dikkate alınmıştır [6]. Taban zemini rijitliği 66 MPa iken Shell (Nf) ve TRRL (Nr) modellerinin R(%95) sonuçlarına göre BHO değerleri Şekil 7 ve 8'de verilmiştir.

Şekil 7 incelendiğinde, Shell (Nf) modelinin tüm H1/H2 oranları için E1/E2 artışına bağlı olarak BHO değerlerinin sayısal olarak arttığı görülmektedir. Ancak bu artış BHO değeri pozitif olan kesitler için hata oranını artırırken, BHO değeri negatif olan kesitlerde hata oranını sıfıra yaklaştırmaktadır. Shell (Nf) modelinin BHO değerlerinin artış ve azalışında H1/H2 oranının kritik olduğu görülmektedir. H1/H2 değeri 1,0'den 1,4'e yükseldiğinde E1/E2 oranı 8 ve daha büyük olan kesitlerde BHO değerleri sıfıra yaklaşırken H1/H2 değeri bu sınır değerden daha fazla arttığında BHO değerleri sıfırdan uzaklaşmaktadır. 66 MPa taban zemini rijitliği ve H1/H2'nin 1,1, 1,2 ve 1,3 değerlerinde E1/E2'nin sırasıyla 5, 6 ve 7,59 (grafik denkleminden elde edilmiştir) değerleri için BHO değerinin sıfır olduğu görülmektedir. H1/H2 oranı 1,4 olduğunda hata oranları E1/E2'nin 9, 10 ve 11 olduğu kesitler için sırasıyla -8,34, -11,05 ve -5,92 olarak okunmuştur.



Şekil 7. Shell (Nf) modelinin R(%95) sonuçlarına göre BHO değerleri (Etaban=66 MPa)



Şekil 8. TRRL (Nr) modelinin R(%95) sonuçlarına göre BHO değerleri (Etaban=66 MPa)

Şekil 8 incelendiğinde TRRL (Nr) modelinin tüm H1/H2 oranları için E1/E2 artışına bağlı olarak BHO değerlerinin düştüğü açıkça görülmektedir. H1/H2 oranlarına bağlı olarak yapılan değerlendirmede ise H1/H2'nin artmasının BHO değerini artırdığı belirlenmiştir. BHO değerinin 0 ile %25 arasında olmasını sağlayan tüm kesitler için E1/E2 oranının 7'den büyük olması gerektiği anlaşılmaktadır.

Şekil 7 ve 8'de görülen kırmızı kesikli çizgiler BHO değerinin 0, %25 ve -%25 olduğu noktalardan geçirilmiştir. Bu çizgiler arasında kalan E1/E2 ve H1/H2 kombinasyonları, R(%95) sonuçlarına ±%25 hata ile yaklaşıldığını göstermektedir. Buna göre hazırlanan uyum abağı Şekil 9'da verilmiştir.

H1/H2	E1/E2						
	5	6	7	8	9	10	11
1	Shell (Nf)		*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,1	Shell (Nf)	Shell (Nf)	*	*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,2	*	Shell (Nf)	Shell (Nf)	*	*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,3		Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	TRRL (Nr)
1,4				Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)
1,5						TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,6						*	TRRL (Nr)
1,7						*	TRRL (Nr)

MUTLAK (BHO)	Renk Skalası	İlişki
0,0-5,0		KUVVETLİ
5,0-10,0		ORTA
10,0-15,0		
15,0-20,0		
20,0-25,0		ZAYIF

Şekil 9. R(%95) sonuçları ile ±%25 uyum abağı (Etaban=66 MPa için)

Şekil 9'da düşey eksende bulunan H1/H2 oranları ile yatay eksende bulunan E1/E2 oranları kesiştirilerek ilgili kesit durumu için AASHTO R(%95) sonucu ile yaklaşık sonuç veren M-A model tespit edilmektedir. Sonuçların birbirine yakınlığı Şekil 9'da verilen renk skalası ile tespit edilebilmektedir. Taban zemini rijitliği 66 MPa iken 56 farklı H1/H2 ve E1/E2 kombinasyonu için 28 adet uyumlu sonuç elde edilmiştir. Şekil 9'a göre E1/E2 değerinin 10 ve 11 olduğu kesitlerde TRRL (Nr) modelinin R(%95) değerleri ile daha uyumlu olduğu gözlenirken E1/E2'nin 5, 6 ve 7 değerlerinde Shell (Nf) yönteminin uyumu belirgin şekilde gözlenmektedir.

Taban zemini rijitliği 87 ve 110 MPa değerleri için benzer biçimde hazırlanan abaklar Şekil 10 ve 11'de gösterilmiştir. Şekil 10'da 26 adet, Şekil 11'de 23 adet uyumlu sonuç bulunmuştur.

H1/H2	E1/E2						
	5	6	7	8	9	10	11
1				*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,1					*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,2	*	*			*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,3						TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,4	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)			TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,5		Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	TRRL (Nr)
1,6			*	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)
1,7					Shell (Nf)	*	Shell (Nf)

Şekil 10. R(%95) sonuçları ile ±%25 uyum abağı (E taban=87 MPa için)

H1/H2	E1/E2						
	5	6	7	8	9	10	11
1				*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,1					*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,2					*	TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,3						TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,4	*					TRRL (Nr)	TRRL (Nr)
1,5	Shell (Nf)	*				*	TRRL (Nr)
1,6	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)				TRRL (Nr)
1,7		Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)	Shell (Nf)

Şekil 11. R(%95) sonuçları ile ±%25 uyum abağı (E taban=110 MPa için)

Şekil 9-11 abakları incelendiğinde taban zemini rijitiliği arttıkça R(%95) sonuçları ile ±%25 uyumlu M-A model sayısı düşmektedir. Bu durumda her bir taban zemini rijitliği için hesabı yapılan toplam 56 kombinasyonun M-A model ile temsil edilme oranları taban zemini rijitliği 66, 87 ve 110 MPa için sırasıyla %50, %46 ve %42 olarak elde edilmektedir. Hata oranı ±%30'a çıkarıldığında Şekil 9'da 8 adet, Şekil 10'da 7 adet ve Şekil 11'de 6 adet ilave uyumlu model bulunmaktadır (Abaklarda * ile gösterilmiştir), buna göre temsil oranları sırasıyla %64, %59 ve %52'ye çıkmaktadır.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Türkiye Karayolları Genel Müdürlüğü tarafından esnek üst yapı tasarımında kullanılan AASHTO yönteminin 8 adet yorulmaya, 5 adet ise tekerlek izinde oturmaya bağlı M-A tasarım yöntemi ile kıyaslandığı bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre aşağıdaki sonuçlara varılabilir.

- Yorulmaya bağlı Shell ve tekerlek izinde oturmaya bağlı TRRL yöntemlerinden elde edilen sonuçlar AASHTO R(%95) güvenilirlik

seviyesi ile, tekerlek izinde oturmaya bağlı Shell yöntemi ise AASHTO R(%70) ve R(%85) güvenilirlik seviyeleri ile uyumlu sonuçlar vermektedir. Özellikle yorulmaya bağlı Shell yönteminin AASHTO R(%95) güvenilirlik seviyesine göre BHO değerlerinin %2,7'ye kadar düştüğü belirlenmiştir. Tekerlek izinde oturmaya bağlı Shell yönteminin ise en iyi uyum gösterdiği AASHTO R(%70) güvenilirlik seviyesine göre hesaplanan BHO değerinin %28 seviyesinde kaldığı görülmektedir.

- AASHTO R(%95) güvenilirlik seviyesi ile yüksek uyum gösteren yorulmaya bağlı Shell ve tekerlek izinde oturmaya bağlı TRRL yöntemleri değişen H1/H2 ve E1/E2 oranlarına bağlı olarak analiz edildiğinde H1/H2 oranı değişiminin Shell yöntemi için etkili bir parametre olduğu belirlenmiştir. Özellikle H1/H2 oranı 1,0 ile 1,4 arasında değiştiğinde BHO değerlerinin sıfıra yaklaştığı tespit edilmiştir. TRRL yönteminde ise BHO değerinin sıfıra yaklaştığı tüm kesitler için E1/E2 oranının 7,0'den büyük olması gerekmektedir.

- Yorulmaya bağlı Shell ve tekerlek izinde oturmaya bağlı TRRL yöntemlerinin AASHTO R(%95) güvenilirlik seviyesi ile uyumunu gösteren abaklar incelendiğinde E1/E2'nin 5,6 ve 7 değerleri için Shell, 10 ve 11 değerleri için TRRL yönteminin daha yüksek uyum gösterdikleri açıkça söylenebilir. Uyum abaklarında mutlak BHO değeri %25 iken Shell ve TRRL yöntemlerinin AASHTO R(%95) güvenilirlik seviyesini temsil etme oranı maksimum %50 iken mutlak BHO değeri %30'a çıkartıldığında temsil oranı %64'e ulaşmaktadır.

- Üst yapı tasarımcıları AASHTO yöntemi ile çözdükleri bir kesitin, değişen yük, çevre ve malzeme koşullarına göre duyarlılık analizlerini yapmak istediklerinde hangi transfer denkleminin hangi ilişki düzeyinde (zayıf-orta-kuvvetli) uygun sonuçlar vereceğine hazıralan uyum abakları yardımıyla karar verebilir. Bu sayede tasarımı yapılan yolun özel şartları (yük, çevre, trafik, hız vd.) daha hassas bir çerçevede değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

[1] Tunç A. Yol Malzemeleri ve Uygulamaları. 2nd ed. Nobel Yayınevi; 2007.

[2] Tunç A. Kaplama Mühendisliği ve Uygulamaları. Asil Yayın Dağıtım; 2004.

[3] Huang YH. Pavement Analysis and Design. 2nd ed. Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall; 2004.

[4] Choudhary DK, Joshi YP. A Detailed Study of CBR Method for Flexible Pavement Design. J Eng Res Appl 2014;4:239–53.

[5] Lanjewar PV, Chawale L, Bhoge A, Dharmik T, Ilme P. Design of Flexible pavement by CBR method according Traffic volume study data 2017;4:149–58.

[6] Sağlık A, Güngör AG. Esnek Üstyapılar Projelendirme Rehberi. Ankara: Karayolları Genel Müdürlüğü; 2008.

[7] Mashayekhi M, Amini AA, Behbahani H, Nobakht S. Comparison of mechanistic-empirical and empirical flexible pavement design procedures of AASHTO: A Case study. 5th Int. Conf. Bitum. Mix. Pavements, 2011, p. 319–28.

[8] Alhasan A, Ali A, Offenbacker D, Smadi O, Lewis-Beck C. Incorporating spatial variability of pavement foundation layers stiffness in reliability-based mechanistic-empirical pavement performance prediction. Transp Geotech 2018;17:1–13.

[9] Carvalho RL, Schwartz CW. Comparisons of flexible pavement designs: AASHTO empirical versus NCHRP project 1-37A mechanistic-empirical. Transp Res Rec 2006:167–74.

[10] Mousa MR, Abo-Hashema MA, Gadallah AA, Mousa RM. Evaluation of pavement performance prediction models under different traffic and climatic conditions. 14th Int. Conf. Asph. Pavement Eng. Infrastructure., 2015, p. 1–19.

[11] Ktari R, Saint-Laurent D, Hornych P, Hammoum F, Marsac P, Nguyen ML. Effect of climate on asphalt pavement performance using two mechanistic-empirical methods. Int J Pavement Eng 2020:1–26. https://doi.org/10.1080/10298436.2020.1806276.

[12] Mohd Hasan MR, Hiller JE, You Z. Effects of mean annual temperature and mean annual precipitation on the performance of flexible pavement using ME design. Int J Pavement Eng 2016;17:647–58. https://doi.org/10.1080/10298436.2015.1019504.

[13] Li P, Liu J, Zhao S. Implementation of stress-dependent resilient modulus of asphalt-treated base for flexible pavement design. Int J Pavement Eng 2018;19:439–46. https://doi.org/10.1080/10298436.2017.1402600.

[14] Luo Z, Karki A, Pan E, Abbas AR, Arefin MS, Hu B. Effect of uncertain material property on system reliability in mechanistic-empirical pavement design. Constr Build Mater 2018;172:488–98.

[15] Luo X, Gu F, Zhang Y, Lytton RL, Zollinger D. Mechanistic-empirical models for better consideration of subgrade and unbound layers influence on pavement performance. Transp Geotech 2017;13:52–68.

[16] Muniandy R, Eltaher A, Thamer N. Comparison of flexible pavement performance using Kenlayer and Chev PC software program. Aust J Basic Appl Sci 2013;7:112–9.

[17] Samad E. Sensitivity analysis in flexible pavement performance using mechanistic empirical method (Case study: Cirebon–Losari

road segment, West Java). Civ Eng Forum 2011;20:1163–74.
[18] Tang X, Stoffels SM, Palomino AM. Mechanistic-empirical approach to characterizing permanent deformation of reinforced soft soil subgrade. Geotext Geomembranes 2016;44:429–41.
[19] Behiry AEAEM. Fatigue and rutting lives in flexible pavement. Ain Shams Eng J 2012;3:367–74.
[20] Hadi MNS, Bodhinayake BC. Non-linear finite element analysis of flexible pavements. Adv Eng Softw 2003;34:657–62.
[21] Ahmed A, Erlingsson S. Viscoelastic response modelling of a pavement under moving load. Transp Res Procedia 2016;14:748–57.
[22] Sarkar A. Numerical comparison of flexible pavement dynamic response under different axles. Int J Pavement Eng 2016;17:377–87.
[23] Chegenizadeh A, Keramatikerman M, Nikraz H. Flexible pavement modelling using Kenlayer. Electron J Geotech Eng 2016;21:2467–79.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.732302 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Şebeke Sisteminde Trihalometan Oluşum Potansiyelinin "Arcgis" İle Değerlendirilmesi

Süheyla (YILDIZ) TONGUR[1*]

[1*] Konya Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 42250, Konya, Türkiye
Süheyla TONGUR ORCID No: 0000-0002-8647-6338

**Sorumlu yazar: stongur@ktun.edu.tr*

(Alınış: 05.05.2020, Kabul: 26.11.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Trihalometanlar, İçme suyu şebekesi, Gaz kromatografisi, Arcgis

Öz: Bu çalışmada, Konya içme suyunun dağıtıldığı şebeke hattından bir yıl boyunca numuneler alınmıştır. Numune noktaları seçilirken, tüm şehir şebekesini temsil edecek şekilde otuz dokuz nokta seçilmiştir. Numune noktalarına başlangıçtan itibaren birden otuz dokuza kadar numara verilmiştir. Haritalar üzerinde de bu şekilde isimlendirme yapılmıştır. Şebekeden toplanan numunelerin pH, bromür, bulanıklık, toplam organik karbon ve trihalometanların (THM) analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu noktalara ait koordinatlar haritalar üzerinde gösterilmiştir. Mekânsal veriler, analiz sonuçları ve koordinat bilgileri "ARCGIS" programına aktarılmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarının aritmetik ortalaması kullanılarak, verilerin standartlara yakınlığı veya sınır değerleri aşması durumuna göre renklendirme yapılmıştır. Parametreler TS-266 ve WHO standartlarına göre değerlendirilmiş ve insan sağlığı üzerinde oluşabilecek olası yan etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Şebekenin farklı noktalarından alınan numunelerde THM bileşikleri bazı noktalarda sınır değerleri aşan seviyelerde gözlenmiştir. Toplam THM olarak incelendiğinde şebeke noktalarından Hatıp Depoda (numune no:9) 1 ppm seviyesinin üstüne çıkarak sınır değeri aşmıştır. Özellikle kloroform bileşiği, bazı aylarda Hatıp Depo (numune no:9) ve Beybes'de (numune no:11) sınır değerleri aşmıştır. Toplam THM düzeyleri en fazla Kloroforma bağlı artış gösterirken diğer üç THM bileşiğinin sınır değerlerin altında olduğu saptanmıştır.

Evaluation Of Trihalomethane Formation Potential In The Network System with "Arcgis"

Keywords
Trihalomethanes, Drinking water network, Gas chromatography, Arcgis

Abstract: In this study, samples were taken for one year from the network line where Konya's drinking water is distributed. While selecting the sample points, thirty-nine points were chosen to represent the entire network. Sample points are numbered from one to thirty-nine from the beginning. Naming is also made on the maps in this way. The samples collected from the network were analyzed for pH, bromide, turbidity, total organic carbon and trihalomethanes (THM). The coordinates of these points are shown on the maps. Spatial data, analysis results and coordinate information were transferred to the "ARCGIS" program. By using the arithmetic mean of the analysis results, coloring was done according to whether the data were close to the standards or exceeded the limit values. Parameters were evaluated according to TS-266 and WHO standards and possible side effects on human health were tried to be revealed. In samples taken from different points of the network, THM compounds were observed at levels exceeding the limit values at some points. When analyzed as total THM, it exceeded the limit value by exceeding 1 ppm level in Hatıp Depot (sample no: 9). Especially the chloroform compound exceeded the limit values in Hatıp Depot (sample no: 9) and Beybes (sample no: 11) in some months. While total THM levels showed the highest increase due to Chloroform, the other three THM compounds were found to be below the limit values.

1. GİRİŞ

Bireyler için temiz içme suyuna ulaşım, en temel konulardan biridir ve insan haklarının en önemli olgusudur. İçme suları uygun arıtım metotlarından geçtikten sonra belirlenen standartlara uygun olarak son tüketiciye kadar ulaşmaktadır. Ancak bu süreç içerisinde isale hattı ve şebekede oluşabilecek çeşitli aksaklıklar, içme suyunun kalitesini büyük ölçüde tehlikeye sokabilmektedir. Ülkemizde içme sularıyla ilgili sınır değerler Türk Standartları Enstitüsü'nce TS266 standartları esas alınarak belirlenmektedir. Hızlı bir şekilde gerçekleşen nüfus artışı ve sanayileşme sonucu kirletici cins ve miktarları her geçen gün değişim göstermekte ve artmaktadır. İnsan sağlığının korunabilmesi için içme ve kullanma sularının belli bir kaliteyi sağlaması gerekmektedir. Kalitenin ne olması gerektiği ile ilgili dünyada tek bir standart bulunmamakla birlikte, suyun kullanımına ve toplumun refah seviyesine bağlı olarak ülkeden ülkeye farklılık gösterebilmektedir.

Suyun fiziksel özelliğini gösteren parametreler bulanıklılık, pH, elektriksel iletkenlik, askıda katı madde dir. Yönetmeliklere göre içme suyunun pH'sının nötr veya hafif alkali olması istenmektedir. Kaynak sularında ise pH değerinin 7,0-8,5 sınırları arasında olması gerektiği öngörülmektedir. Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü de (WHO) suların pH değerinin 6,5-8,5 arasında olması gerektiğini bildirmiştir [1]. İçme ve kullanma sularının berrak olması, su hijyeni açısından önemlidir. Bulanıklık, suyun içerisindeki kolloidal haldeki organik ve inorganik maddelerden ileri gelmektedir. Organik maddeler, patojen mikroorganizmaları da içerebileceğinden bulanık sulara daima şüphe ile yaklaşılmaktadır. Herhangi bir arıtım işleminden geçmiş olsa da, bulanık suların içilmemesi gerekmektedir. Bulanık suların borularda tortu bırakma risklerinden dolayı endüstride kullanılmaları da sakıncalıdır [2]. Toplam Karbon(TK) suyun fizikokimyasal açıdan değerlendirilmesi için önemli parametrelerden biridir. Bir bileşikteki inorganik ve organik karbonun tamamını ifade eder. Toplam Organik Karbon (TOK), organik maddelerle kovalent bağ yapmış tüm karbon atomlarını ifade ederken, Toplam İnorganik Karbon (TİK), karbonat ve bikarbonatın tüm çözünmüş yapılarını ifade eder. Partikül organik karbon, makroskobik boyuttan mikroskobik boyutta kadar farklı boyutlarda olabilmektedir. EPA metotlarına göre sınırı 2 mg/L'dir. Bu değer içme suyu yönetmeliği A1 sınıfı sınır değerlerine göre 5mg/L üzerinde olmamalıdır. Araştırılan diğer önemli parametrelerden biri de kullanım sularında mevcut olan bromür iyonudur. Dezenfeksiyon özelliğine bağlı olarak bromat iyonuna dönüşüm göstermektedir. Kullanılacak suyun 1 µg/L seviyesinin üzerinde bromat iyonu içermesinin kanserojen etki oluşturma potansiyeli olduğu Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirtilmektedir. Bromat suda doğal olarak bulunabildiği gibi benzin üretiminde kullanıldığı için yakıt depo tanklarından sızıntıların da göstergesi olabilmektedir. Ayrıca su kaynağında Br iyonu varlığında dezenfeksiyon yan ürünü bileşiklerin hem konsantrasyonları artmakta hem de bromlu türlerin sayısı değişmektedir [3]. Yüksek konsantrasyonda brom, psikolojik semptom, nörolojik etkiler ve kas dokusunda problem meydana getirmektedir [4]. Metanın (CH_4) hidrojen atomları yerine herhangi bir halojenin bağlanmasıyla THM'lar oluşmaktadırlar. THM'ların oluşumunda, dezenfektan cinsi ve miktarı, suyun asitlik durumu, sıcaklığı, mineral tuzların varlığı, mevsim ve uygulanan dezenfeksiyonun süresi etkilidir. THM bileşiklerinden biri olan kloroform, organik bileşiklerin klorla reaksiyon vermesi neticesinde oluşan uçucu özellikte bir bileşiktir. Sanayide pestisitler, yapışkanlar, kauçuklar, alkoloidler ve reçineler için genel bir solvent olarak kullanılır. THM'lerden bir diğeri olan dibromoklorometan ise kloroformdan daha az sıklıkta ve konsantrasyonda oluşmaktadır. Bu bileşik sanayide, aerosol itici, soğutucu, yangın söndürücü maddelerin üretiminde kimyasal ara ürün ve pestisit olarak kullanılmaktadır. Dezenfeksiyon yan ürünü olarak oluşan bromodiklorometanın, yapılan deneylerde akut dozaja maruz kalan fareler üzerinde karaciğerin içine yağ sızması, soluk böbrek oluşumu ve adrenalin salgılanması gibi etkilere yol açtığı bilinmektedir. Dezenfeksiyon yan ürünü olarak bromoform oluşumu THM bileşikleri arasında en az karşılaşılan şeklidir. Sanayide, bromoform solvent olarak petrol yağında, sıvı ölçer olarak mumlarda ve gres yağında kullanılabilmektedir. Sonuç olarak yapılan çalışmalar neticesinde klorlu yan ürünlerin insanlarda kanser, böbrek yetmezliği, bilinç kaybı ve kardiyolojik hastalıklara neden olduğu ortaya konulmuştur. Ve bu kapsamda THM'ların insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı birçok ülkede içme suyu kalite standartları gözden geçirilerek oluşan yan ürünler için yeni kısıtlamalar getirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Örgütü (USEPA) trihalometanların maksimum kirletici konsantrasyonunu 80 µg/L olarak belirtirken, aynı klorlu yan ürünler için TSE-266 içme suyu kalite standartlarında limit değer 100 µg/L olarak belirtilmektedir [5],[6]. Çalışma kapsamında incelenen Konya içme suyu şebekesi arıtma tesisi, kuyu suları ve memba kaynakları olmak üzere 3 farklı su kaynağından beslenmektedir. Bazı bölgelere su sadece arıtma tesisi çıkış sularından dağıtıldığı gibi bazı bölgelere hem arıtma tesisi hem de kuyu suları bir depoda birleştirilerek dağıtılmaktadır. Bosna- Hersek mahallesi gibi şehrin en uç noktasındaki bölgelere ise kot farkından dolayı cazibe ile su dağıtılamamakta bu nedenle de sadece kuyu suları dağıtılmaktadır. Ayrıca şehir merkezinde ve merkez ilçelerde neredeyse her mahallede tatlısu çeşmeleri bulunmaktadır. Bu bölgelerden gelen memba suları muhtelif depolarda birleştirilerek tatlı su çeşmelerine dağıtılmaktadır. Çalışma kapsamında harita üzerinde tatlı su çeşmeleri, kuyu suları, kuyu+arıtma tesisi çıkış suları ile beslenen bölgeler tespit edilmiş ve bölgelerden isale mesafesi dikkate alınarak baş, orta ve uç örnek noktaları seçilmiştir. Çalışmanın gerçekleştirilmesiyle şebekenin farklı noktalarından alınan numunelerin izlenmesi sonucunda, THM bileşikleri belirlenmeye çalışılmıştır Trihalometanların sınır değerleri aşıp aşmadığı kontrol edilerek, insan sağlığı üzerinde oluşabilecek olası yan etkiler ortaya konulmaya çalışılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Numune Toplama ve Arazi Çalışmaları

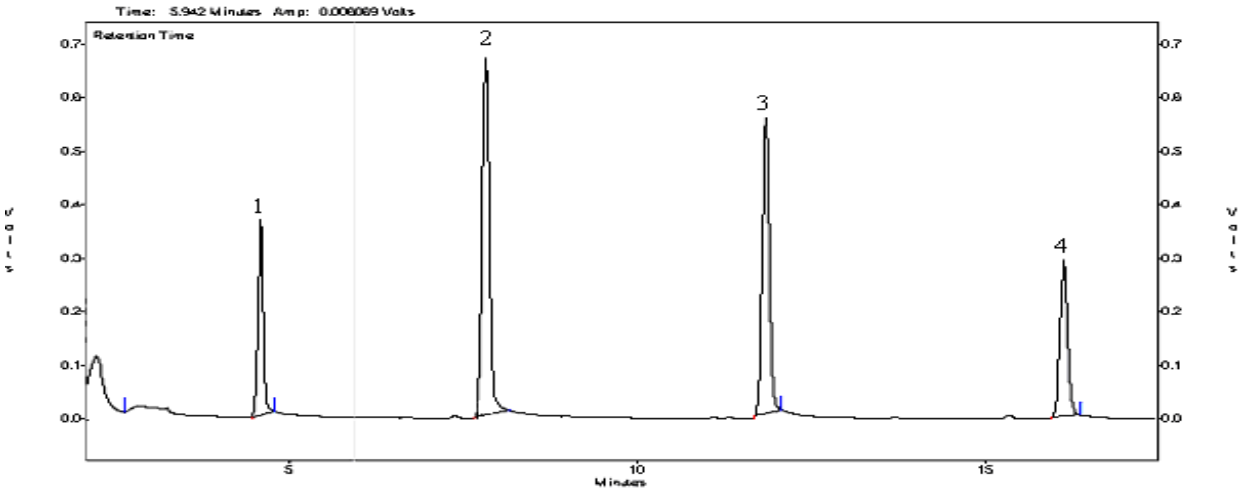
Fiziksel ve kimyasal analizler için örnekler renkli 1 L'lik numune kaplarına içinde hava boşluğu kalmayacak şekilde taşırılarak doldurulmuştur. Numuneler analize kadar + 4ºC'de depolanmış, en geç 24 saat içerisinde analizler yapılmıştır[7],[8].

2.2. THMs Analizi

Trihalometanların analizi EPA metot 551'e göre gerçekleştirilmiştir[9]. Analizlerde ECD dedektör ve DB-624 kolon bulunan Shimadzu GC-17 Ver.3 Gaz Kromatografi cihazı kullanılmıştır. Trihalometanların analizi için, 40 mL'lik teflon kapaklı viallerin içine 35 mL numune konulmuş ardından 4 gr NaCI ilave edilmiştir. NaCI tam olarak çözününceye kadar vialler çalkalanmıştır. Zenginleştirme deneylerinde viale 1 ng/µL standart, 2 mL metil-tert-bütil eter (MTBE) eklenmiştir. Karışımın sağlanması için çalkalama işlemi tekrarlanmış, 1 dakika fazların ayrılması için beklenerek aynı işlem 4 kez tekrarlanmış ve enjeksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. THM analizlerinde GC/ECD (Shimadzu GC-17A Version 3) cihazı kullanılmıştır [10],[11]. Deneylerde kullanılan kimyasalların tamamı analitik saflıkta olup Merck firmasından temin edilmiştir.[12],[13].

2.3. Metot Değerlendirmesi

Metot optimizasyonunun gerçekleştirilmesi aşamasında farklı akış ve sıcaklık programları çalışılmış en uygun olanı seçilmiştir. THM analizlerinde elde edilen kromatogram **Şekil 1.**'de verilmiştir. Uygun olan ekstraksiyon yöntemi belirlendikten sonra fortifikasyon işlemi ve uygun dedeksiyon limit belirleme çalışmaları yapılmıştır. **Tablo 1**.'de verilen kalibrasyon değerleri elde edilmiştir. Kalibrasyon için 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 ng/µL'lik karışık standartlar kullanılmıştır. Kalibrasyon işleminde çoklu kalibrasyon tekniğine dayalı Class-VP yazılımı kullanılmıştır.



Şekil 1. 1 ng/µL'lik THM karışık standardın GC/ECD kromatogramı :Kolon cinsi:DB-624 (30 m x 0.25mm ID x 1.8 µm, film kalınlığı). Taşıyıcı gaz: Azot 1.5 mL/dakika, make-up gaz akışı: 40 mL/dakika. Enjektör sıcaklığı: 250 ºC, Dedektör sıcaklığı: 250 ºC, Sıcaklık programı: 40 ºC (4 dakika) – 4 ºC/dakika – 130 ºC – 15 ºC/dakika - 200 ºC (2 dakika) – 25 ºC/dakika – 220 ºC. Piklerin tanımlaması: 1, Kloroform; 2, Bromodiklorometan; 3, Dibromoklorometan; 4, Bromoform.

Tablo 1. Kalibrasyon verileri ve hedef bileşiklerin dedeksiyon limitleri

Bileşikler	RT	R	DL (ppm)	Geri Kazanım (n=4)		
				Dozl.Konsantr. (ppm)	Ort.%	RSD
Kloroform	4,50	0,99	0,001	1	92	4
Bromodiklorometan	7,75	0,99	0,001	1	84	11
Dibromoklorometan	11,80	0,99	0,001	1	84	11
Bromoform	16,11	0,99	0,001	1	84	10

RT: Alıkonma süresi, r: Korelasyon katsayısı, DL: Dedeksiyon limiti, RSD: Relatif standart sapma.

Bileşikler için gözlenen kalibrasyon eğrilerinde **Tablo 1.**'deki gibi yüksek korelasyon elde edilmesinden dolayı numune analizlerinde de bu standartlar kullanılmıştır.

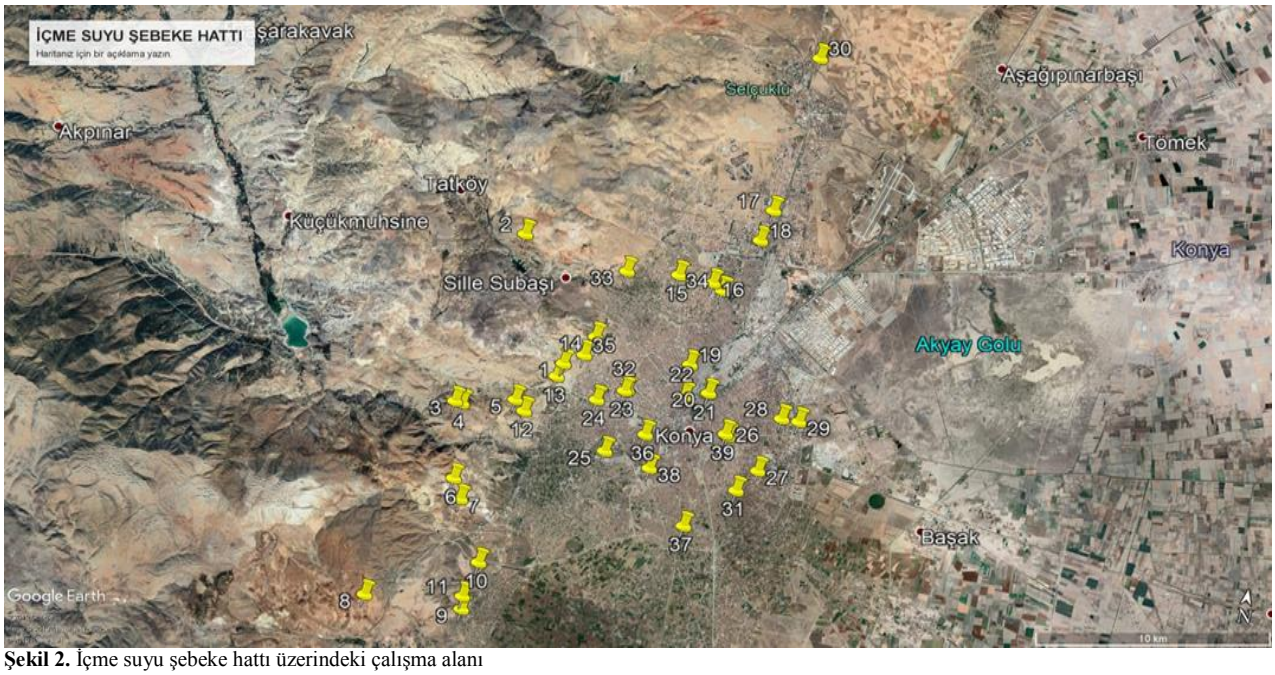
Cihaz kullanılmadan önce günlük olarak kalibrasyon yapılmış ve daha sonra enjeksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Numune noktalarında hedef bileşikler için elde edilen en düşük ve en yüksek değerler **Tablo 2.**'de verilmiştir.

Tablo 2. Hedef bileşikler için numune noktalarında gözlenen en düşük ve en yüksek değerler

Hedef Bileşikler	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Bromat (mg/L)	0,083 Mukpil (numune no:4)	2,259 Aydınlık Evler Depo (numune no:16)
Bulanıklık (NTU)	0,36 Şirin hanım Çeşmesi (numune no:22)	19,55 Selim Sultan Kuyusu (numune no:31)
Toplam Organik Karbon (mg C/L)	0,59 Beypes Mahallesi Depo (numune no:10)	5,97 Selim Sultan Kuyusu (numune no:31)
Toplam Trihalometan (ppm)	0 Beypınarı (numune no:3)	1,48 Hatıp Depo (numune no:9)

2.4. Haritaların Oluşturulması

İçme suyu şebeke hattı üzerinde bulunan otuz dokuz nokta için analizler gerçekleştirildikten sonra numune noktalarına ait ED50-İtrf formatında koordinatlar temin edilmiştir. Koordinatlar "GOOGLE EARTH" programı kullanılarak harita haline getirilmiştir. Oluşturulan harita **Şekil 2**.' de verilmiştir.

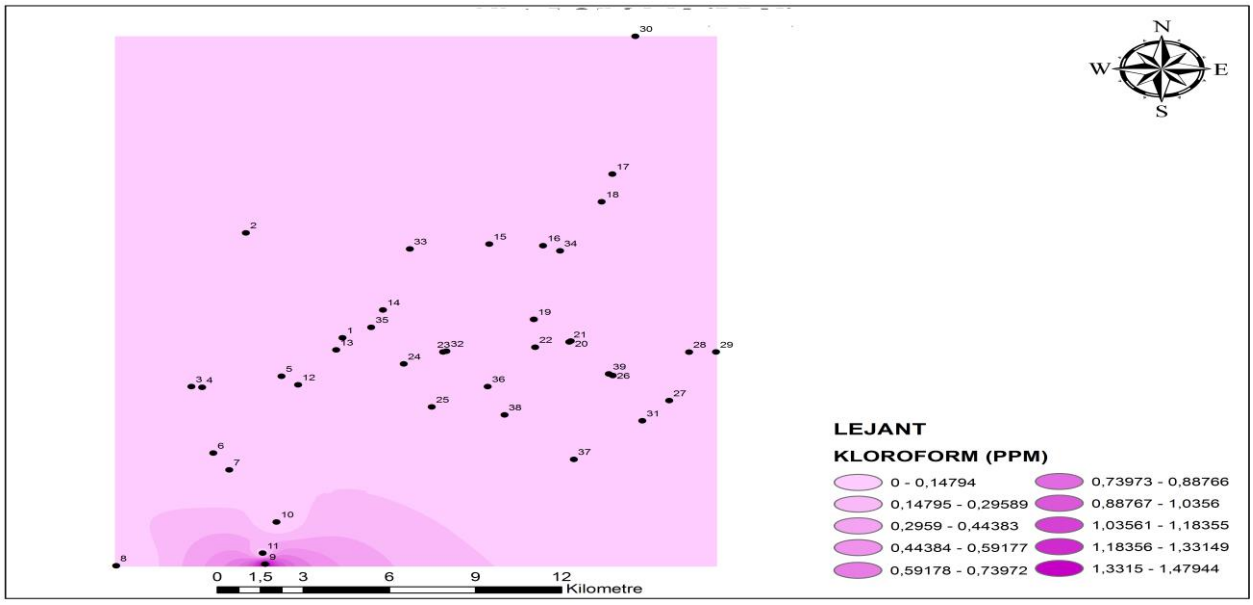


Şekil 2. İçme suyu şebeke hattı üzerindeki çalışma alanı

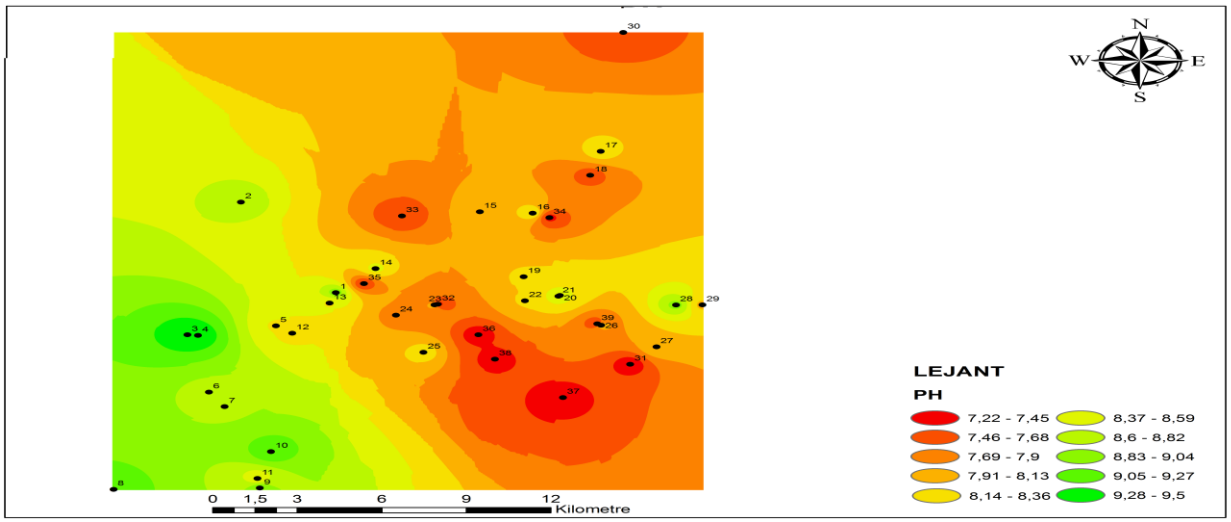
1.Anadere	14.Hocacihan Tatlısu	27.Mengene mah. Sarı camii şadırvan
2.Baraj gölü	15.Aydınlık gömme depo	28.Mezbaha mah.Aslanlı kışla cad.
3.Beypınarı	16.Aydınlık evler depo	29.Yenicezaeviyanı karatay park bahçe tesisleri
4.Mukpil	17.Yazır mh. (Yeni otogar)	30.Kayalar camii şadırvanı
5.Dere caddesi (şebeke)	18.Eyüp sultan cami	31.Selim Sultan Kuyusu
6.Dutlukırı depo	19.Nişantaşı mah. Perşembe pazarı	32.Melikşah Kuyusu
7.Dutlukırı kaynak	20.Şerafettin cami önü tatlı su	33.Esentepe II
8.Çayırbağı kaynak	21.Şerafettin cami şadırvan	34.Aydınlık III
9.Hatip depo (tatlı su)	22.Şirin hanım çeşmesi	35.Yunus Emre
10.Beypes depo	23.Melikşah camii şebeke	36.Çakıl Harmanlar
11.Beypes tatlısu	24.SSK. Hastanesi önü M.033	37.Yaylapınarı II
12.Yeni değirmen sk (şebeke)	25.Lale bahçe polis karakolu önü	38.P3 Pompa İstasyonu
13.Karşıyaka cami şadırvanı	26.Mengene Mah. Büyükköprü cad.	39.Mengene I

3. BULGULAR

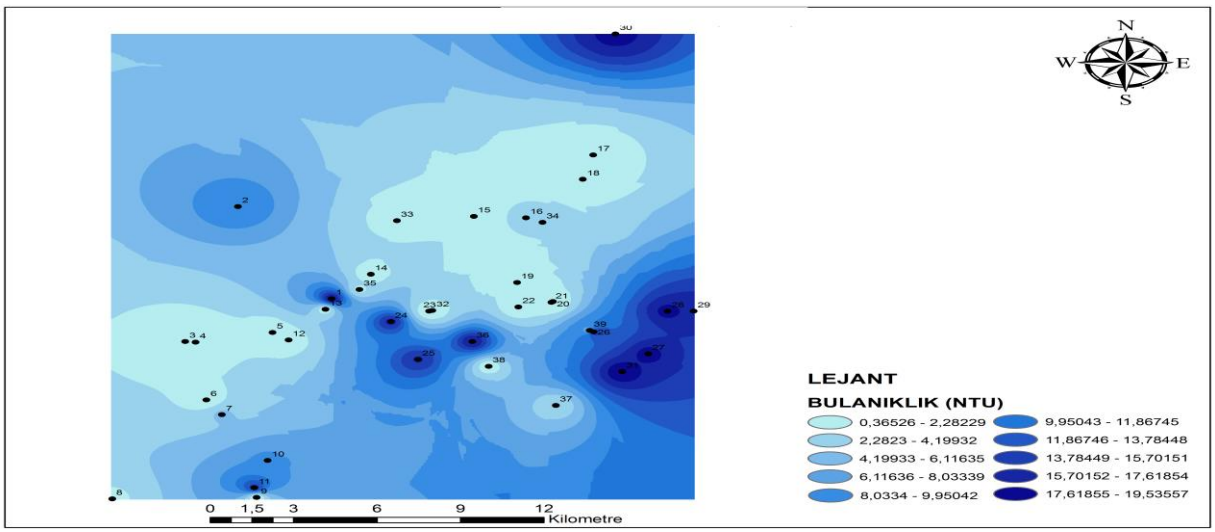
Mekânsal veriler, analiz sonuçları ve koordinat bilgileri "ARCGIS" programına aktarılmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarının aritmetik ortalaması kullanılarak, verilerin standartlara yakınlığı veya sınır değerleri aşması durumuna göre renklendirme yapılmıştır. Elde edilen renklendirilmiş haritalar **Şekil 3**., **Şekil 4**., **Şekil 5**., **Şekil 6**., **Şekil 7**. olarak verilmiştir.



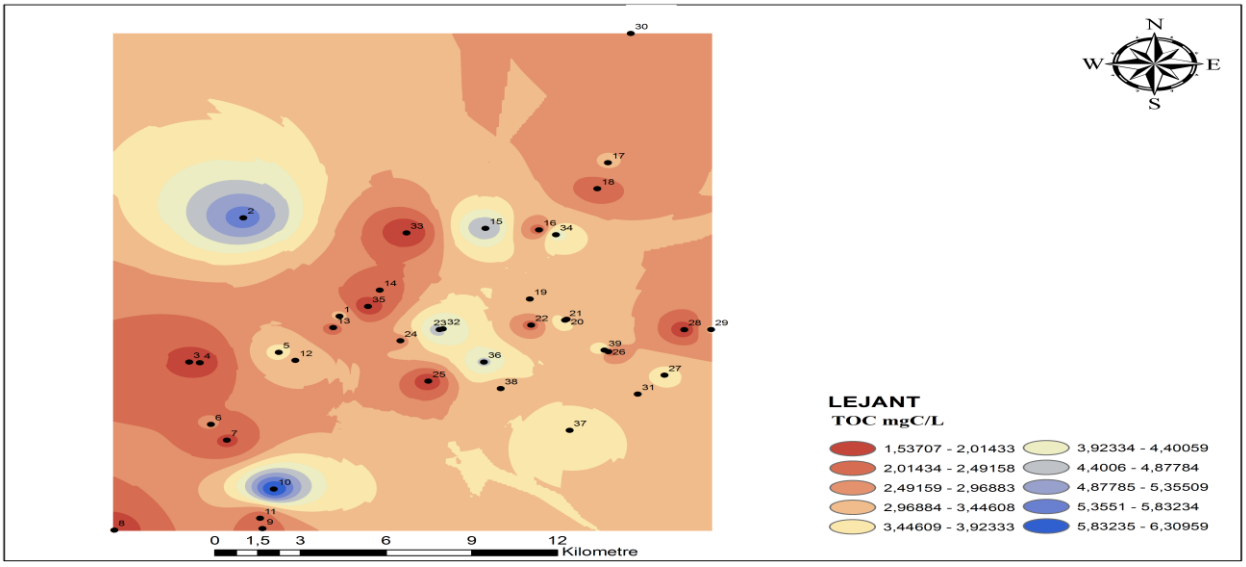
Şekil 3. Çalışma alanındaki otuz dokuz numune noktasına ait belirlenen Kloroform (ppm) değerleri



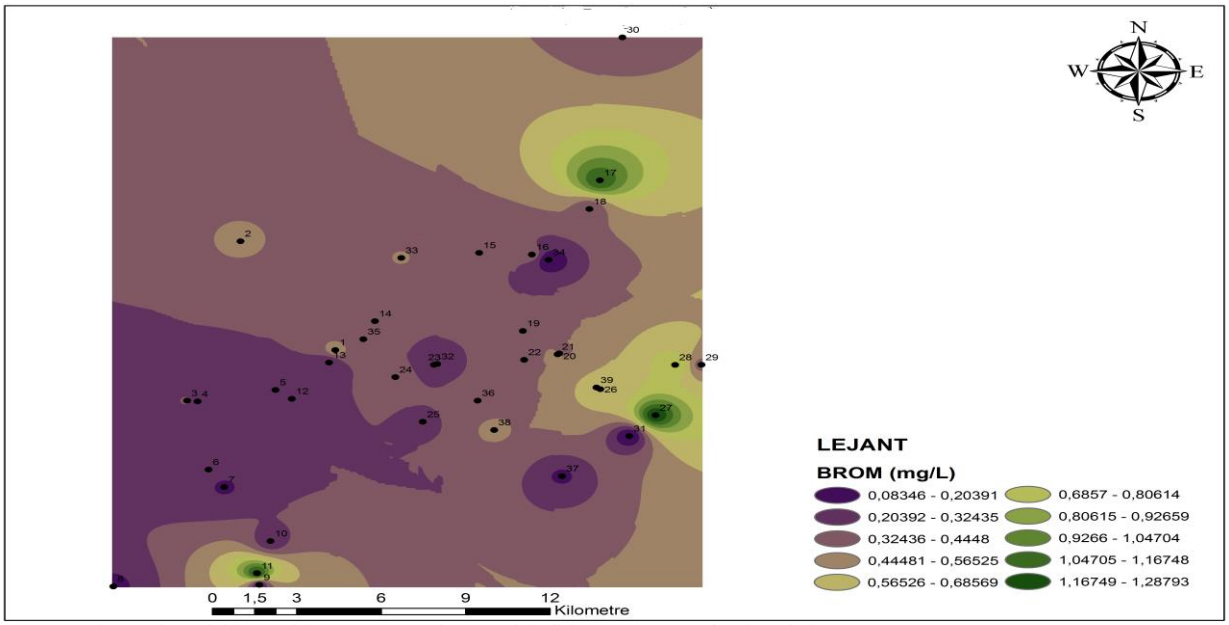
Şekil 4. Çalışma alanındaki otuz dokuz numune noktasına ait belirlenen pH değerleri



Şekil 5. Çalışma alanındaki otuz dokuz numune noktasına ait belirlenen Bulanıklık (NTU) değerler**i**



Şekil 6. Çalışma alanındaki otuz dokuz numune noktasına ait belirlenen Toplam Organik Karbon (mgC/L) değerleri



Şekil 7. Çalışma alanındaki otuz dokuz numune noktasına ait belirlenen Brom (mg/L) değerleri

Bu çalışmada temin edilen analiz sonuçlarının TS-266 ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü) standartları ile kıyaslanmış ve bazı değerlerin standarda uymadığı saptanmıştır. Standartlara göre düşük veya yüksek olan sonuçlar haritalarla ifade edilmeye çalışılmıştır. Böylece bölgesel olarak hangi noktalarda sınır değerlerin aşıldığı veya sınıra yaklaştığı kolaylıkla anlaşılacak şekilde ifade edilmiştir. Hedef bileşikler ve fizikokimyasal parametreler için elde edilen en düşük, en yüksek değerler Tablo 2.'de verilmiştir. Şebeke suyunun pH değerleri 7.16–9.5 arasında değişmiştir. En düşük değer Melikşah Kuyusunda (numune no:32), en yüksek değer ise Beypınar (numune no:3) noktasında ölçülmüştür. Ortalama pH ise 8.19'dur. Bu değer şebekenin bazik karakterde olduğunu göstermektedir. Şebeke güzergâhımızda bulunan noktaların tümündeki değerler standart aralığındadır. Şebeke suyunun bulanıklık değerleri 0.36–19.55 arasında değişmiştir. En düşük değer Şirin Hanım Çeşmesi (numune no:22), en yüksek değer ise Selim Sultan kuyusu(numune no:31) noktasında ölçülmüştür. Ortalama bulanıklık ise 6.72'dir. Şebekenin bulanıklık değeri tavsiye edilen standartların üzerinde fakat izin verilen değerlerin altında tespit edilmiştir. Şebekenin farklı noktalarından alınan numunelerin izlenmesi sonucunda hedeflenen bileşiklerden THM bileşikleri bazı noktalarda sınır değerleri aşan seviyelerde gözlenmiştir. Toplam THM olarak incelendiğinde Hatıp Depoda (numune no:9) 1 ppm seviyesinin üstüne çıkarak sınır değeri aşmıştır. THM bileşiklerinden özellikle kloroform bileşiği bazı aylarda şebekeden alınan numunelere ait noktalarda (Hatıp Depo (numune no:9), Beybes (numune no:11)) sınır değerleri aşmıştır. Bu noktalar Toplam trihalometan (TTHM) olarak değerlendirildiğinde kloroformdan kaynaklı olarak sınır değerler aşılmıştır. Dezenfeksiyon yan ürünleri arasında yer alan diğer üç bileşiğin ise sınır değerlerin altında çıktığı görülmüştür. Sonuçlar kısmında verilen kloroform bileşiğine ait gözlem haritası toplam trihalometan düzeylerini de yansıtmıştır. Kloroformdaki bu artışın klor dozlanmasından kaynaklı olabileceği ve şebekenin boru sisteminin eski olmasından kaynaklı

buradaki organik kirlilikle reaksiyona girerek THM oluşumuna sebebiyet vermiş olabileceği düşünülmektedir. Bu sonuçlar Toplam Organik Karbon gözlem haritası incelendiğinde de kolaylıkla görülmektedir. Kloroform bileşiğinin sınırlara yaklaştığı veya aştığı noktalarda(numune no:9) ,TOK değerleride yüksek olarak gözlenmiştir. Brom değerleri en yüksek olarak Beybes Tatlısu (numune no:11), Yazır mahallesi (numune no:17), Mengene mahallesi (numune no:27) noktalarında gözlenirken, TOK değerleri en yüksek seviyelere Beybes depo (numune no:10), Baraj Gölü (numune no:2), Aydınlık Gömme Depo (numune no:15) noktalarında ulaşmıştır. Bu sonuçlar içme suyu şebekesinin periyodik olarak izlenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Elde edilen sonuçlar literatürde yer alan benzer çalışmalarla kıyaslandığında çalışmamıza benzer sonuçların saptandığı gözlenmiştir. Hindista'nın doğu kesiminde beş farklı arıtma tesisinden numune alınarak yapılan THMs analizinde oranlar 231 µg/L -484 µg/L aralığında değişim göstermiştir. Ayrıca toplam trihalometan ölçümlerinin büyük bir kısmını kloroform bileşiği oluşturmuştur [14]. Çalışmamıza benzer olarak literatürde yer alan başka bir çalışmada da Kocaeli bölgesinde iki farklı bölgeden alınan 10 adet numune üzerinde THM analizleri gerçekleştirilmiştir. TTHM miktarlarının 100 µg/L olarak belirtilen sınır değerlerin altında olduğu ancak en yüksek konsantrasyona sahip THM bileşiğinin kloroform olarak ölçüldüğü belirtilmiştir [15]. Farklı zamanlarda THM oluşumu üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda da organik madde miktarı ve trihalometan oluşumu arasında ilişki olduğu klorlu sularda THM miktarlarının mevsimlere ve su kaynaklarının coğrafi konumuna göre değişim gösterebileceği belirlenmiştir [16].

4. SONUÇ

Sonuç olarak içme suyu şebekeye verilmeden önce oldukça kanserojen olarak nitelendirilen bu bileşiklerin kontrolünün yapılması ve arıtma tesisinde önlem alınması hususu oldukça önemlidir. Özellikle belli periyotlarla bu bileşiklerin izlenmesi halk sağlığının korunması açısından önem arz etmektedir. Konya yer altı suları yüksek kaliteli doğal sulardır ve bu suların içme suyu kaynağı olarak kullanımının dışında kullanılması yer altı sularının korunması kapsamında önlenmelidir. Sulama suyu amaçlı açılan pompaj kuyularının denetim altında tutulması yenilenebilir olmayan bu kaynakların korunması açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

[1] WHO (World Health Organization). Guidelines for drinking water quality. 2th ed. Geneva : 1984.

[2] Aydın M.E, Ateş N. Konya içme suyunda trihalometanlar. Selçuk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Der. 2001;16(1): 1-6.

[3] Cowman GA, Singer PC. Effect of bromide ion on haloacetic acid speciation resulting from chlorination and chloramination of aquatic humic substances. Environ Sci Technol. 1996;30(1):16 - 24.

[4] McGeehin MA, Reif JS, Becher JC, Mangione EJ. Case-control study of bladder cancer and water disinfection methods in Colorado. Am.J.Epidemiol. 1993;138(7):492 –501.

[5] USEPA. National primary drinking water regulations: disinfectants and disinfection by-products. Final Rule Federal Register Washington DC: 1998;63(241):69390-69476.

[6] TS–266. İçmesuyu kalite Standartları. 2019(1)

[7] USEPA. Metot 551.1. Determination of chlorination disinfection byproducts, chlorinated solvents and halogenated pesticides/herbicides in drinking water by liquid-liquid extraction and gas chromatography: electron-capture detection - revision .Ohio:1995;(1):45268

[8] Tongur S, Aydın ME. Adsorption kinetics of chloroform from aqueous solutions onto activated lignite. Clean Soil Air Water. 2013; 41(1): 32-36.

[9] Golfinopoulos S. The occurrence of trihalomethanes in the drinking water in greece. Chemosphere. 2000;41(1):1761-1767.

[10] Nikolaou AD, Lekkas TD, Golfinopoulos SK, Kostopulou MN. Application of different analytical methods for determination of volatile chlorination by-products in drinking water. Talanta. 2002;1(56):717-726.

[11] APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and waste water. 19th edition Washington DC:1995

[12] Gallard H, Von Gunten U. Chlorination of natural organic matter: kinetics of chlorination and of THM formation. Water Research. 2002;36(1):65-74.

[13] Zhang XX, Chen ZL, Shen JM. Formation and interdependence of disinfection by-products during chlorination of natural organic matter in a conventional drinking water treatment plant. Chemosphere. 2020;242(1)1-11.

[14] Kumari M, Gupta SK**.** Modeling of trihalomethanes (THMs) in drinking water supplies: a case study of eastern part of India. Environ Sci Pollut Res. 2015; 15(1)45-53.

[15] Sunar İ, Kopan M, Akgün S. Gaz kromatografi-kütle spektrometresi ile gazdan arındırma ve tutma yöntemiyle Kocaeli bölgesi içme sularında trihalometan analizi. Health Sci Med 2020; 3(3): 269-277.

[16] Toroz I, Uyak V. Seasonal variations of trihalomethanes (THMs) in water distribution networks of Istanbul City. Desalination 2005; 176: 127-41.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.809231 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Rutinin Ratlarda Kolistin Kaynaklı Testis Hasarında Oksidatif DNA Hasarı, NF-κB Aracılı Enflamasyon ve Apoptoz Üzerindeki Koruyucu Etkileri

Selim ÇOMAKLI[1*], Mustafa İLERİTÜRK[2], Esra MANAVOĞLU KİRMAN[1]

[1] Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Bölümü, Erzurum, Türkiye
[2] Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Erzurum, Türkiye
Selim ÇOMAKLI ORCID No: 0000-0002-8744-7686
Mustafa İLERİTÜRK ORCID No: 0000-0002-4581-4492
Esra MANAVOĞLU KİRMAN ORCID No: 0000-0003-3877-7686

**Sorumlu yazar: selim.comakli@atauni.edu.tr*

(Alınış: 12.10.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Apoptoz, Enflamasyon, Kolistin, Oksidatif stres, 8-OHdG, Testis

Öz: Kolistin, gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda tedavi amacıyla son seçenek olarak kullanılmaktadır. Literatürde kolistinin neden olduğu testis toksisitesi bildirilmiş olmasına rağmen mekanizmasına ilişkin çok az veri bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmanın amacı kolistin uygulamasının neden olduğu testis toksisitesinde rutinin (Rut) koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır. Bu amaç için 5 adet deneysel grup oluşturuldu; Kontrol, Rut (100 mg kg gün^{-1}), Kolistin (15 mg kg gün^{-1}), Kolistin + Rut (50 mg kg gün^{-1}), Kolistin + Rut (100 mg kg gün^{-1}). Uygulama sonrasında ratların testis dokularında malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) seviyeleri tespit edildi. Aynı zamanda testis dokularının histopatolojik incelemesi yapıldı ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), nükleer faktörü kappa B (NF-κB) ve kaspaz 3 aktiviteleri immunohistokimya ile belirlendi. Sonuçlara bakıldığında kolistin uygulamasının rat testis dokularında MDA düzeyini arttırdığı, GSH düzeyini ise azalttığı tespit edilmiştir. Farklı dozlarda Rut uygulaması sonrası ise MDA düzeyinde azalma, GSH düzeyinde ise artış gözlendi. Kolistinin testis dokularında neden olduğu hasar sonucu 8-OHdG, NF-κB ve kaspaz 3 immunpozitifliklerinin arttığı, özellikle Rut (100 mg kg gün^{-1}) uygulamasından sonra bu proteinlerin aktivite düzeylerinin azaldığı belirlendi. Sonuç olarak kolistinin rat testislerinde oksidatif hasar, enflamasyon, DNA hasarı ve apoptoza neden olduğu, Rut uygulamasının kolistin kaynaklı testis hasarında koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

Protective Effects of Rutin on Oxidative DNA Damage, NF-κB-Mediated Inflammation, and Apoptosis in Colistin-Induced Testicular Damage of Rats

Keywords
Apoptosis, Colistin, Inflammation, Oxidative stress, 8-OHdG, Testicle

Abstract: Colistin is used as the last-line therapy for treatment of infections caused by gram-negative bacteria. Although testicular toxicity caused by colistin has been reported in the literature, there are very few data regarding its mechanism. The aim of this study was to investigate the protective effects of rutin (Rut) in testicular toxicity caused by colistin treatment. For this purpose, five experimental groups were composed; Control, Rut (100 mg kg day^{-1}), Colistin(15 mg kg day^{-1}), Colistin plus Rut (50 mg kg day^{-1}), Colistin + Rut (100 mg kg day^{-1}). After the treatment, malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels were determined in testicular tissues of rats. Furthermore, histopathological examination of testicular tissues, 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine (8-OHdG), nuclear factor-kappa B (NF-κB) and caspase 3 activities were determined by immunohistochemistry. It was found that colistin treatment increased the MDA level in rat testicular tissues and decreased the GSH level. However, after Rut treatment, a decrease in MDA level and an increase in GSH level were observed. As a result of the toxicity caused by colistin in testicular tissues, it was determined that 8-OHdG, NF-κB and caspase 3 activities increased, and the activity levels of these protein levels decreased after Rut 100 administration. As a conclusion, it was detected that while colistin caused oxidative damage, inflammation, DNA damage, and apoptosis in rat testicular tissues, Rut treatment had a protective effect in colistin-induced testicular damage.

1. GİRİŞ

Katyonik bir polipeptit antibiyotiği olan kolistin (polimiksin E), Bacillus polymyxa alt türü olan Bacillus colistinus Koyama tarafından sentezlenir ve Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii ve Klebsiella pneumoniae gibi çoklu ilaca dirençli gram-negatif bakteriler üzerinde bakterisidal ve anti-endotoksin etkiler gösterir [1-3]. Bu özelliklerine rağmen, kolistinin neden olduğu böbrek hasarı zararlı bir klinik komplikasyondur. İlaca bağlı nefrotoksisite, kolistin tedavisi için doz sınırlayıcı bir faktör görevi görür ve hastalarda ilaç etkinliğini azaltır [4]. Klinik kullanımlarını sınırlayan önemli yan etkilerden biri ise esas olarak hayvanlarda ve hastalarda parestezi, ataksi ve apati şeklinde ortaya çıkan nörotoksisitedir [5]. Kolistin, oldukça zararlı hidroksil radikallerinin (•OH) üretimini uyararak Gram-negatif bakteri hücresi ölümüne yol açar. Ancak, •OH oluşumunun altında yatan mekanizma henüz çok net değildir. H2O2 ve OH dahil olmak üzere biyolojik oksidatif türleri olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) konsantrasyonu kontrol edilemeyen seviyeye ulaştığında, DNA, lipidler ve proteinlerde oksidatif hasara yol açacaktır [6]. Oksidatif hasardaki artış, sperm kalitesinde bir azalmaya yol açar ve testis dokusunda apoptoz ve otofajinin indüksiyonu gibi üreme parametreleri üzerinde zararlı etkiler meydana getirir [7].

Flavonoidler, ikincil bitki metabolitleri olan ve tüm bitki metabolitlerinde doğal olarak bulunan fenolik bileşiklerdir [8]. Rutin (3,3′,4′, 5,7-pentahydroxyflavone-3 - ramnoglucoside, Rut) karabuğday, domates yaprağı, ıspanak, soğan, elma ve çayda bulunan ve doğal olarak oluşan bir flavonoid glikoziddir [9]. Antioksidan, antialerjik, antibakteriyel, ülser önleyici, antikarsinojenik, anti-diyabetik, antimutajenik, süperoksit radikallerinin güçlü temizleyicisi, immünomodülatör ve nöroprotektif aktiviteler dahil olmak üzere bildirilen birçok farmakolojik özelliğe sahiptir [10, 11]. Bu çalışmada, Rut uygulanmasının, biyokimyasal ve antioksidan içerikleri nedeniyle kolistin kaynaklı rat testis toksisitesinde oksidatif DNA hasarını engelleyebileceği hipotezi öne sürülmüştür. Bu çalışmanın amacı ayrıca, apoptotik ve enflamatuar (NF-κB) protein ekspresyonlarını immünohistokimyasal analizler kullanarak kolistin ile indüklenen apoptoz ve enflamasyon üzerindeki antiapoptotik ve anti-enflamatuar etkilerini değerlendirmektir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. İlaç ve Kimyasallar

Çalışmada toksisite sağlamak amacıyla kullanılan kolistin yerel bir ilaç firmasından (Colimycin® 150 mg/flakon, Koçak Farma, İstanbul, Türkiye) temin edildi. Rutin ve diğer kimyasallar ise Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD) firmasından satın alındı.

2.2. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Deneyde ağırlıkları 220-250 gr arasında olan 35 adet erkek Sprague Dawley cinsi rat kullanıldı (Etik Kurul Karar No: 2019-4/56). Ratlar 25 ± 1° C'de ve 12 saatlik bir aydınlık/karanlık ışık döngüsü ile % 45 ± 5 bağıl nemde metal kafeslere yerleştirildi. Deney dönemi boyunca yem ve su ad libitum sağlandı. Çalışmada kullanılacak ratlar ortama adaptasyon sağlamaları amacıyla, 7 gün boyunca herhangi bir işlem yapılmadan bekletildi.

2.3. Deneysel Uygulamalar

Adaptasyon döneminden sonra, 35 erkek Sprague Dawley rat 5 gruba ayrıldı; Grup dizaynları aşağıdaki gibidir:

Grup 1, Kontrol grubu: 7 gün boyunca sadece serum fizyolojik (1 ml gün^{-1}) verilen grup.
Grup 2, Rutin uygulanan grup (Rut): Her bir rata 7 gün Rut (100 mg kg gün^{-1}) verildi [12].
Grup 3, Kolistin uygulanan grup: Her bir rata 7 gün kolistin (15 mg kg gün^{-1}) periton içi uygulama ile verildi [13].
Grup 4, (Kolistin + Rut 50): Her bir rata, 7 gün boyunca kolistin (15 mg kg gün^{-1}) uygulamasından 1 saat önce Rut (50 mg kg gün^{-1}) verildi.
Grup 5, (Kolistin + Rut100): Her bir rata, 7 gün boyunca kolistin (15 mg kg gün^{-1}) uygulamasından 1 saat önce Rut (100 mg kg gün^{-1}) verildi.

Deneyin sonunda, ratlar hafif sevofloran (Sevorane likit 100%, Abbott, İstanbul, Türkiye) ile anesteziye alınarak ötenazi edildi ve testis dokularından biri biyokimyasal analiz için −80 ° C'de saklandı, diğer testis dokusu ise histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler için % 10'luk tamponlu formalin içinde tespit edildi.

2.4. Doku Homojenatının Hazırlanması

Her bir hayvanın testisi, yağ ve bağ dokularından arındırıldıktan sonra soğuk izotonik tuzlu su içinde yıkandı ve 1:10 doku ve % 1.15 tamponlu potasyum klorid içinde homojenize edildi. Doku homojenatları, 4° C'de 15 dakika 10000 rpm'de santrifüjlendi. Süpernatant toplandı ve biyokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesi için - 80 ° C'de saklandı.

2.5. Biyokimyasal Analizler

Lipid peroksidasyon içeriği, ratların testis dokusundaki MDA düzeylerinin Placer ve ark [14]. kullandıkları yönteme göre ölçülmesi ile belirlendi. Testis dokularındaki GSH seviyesi ise Sedlak ve Lindsay'ın [15] yöntemi kullanılarak ölçüldü.

2.6. Histopatolojik İnceleme

Her bir ratın testis dokusu trimlendi ve %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda 48 saat süreyle tespit edildi. Testis örnekleri daha sonra dereceli alkol serisiyle dehidre edildi ve parafine gömülmeden önce iki ksilen değişikliği ile şeffaflandırma işlemine tabi tutuldu. Mikrotom aracılığıyla (Leica, RM2255) her biri 4 µm kalınlığında seri kesitler alındı ve standart yönteme göre hematoksilen ve eozin ile boyandı. Histopatolojik değerlendirme, kontrol grubuna göre uygulama gruplardaki patolojik değişiklikler açısından ışık mikroskobu altında yapıldı.

2.7. İmmunhistokimyasal Analiz

4 µm kalınlığında polilizinli lam üzerine alınan kesitlerin ksilen içinde parafini uzaklaştırıldıktan sonra dehidrasyon ve hidrasyon işlemleri gerçekleştirildi. Antijenlerin açığa çıkarılması amacıyla, kesitler 10 mM sitrat tamponunda 15 dakika mikrodalgada kaynatıldı. Kesitler, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek amacıyla 10 dakika süreyle % 3 hidrojen peroksit ile muamele edildi ve sonra PBS ile yıkandı. Kesitler, spesifik olmayan boyamayı azaltmak için protein blok solüsyonu (Ultra V Block, Thermo Fisher Scientific) ile 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra 8-OHdG (Kat no: sc-66036, dilüsyon:1/100, Santa Cruz Biotechnology), NF-κB (Kat no: sc-8414, dilüsyon:1/100, Santa Cruz Biotechnology) ve kaspaz 3 (Kat no: sc-56053, dilüsyon:1/100, Santa Cruz Biotechnology) proteinlerine karşı primer monoklonal antikorlar ile oda sıcaklığında nem kabininde 1 saat süreyle inkübe edildi. Kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor (Ultra Vision Large Volume Detection System; TP-125-HL; Lab Vision) kullanılarak 10 dakika süreyle inkübe edildi. Antikorun tespiti, kromojen olarak diaminobenzidine (DAB) kullanılarak gerçekleştirildi. Kesitler, Mayer'in hematoksileniyle zıt boyandı ve ardından entellan ile kapatıldı. İmmünboyamanın yoğunluğu şu şekilde derecelendirildi: boyama yok (0), hafif (1+), orta (2+), yoğun (3+). Spermatogenezis ve Leydig hücrelerinin immünboyanmasının yoğunluğu, semi-kantitatif değerlendirme için primer kriterdi.

2.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel hesaplamalar SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Tüm değerler ortalama ± standart hata olarak ifade edildi. Değerler arasındaki istatistiksel analiz, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey post-hoc testi kullanılarak yapıldı. Anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ olarak belirlendi.

3. BULGULAR

3.1. Rutinin Kolistin Uygulaması Sonrası Rat Testis Dokularındaki Oksidan/Antioksidan Durumuna Etkisi

MDA düzeyleri, testis dokularındaki oksidatif hasarı değerlendirmek için kullanıldı. MDA düzeyindeki değişiklikler Şekil 1'de gösterildi. Periton içi kolistin uygulamasından sonra, MDA düzeyleri kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttı ($p < 0.05$). Bununla birlikte, Kolistin + Rut 50 ve Kolistin + Rut 100 dozlarının uygulanmasının, MDA düzeylerini azalttığı tespit edildi ($p<0.05$). Kolistin uygulanan ratların testis dokularındaki GSH düzeylerinin önemli derecede azaldığı belirlendi ($p<0.05$). Ayrıca kolistin ile kombine olarak uygulanan Rut 50 veya Rut 100 dozlarının, GSH düzeylerinde önemli bir artışı sağladığı saptandı ($p<0.05$). Bu sonuçlar, kolistinin neden olduğu testis hasarının rut ile birlikte uygulanmasıyla azaldığını göstermektedir.

3.2. Rutinin Kolistin Kaynaklı Histopatolojik Değişikliklere Etkisi

Kontrol ve Rut uygulanan gruplar normal testis histolojisine sahipti. Seminifer tübüller spermatid hücreleri ile dolu olup ve germinal membran üzerindeki germinal epitel hücreleri düzgün bir şekilde yerleşikti. Leydig hücreleri ve kılcal damar duvarlarının normal olduğu gözlendi (Şekil 2a, Şekil 2b). Buna karşılık, kolistin uygulanan grubun testis dokuları, spermatogonium çevresinde ödem ve vakuol oluşumu, bazal membranda incelme, interstisyel alanda kılcal damarlarda şiddetli konjesyon ile birlikte spermatojenik hücrelerde ciddi dejeneratif değişiklikler ve nekroz olmak üzere histopatolojik değişiklikler gösterdi (Şekil 2c). Kolistin ile birlikte Rut uygulanması bu histopatolojik değişiklikleri doza bağımlı bir şekilde hafifletmiştir. Kolistin + Rut 50 uygulanması ratlara ait testis dokularındaki dejeneratif değişiklikler ve spermatojenik hücrelerde nekrozu azalttı (Şekil 2d). Kolistin + Rut 100 uygulanması ile testis dokularında hafif dejeneratif değişiklikler ve tam bir spermatogenezis ile normal seminifer tübüller gözlendi (Şekil 2e).

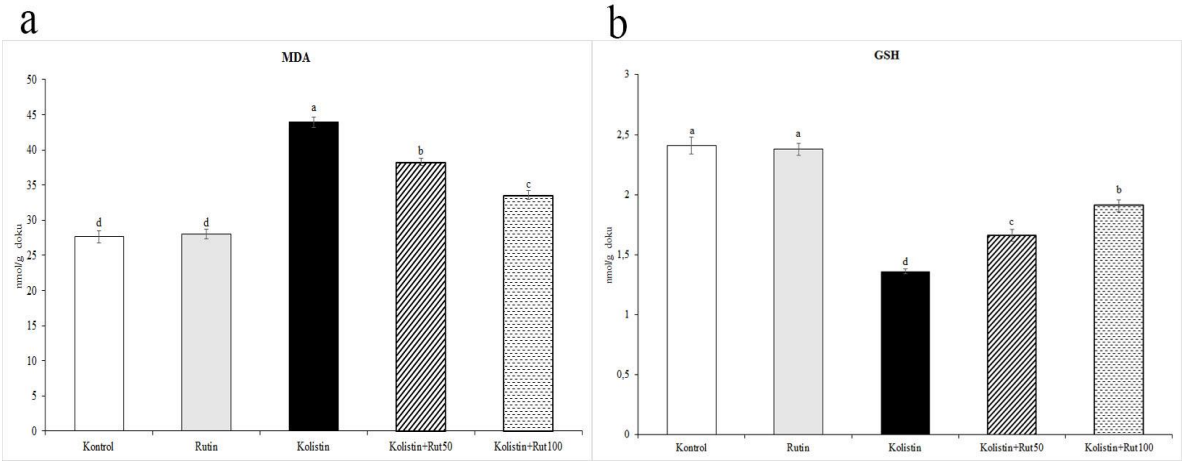
3.3. Rutinin Testis Dokularındaki 8-OHdG, NF-κB ve Kaspaz-3 İmmunpozitifliği Üzerine Etkileri

Kontrol grubu ve sadece Rut uygulanan ratların testis dokularında 8-OHdG ekspresyonunun immunhistokimyasal incelemesinde seminifer tübül ve interstisyel doku yapılarında herhangi bir pozitifliğe rastlanmadı (Şekil 3a, Şekil 3b). Kolistin uygulanan grupta spermatogonia ve primer spermatositlerde yoğun immunpozitif hücrelere rastlandı (Şekil 3c). Kolistin uygulanan grup, kontrol ve Rut uygulanan gruplara göre 8-OHdG immunpozitifliğinde anlamlı bir artış gösterdi (Tablo1; $p < 0.05$). Kolistin ile Rut 50 uygulanan grupta benzer hücrelerde immunpozitifliğe rastlanmış olup, kolistin grubuna göre anlamlı bir fark gözlendi (Şekil 3d, Tablo 1; $p < 0.05$). Kolistin + Rut 50 uygulanan grup ile Kolistin + Rut 100 uygulanan grup arasında 8-OHdG immunpozitifliği açısıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Kontrol ve sadece Rut uygulanan grupların testis dokularında NF-κB immunpozitifliği görülmezken (Şekil 4a, Şekil 4b), kolistin uygulanan grupta, her iki gruba kıyasla yoğun immunpozitiflik mevcuttu (Şekil 4c, Tablo1; $p < 0.05$). Kolistin ile birlikte Rut 50 uygulanan grupta kolistin grubuna kıyasla immunpozitiflikte önemli bir azalma gözlendi (Şekil 4d). Kolistin + Rut 50

grubunda NF-κB immunpozitiflikleri spermatogonialarda ve leydig hücrelerinde (Şekil 4d), Kolistin + Rut 100 grubunda (Şekil 4e) ise sadece leydig hücrelerinde pozitifliğe rastlanmakla birlikte NF-κB pozitifliği açısından önemli bir azalmada saptandı (Tablo 1; p <0.05).

Şekil 5'de gösterildiği gibi, kolistin grubu, kontrol (Şekil 5a) ve Rut uygulanan gruplara (Şekil 5b) göre kaspaz-3 immunpozitifliğinde anlamlı bir artış gösterdi (Tablo 1; p <0.05). Kolistin uygulanan grup (Şekil 5c) ile Kolistin + Rut 50 uygulanan grup (Şekil 5d) arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 1; p >0.05). Öte yandan, daha yüksek dozda Rut uygulaması (Rut 100), kaspaz-3 immunpozitifliğinde kolistin ve düşük doz uygulanan gruplara kıyasla anlamlı bir azalma gösterdi (Şekil 5e, Tablo 1; p <0.05).



Şekil 1. a) Ratlarda kolistin kaynaklı testis hasarında rutinin MDA düzeyine etkisi. (b) Rutinin ratlarda kolistin kaynaklı testis hasarında GSH seviyesi üzerindeki etkisi. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. Farklı harfler (a – d) gruplar arasında istatistiksel farkı göstermektedir (p <0.05).

Tablo 1. Kolistin ile indüklenen testis hasarında 8-OHdG, NF-κB ve kaspaz 3 immunpozitiflikleri üzerine rutinin etkileri

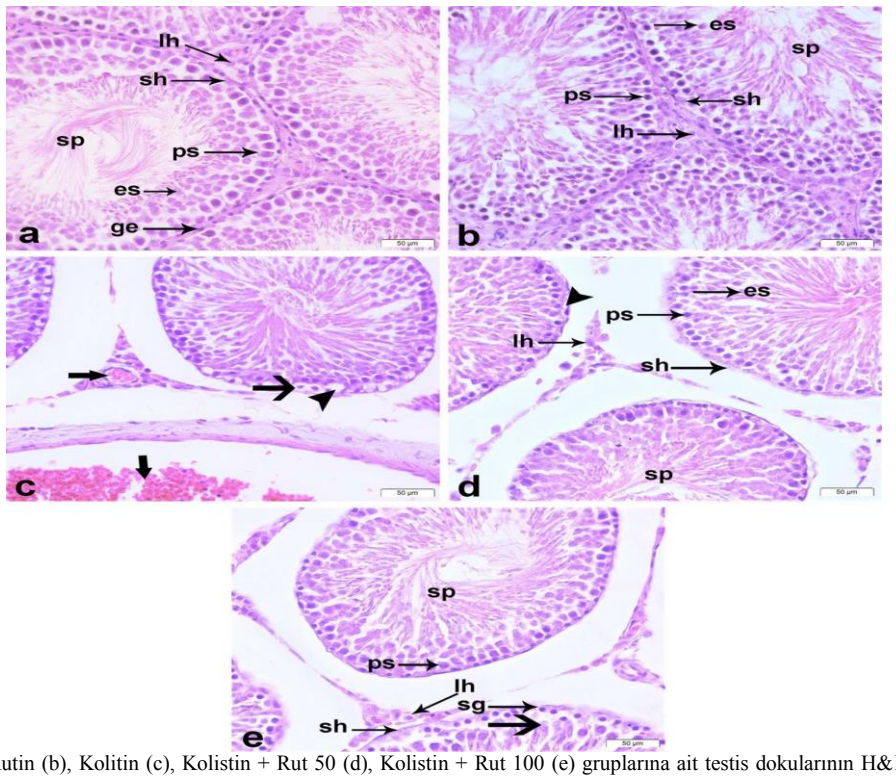
Gruplar	8-OHdG	NF-κB	Kaspaz 3
Kontrol	0,14±0,14^{a}	0,28±0,18^{a}	0,14±0,14^{a}
Rutin	0,14±0,14^{a}	0,14±0,14^{a}	0,28±0,18^{a}
Kolistin	2,85±0,14^{b}	2,85±0,14^{b}	2,85±0,14^{b}
Kolistin + Rut 50	1,28±0,18^{c}	1,85±0,14^{c}	2,71±0,18^{b}
Kolistin + Rut 100	1,14±0,26^{c}	0,85±0,14^{a}	1,42±0,20^{c}

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. Her bir sütundaki farklı harfler gruplar arası farklılığı göstermektedir. ^{a,b,c,d}p <0,05

4. TARTIŞMA

Gram-negatif bakteriler, hızla yayılma eğilimleri ve bu patojenler nedeniyle enfeksiyonları etkili bir şekilde tedavi etmek için mevcut azalan terapötik maddeler nedeniyle ABD'deki ve dünya çapındaki hastanelerde bir krize dönüşmüştür. Kolistin, bu ölümcül "süperböceklere" karşı etkili olan az sayıdaki antibiyotik arasında yer almaktadır. Ne yazık ki, doz sınırlayıcı nefrotoksisite ve nörotoksisite, etkili polimiksin tedavisi için engel olmaya devam etmektedir [16]. Bu yan etkilerin iyileştirilmesi, kolistinin terapötik çekiciliğini artıracak ve daha yüksek dozlarda kolistinin uygulanmasına izin verecektir [17]. Oksidatif stres, in vivo veya in vitro olarak ROS ve antioksidan savunma sistemindeki bir dengesizliğin neden olduğu oksidatif hasar sürecini ifade eder [18]. Yapılan çalışmalarda kolistinle oluşturulan toksisitelerde artan ROS üretiminin önemli bir mekanizma olduğu bildirilmiştir [2, 19, 20].

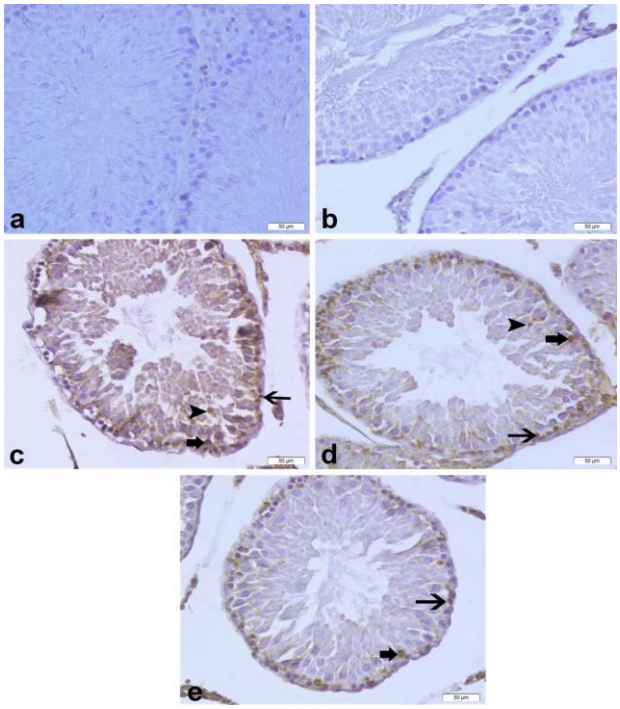
Aşırı ROS seviyeleri DNA, lipidler ve proteinlere zarar verir ve sonunda apoptoza yol açar [21]. MDA, lipid peroksitin parçalanmasıyla oluşan bir grup aldehittir. MDA düzeyinin belirlenmesi genellikle lipid peroksidasyonunun derecesini yansıtır [22]. Enzimatik olmayan sistemlerin önemli bir üyesi olan GSH ise hücrelerdeki redoks ortamının korunmasında ve hücreleri oksidatif hasardan korumada yeri doldurulamaz bir rol oynar [23]. Önceki çalışmalarla uyumlu şekilde [2, 7, 24, 25], bulgularımız kolistin uygulaması ile GSH düzeylerinin önemli bir düzeyde azaldığını ve MDA düzeyini artırdığını göstermekte ve testis dokularında bu şekilde oksidatif strese neden olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca kolistin ile birlikte Rut uygulamasının GSH düzeylerini artırması ve MDA düzeyini azaltması Rut'un antioksidan özelliğini kullanarak oksidatif stresi azaltabileceğini göstermiştir.



Şekil 2. Kontrol (a), Rutin (b), Kolitin (c), Kolistin + Rut 50 (d), Kolistin + Rut 100 (e) gruplarına ait testis dokularının H&E (× 40) ile boyanmış histopatolojik fotomikrografları. Kontrol ve rutin gruplarında normal testis histolojik yapısı gözlendi (sh:Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, ge: germinal epitel, es: erken spermatid, sp: spermatid, lh: leydig hücresi); kolistin uygulanan grupta ise germinal epitelde bozulma, vakuol oluşumu (okbaşı), piknotik çekirdek (ince ok) ve damarlarda konjesyon (kalın ok) gözlendi. Kolistin + Rut 50 ve Kolistin + Rut 100 uygulanan gruplarda azalan germinal epitel hücrebir kısmı hasarı (ok ve okbaşı) ve normale yakın spermatogenezis (sh: Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, ge: germinal epitel, sg: spermatogonyumlar, es: erken spermatid, sp: spermatid, lh: leydig hücresi) gözlendi.

MDA, lipid peroksitin parçalanmasıyla oluşan bir grup aldehittir. MDA düzeyinin belirlenmesi genellikle lipid peroksidasyonunun derecesini yansıtır [22]. Enzimatik olmayan sistemlerin önemli bir üyesi olan GSH ise hücrelerdeki redoks ortamının korunmasında ve hücreleri oksidatif hasardan korumada yeri doldurulamaz bir rol oynar [23]. Önceki çalışmalarla uyumlu şekilde [2, 7, 24, 25], bulgularımız kolistin uygulaması ile GSH düzeylerinin önemli bir düzeyde azaldığını ve MDA düzeyini artırdığını göstermekte ve testis dokularında bu şekilde oksidatif strese neden olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca kolistin ile birlikte Rut uygulamasının GSH düzeylerini artırması ve MDA düzeyini azaltması Rut'un antioksidan özelliğini kullanarak oksidatif stresi azaltabileceğini göstermiştir.

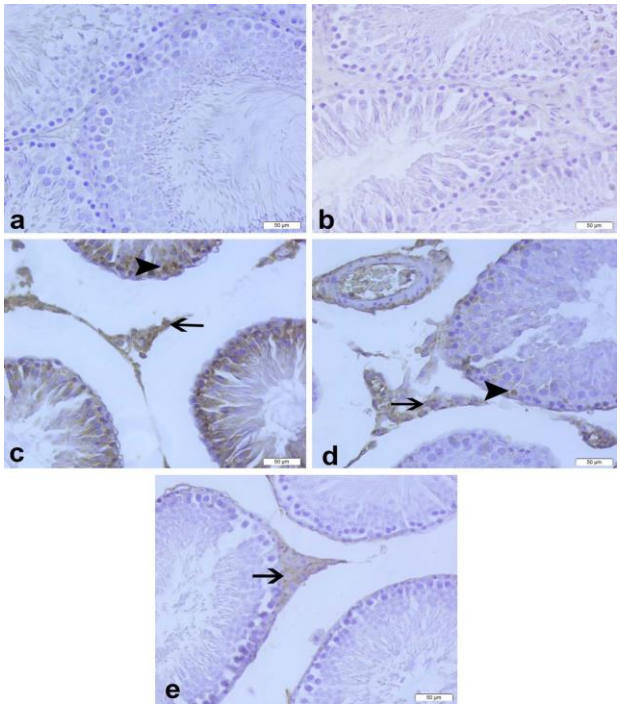
Yapılan çalışmalarda, ROS'un nükleotid modifikasyonlarına, DNA zinciri kırılmalarına ve kromatinin çapraz bağlanmasına neden olarak sperm çekirdeğindeki DNA bütünlüğüne saldırdığı öne sürülmüştür [26, 27]. Spermatozoalar, kendi DNA'larına oksidatif serbest radikal saldırılarına karşı sınırlı savunma mekanizmalarına sahip olduklarından, oksidatif DNA hasarı sırasında 8-OHdG üretilir [28]. 8-OHdG, oksidatif DNA hasarı için en yaygın olarak incelenen biyobelirteçtir [29]. Çeşitli oksidatif DNA eklentileri arasından 8-OHdG, yüksek özgüllüğü, güçlü mutajenitesi ve DNA'daki nispi bolluğu nedeniyle oksidatif DNA hasarının bir temsilcisi olarak seçilmiştir [28]. Çalışmamızda kolistin uygulamasına bağlı MDA düzeylerinin arttığı ve lipit peroksidasyonunun oluştuğu belirlenmiştir. Lipid peroksidasyon ürünleri DNA onarım kapasitesini azaltabilir. Bazı araştırmacılar, oksidatif DNA hasarı belirteci olan 8-OHdG ile lipid peroksidasyonu arasında güçlü bir ilişki olduğu sonucuna varmıştır [30, 31].



Şekil 3. 8-OHdG'nin rat testis dokularında immünohistokimyasal ekspresyonu, IHC (x40). (a) Kontrol grubu ve (b) rutin uygulanan grup 8-OHdG için negatif immunboyama gösterdi. (c) Kolistin grubu, testis dokusunda spermatogonium (ince ok), primer spermatosit (kalın ok) ve erken spermatidlerde (okbaşı) yoğun 8-OHdG ekspresyonu gösterdi. (d) Kolistin + Rut 50 ve (e) Kolistin + Rut 100 gruplarının testis kesitleri, spermatogonium (ince ok), primer spermatosit (kalın ok) ve erken spermatidlerde (okbaşı) hafif 8-OHdG ekspresyonu gösterdi

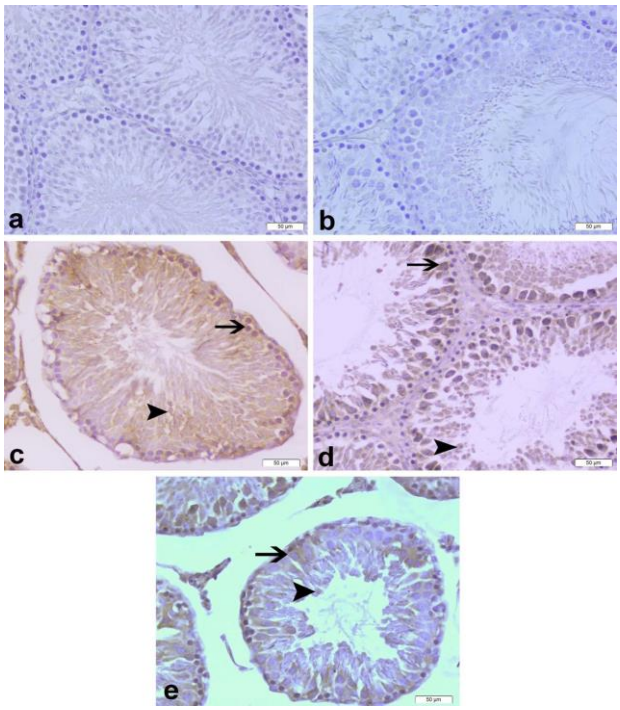
Bu bilgiler ışığında, sunulan çalışmada testis dokularındaki 8-OHdG seviyeleri ile MDA düzeylerinin kolistin uygulaması ile artması ve Rut antioksidanının uygulanmasına bağlı azalmaları aralarındaki ilişkiyi göstermiş, DNA hasarı üzerinde lipid peroksidasyonunun etkili olduğunu ortaya koymuştur.

NF-κB, oksidatif stres sırasında artan ve stres tepkileri, apoptoz ve bağışıklığın kritik düzenleyicisi olarak bilinen bir transkripsiyon faktörüdür [32]. Oksidatif stres ile aktivasyon üzerine, NF-κB'nin yukarı regülasyonunu tetiklenerek, çok sayıda enflamatuar sitokinin salgılanması ve bir enflamatuar sinyal yolağı başlayabilir [33]. Ayrıca, enflamasyonun, anti-inflamatuar ve proinflamatuar sitokinler arasındaki bir dengesizlikten kaynaklandığı ve NF-κB gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerinin enflamasyonu indüklediği bildirilmiştir [34]. NF-κB aktivasyonu ile indüklenen bu enflamasyon, çeşitli antiinflamatuar ajanlar ve antioksidan inhibitörler tarafından inhibe edilir [35]. Çalışmamızda Rut'un kolistin kaynaklı testis hasarında indüklenen NF-κB aktivasyonunu hafiflettiğini gözlemledik (Şekil 4). Bu durum Rut tarafından hücre içi oksidatif stresin azaltılarak NF-κB aktivasyonunun aşağı regülasyonunun sağlandığı ve bu şekilde antiinflamatuar bir özellik gösterdiği ile açıklanabilir.



Şekil 4. NF-κB'nin rat testis dokularında immünohistokimyasal ekspresyonu, IHC (x40). (a) Kontrol grubu ve (b) rutin uygulanan NF-κB için negatif immunboyama gösterdi. (c) Kolistin grubu, testis dokusunda spermatogonium (ok başı) ve leydig hücrelerinde (ince ok) yoğun NF-κB ekspresyonu gösterdi. (d) Kolistin + Rut 50 grubu spermatogonium (ok başı) ve leydig hücrelerinde (ince ok) orta yoğunlukta NF-κB ekspresyonu gösterdi. (e) Kolistin + Rut 100 gruplarının testis kesitleri, sadece leydig hücrelerinde (ince ok) hafif NF-κB ekspresyonu gösterdi.

Apoptoz süreci, hücre dışı (ekstrinsik indükleyiciler) veya hücre içi (intrinsik indükleyiciler) kaynaklı olabilen çok çeşitli hücre sinyalleri tarafından kontrol edilir. Hücre dışı sinyaller, ya plazma membranını geçmesi ya da bir tepkiyi etkilemek için transdüksiyonu yapması gereken toksinler, hormonlar, büyüme faktörleri, nitrik oksit ya da sitokinleri içerebilir [36, 37]. Bu sinyaller, apoptozu pozitif (yani tetikleyebilir) veya negatif (yani baskılayabilir, inhibe edebilir veya azaltabilir) yönden etkileyebilir. Glukokortikoidler, ısı, radyasyon, besin yoksunluğu, viral enfeksiyon, toksik ilaçlar ve hipoksinin neden olduğu hücre hasarında hücre içi apoptotik sinyallerin salınması tetiklenebilir [38]. Kolistindeki 5 pozitif yüklü amino grubunun yapısı, Na +, K + ve Ca2 + konsantrasyonunu etkileyerek zar geçirgenliğini değiştirerek bakterileri öldürmenin ve memeli hücrelerinde toksisiteye neden olan ana yapı olarak kabul edilir [39]. Kolistinin, yağ asidi bileşenleri nedeniyle lipit membranını değiştirme veya bozma yeteneği, yüksek düzeyde toksisite hassasiyetini açıklamaya yardımcı olabilir [40]. Kaspaz 3 hem hücre dışı hem de hücre içi apoptoz da görev alan önemli bir proteindir. Daha önce yapılan çalışmalarda kolistinin kaspaz 3 ekspresyonunu arttırarak apoptozu indüklediği gösterilmiştir [41-44]. Yapılan bu çalışmada kaspaz 3 immunpozitifliğinin kontrol ve sadece Rut uygulanan grupta değişmediği, Kolistin ve Kolistin + Rut 50 uygulanan grupta önemli derecede arttığı, kolisitnle birlikte Rut 100 uygulaması sonrası ise bu immunpozitifliğin azaldığı gözlemlenmiştir. Rut uygulamasının kaspaz 3 seviyesini azalttığı ve apoptoz aktivitesini düşürdüğü önceki çalışmalarda rapor edilmiştir [42, 45-49]. Dolayısıyla bu çalışmadan elde edilen veriler önceki çalışmalarla uyumlu olarak bulunmuştur.



Şekil 5. Kaspaz 3'ün rat testis dokularında immünohistokimyasal ekspresyonu, IHC (x40). (a) Kontrol grubu ve (b) rutin uygulanan kaspaz 3 için negatif immunboyama gösterdi. (c) Kolistin grubu ve (d) Kolistin + Rut 50 grubunun testis dokuları spermatogonium (ok) ve spermatidlerde (ok başı) yoğun kaspaz 3 ekspresyonu gösterdi. (e) Kolistin + Rut 100 gruplarının testis kesitleri, primer spermatosit (ince ok) ve spermatidlerde (okbaşı) hafif düzeyde kaspaz 3 ekspresyonu gösterdi.

Çalışmada elde edilen veriler, Rut'un enflamasyon ve apoptozda yer alan NF-κB ve caspase 3 seviyelerini azaltarak testis dokusunda kolistin kaynaklı hasarı zayıflattığını göstermektedir. Rut'un bu anti-inflamatuar ve anti-apoptotik etkilerine lipit peroksidasyonunun azalması ile oksidatif stresin baskılanması aracılık eder. Sonuç olarak bu çalışma, kolistin uygulaması ile birlikte ortaya çıkabilecek muhtemel hasarın azaltılmasında Rut'un da birlikte klinik uygulaması için temel destekleyici veriler sağlamaktadır.

KAYNAKLAR

[1] Hanedan B, Ozkaraca M, Kirbas A, Kandemir FM, Aktas MS, Kilic K, et al. Investigation of the effects of hesperidin and chrysin on renal injury induced by colistin in rats. Biomed Pharmacother. 2018; 108:1607-16.

[2] Çelik H, Kandemir FM, Caglayan C, Özdemir S, Çomaklı S, Kucukler S, et al. Neuroprotective effect of rutin against colistin-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat brain associated with the CREB/BDNF expressions. Mol Biol Rep. 2020; 47(3):2023-34.

[3] Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. J Antimicrob Chemother. 2007; 60(6):1206-15.

[4] Heidari R, Behnamrad S, Khodami Z, Ommati MM, Azarpira N, Vazin A. The nephroprotective properties of taurine in colistin-treated mice is mediated through the regulation of mitochondrial function and mitigation of oxidative stress. Biomed Pharmacother. 2019; 109:103-11.

[5] Dai C, Li J, Li J. New insight in colistin induced neurotoxicity with the mitochondrial dysfunction in mice central nervous tissues. Exp Toxicol Pathol. 2013; 65(6):941-8.

[6] Yu Z, Zhu Y, Qin W, Yin J, Qiu J. Oxidative stress induced by polymyxin E is involved in rapid killing of Paenibacillus polymyxa. Biomed Res Int. 2017; 2017.

[7] Aksu EH, Kandemir FM, Küçükler S, Mahamadu A. Improvement in colistin-induced reproductive damage, apoptosis, and autophagy in testes via reducing oxidative stress by chrysin. J Biochem Mol Toxicol. 2018; 32(11):e22201.

[8] Kandemir FM, Caglayan C, Aksu EH, Yildirim S, Kucukler S, Gur C, et al. Protective effect of rutin on mercuric chloride-induced reproductive damage in male rats. Andrologia. 2020; 52(3):e13524.

[9] Aksu E, Kandemir F, Özkaraca M, Ömür A, Küçükler S, Çomaklı S. Rutin ameliorates cisplatin-induced reproductive damage via suppression of oxidative stress and apoptosis in adult male rats. Andrologia. 2017; 49(1):e12593.

[10] Ganeshpurkar A, Saluja AK. The pharmacological potential of rutin. Saudi Pharm J. 2017; 25(2):149-64.

[11] Caglayan C, Kandemir FM, Darendelioğlu E, Yıldırım S, Kucukler S, Dortbudak MB. Rutin ameliorates mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis. J Trace Elem Med Biol. 2019; 56:60-8.

[12] Caglayan C, Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S, Eser G. Rutin protects mercuric chloride-induced nephrotoxicity via targeting of aquaporin 1 level, oxidative stress, apoptosis and inflammation in rats. J Trace Elem Med Biol. 2019; 54:69-78.

[13] Ajiboye T. Colistin sulphate induced neurotoxicity: Studies on cholinergic, monoaminergic, purinergic and oxidative stress biomarkers. Biomed Pharmacother. 2018; 103:1701-7.

[14] Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem. 1966; 16(2):359-64.

[15] Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal Biochem. 1968; 25:192-205.

[16] Dai C, Tang S, Wang Y, Velkov T, Xiao X. Baicalein acts as a nephroprotectant that ameliorates colistin-induced nephrotoxicity by activating the antioxidant defence mechanism of the kidneys and down-regulating the inflammatory response. J Antimicrob Chemother. 2017; 72(9):2562-9.

[17] Edrees NE, Galal AA, Monaem ARA, Beheiry RR, Metwally MM. Curcumin alleviates colistin-induced nephrotoxicity and neurotoxicity in rats via attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. Chem Biol Interact. 2018; 294:56-64.

[18] Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organization Journal. 2012; 5(1):9-19.

[19] Yousef JM, Chen G, Hill PA, Nation RL, Li J. Melatonin attenuates colistin-induced nephrotoxicity in rats. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55(9):4044-9.

[20] Dai C, Zhang D, Gao R, Zhang X, Li J, Li J. In vitro toxicity of colistin on primary chick cortex neurons and its potential mechanism. Environ Toxicol Pharmacol. 2013; 36(2):659-66.

[21] Dai C, Tang S, Deng S, Zhang S, Zhou Y, Velkov T, et al. Lycopene attenuates colistin-induced nephrotoxicity in mice via activation of the Nrf2/HO-1 pathway. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59(1):579-85.

[22] Chi X, Bi S, Xu W, Zhang Y, Liang S, Hu S. Oral administration of tea saponins to relive oxidative stress and immune suppression in chickens. Poult Sci. 2017; 96(9):3058-67.

[23] Zhang Y, Chi X, Wang Z, Bi S, Wang Y, Shi F, et al. Protective effects of Panax notoginseng saponins on PME-Induced nephrotoxicity in mice. Biomed Pharmacother. 2019; 116:108970.

[24] Jiang G-Z, Li J-C. Protective effects of ginsenoside Rg1 against colistin sulfate-induced neurotoxicity in PC12 cells. Cell Mol Neurobiol. 2014; 34(2):167-72.

[25] Wang J, Ishfaq M, Xu L, Xia C, Chen C, Li J. METTL3/m6A/miRNA-873-5p Attenuated Oxidative Stress and Apoptosis in Colistin-Induced

Kidney Injury by Modulating Keap1/Nrf2 Pathway. Front Pharmacol. 2019; 10:517.
[26] Hosen MB, Islam MR, Begum F, Kabir Y, Howlader MZH. Oxidative stress induced sperm DNA damage, a possible reason for male infertility. Iran J Reprod Med. 2015; 13(9):525.
[27] Said TM, Agarwal A, Sharma RK, Thomas Jr AJ, Sikka SC. Impact of sperm morphology on DNA damage caused by oxidative stress induced by β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate. Fertil Steril. 2005; 83(1):95-103.
[28] Shen H-M, Ong C-N. Detection of oxidative DNA damage in human sperm and its association with sperm function and male infertility. Free Radic Biol Med. 2000; 28(4):529-36.
[29] Özdemir S, Kucukler S, Çomaklı S, Kandemir FM. The protective effect of Morin against ifosfamide-induced acute liver injury in rats associated with the inhibition of DNA damage and apoptosis. Drug Chem Toxicol. 2020:1-10.
[30] Wong YT, Ruan R, Tay FEH. Relationship between levels of oxidative DNA damage, lipid peroxidation and mitochondrial membrane potential in young and old F344 rats. Free Radic Res. 2006; 40(4):393-402.
[31] Park J-W, Floyd RA. Lipid peroxidation products mediate the formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA. Free Radic Biol Med. 1992; 12(4):245-50.
[32] Kucukler S, Darendelioğlu E, Caglayan C, Ayna A, Yıldırım S, Kandemir FM. Zingerone attenuates vancomycin-induced hepatotoxicity in rats through regulation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. Life Sci. 2020:118382.
[33] Aprioku JS. Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis. J Reprod Infertil. 2013; 14(4):158.
[34] Kandemir FM, Yıldırım S, Kucukler S, Caglayan C, Darendelioğlu E, Dortbudak MB. Protective effects of morin against acrylamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity: A multi-biomarker approach. Food Chem Toxicol. 2020; 138:111190.
[35] Shishodia S, Majumdar S, Banerjee S, Aggarwal BB. Ursolic acid inhibits nuclear factor-κB activation induced by carcinogenic agents through suppression of IκBα kinase and p65 phosphorylation: correlation with down-regulation of cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 9, and cyclin D1. Cancer Res. 2003; 63(15):4375-83.
[36] Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science. 1995;267(5203):1456-62.
[37] Rubin LL. Neuronal cell death: when, why and how. Br Med Bull. 1997; 53(3):617-31.
[38] Mattson MP, Chan SL. Calcium orchestrates apoptosis. Nat Cell Biol. 2003; 5(12):1041-3.
[39] Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. Crit Care. 2006; 10(1):R27.
[40] Dai C, Li J, Lin W, Li G, Sun M, Wang F, et al. Electrophysiology and ultrastructural changes in mouse sciatic nerve associated with colistin sulfate exposure. Toxicol Mech Methods. 2012; 22(8):592-6.
[41] Dai C, Xiao X, Zhang Y, Xiang B, Hoyer D, Shen J, et al. Curcumin Attenuates Colistin-Induced Peripheral Neurotoxicity in Mice. ACS Infect Dis. 2020; 6(4):715-24.
[42] Çelik H, Kandemir FM, Caglayan C, Özdemir S, Çomaklı S, Kucukler S, et al. Neuroprotective effect of rutin against colistin-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat brain associated with the CREB/BDNF expressions. Mol Biol Rep. 2020; 47(3):2023-34.
[43] Dai C, Xiong J, Wang Y, Shen J, Velkov T, Xiao X. Nerve Growth Factor Confers Neuroprotection against Colistin-Induced Peripheral Neurotoxicity. ACS Infect Dis. 2020; 6(6):1451-9.
[44] Wang J, Ishfaq M, Fan Q, Chen C, Li J. 7-Hydroxycoumarin Attenuates Colistin-Induced Kidney Injury in Mice Through the Decreased Level of Histone Deacetylase 1 and the Activation of Nrf2 Signaling Pathway. Front Pharmacol. 2020; 11:1146.
[45] Yaşar H, Ersoy A, Cimen FK, Mammadov R, Kurt N, Arslan YK. Peripheral neurotoxic effects of cisplatin on rats and treatment with rutin. Adv Clin Exp Med. 2019; 28(11):1537-43.
[46] Abdelfattah MS, Badr SEA, Lotfy SA, Attia GH, Aref AM, Abdel Moneim AE, et al. Rutin and Selenium Co-administration Reverse 3-Nitropropionic Acid-Induced Neurochemical and Molecular Impairments in a Mouse Model of Huntington's Disease. Neurotox Res. 2020; 37(1):77-92.
[47] Caglayan C, Kandemir FM, Darendelioğlu E, Yıldırım S, Kucukler S, Dortbudak MB. Rutin ameliorates mercuric chloride-induced hepatotoxicity in rats via interfering with oxidative stress, inflammation and apoptosis. J Trace Elem Med Biol. 2019; 56:60-8.
[48] Khan F, Pandey P, Upadhyay TK, Jafri A, Jha NK, Mishra R, et al. Anti-Cancerous Effect of Rutin Against HPV-C33A Cervical Cancer Cells via G0/G1 Cell Cycle Arrest and Apoptotic Induction. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2020; 20(3):409-18.
[49] Gao H, Yuan X, Wang Z, Gao Q, Yang J. Profiles and neuroprotective effects of Lycium ruthenicum polyphenols against oxidative stress-induced cytotoxicity in PC12 cells. J Food Biochem. 2020; 44(1):e13112.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.806329 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Siirt Ekolojik Koşullarında Katı Solucan Gübresi Uygulamalarının Nohut (*Cicer arietinum* L.)'un Verim ve Verim Özelliklerine Etkileri

Özge UÇAR[1*], Sipan SOYSAL[2], Murat ERMAN[3]

[1] Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Siirt, Türkiye
[2] Siirt Üniversitesi, Kurtalan Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Siirt, Türkiye
[3] Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Siirt, Türkiye
Özge UÇAR ORCID No: 0000-0002-4650-4998
Sipan SOYSAL ORCID No: 0000-0002-0840-6609
Murat ERMAN ORCID No: 0000-0002-1435-1982

**Sorumlu yazar: ozgeonderr@hotmail.com*

(Alınış: 06.10.2020, Kabul: 04.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Nohut, Solucan gübresi, Verim, Cicer arietinum L.

Öz: Bu çalışma 2017-2018 yıllarında Siirt ekolojik koşullarında katı solucan gübresi uygulamalarının nohutun verim ve verim özelliklerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Denemeler tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Çalışmada Azkan nohut çeşidi tohumu kullanılmıştır. Katı solucan gübresi dozları 0, 30, 60, 90 ve 120 kg da^{-1} olacak şekilde uygulanmıştır. Çalışmada bitki boyu, ilk bakla yüksekliği, bitkide bakla sayısı, baklada tane sayısı, 100-tane ağırlığı ve tane verimi özellikleri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; bitki boyu 52.7-59.0 cm, ilk bakla yüksekliği 31.0-34.3 cm, bitkide bakla sayısı 32.9-36.8 adet bitki^{-1}, baklada tane sayısı 35.1-38.8 adet bakla^{-1}, 100-tane ağırlığı 31.8-36.1 g ve tane verimi ise 171.5-205.7 kg da^{-1} arasında değişim göstermiştir. İncelenen tüm özellikler bakımından 120 kg da^{-1} katı solucan gübresi uygulaması en yüksek değerleri vermiştir. Sonuç olarak, Siirt ili ekolojik koşullarında nohut yetiştiriciliğinde 120 kg da^{-1} katı solucan gübresi kullanılması tavsiye edilmektedir.

The Effects of Solid Vermicompost Applications on the Yield and Yield Components of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) in the Ecological Conditions of Siirt

Keywords
Chickpea, Vermicompost Yield, Cicer arietinum L.

Abstract: This study was carried out in order to determine the effects of solid vermicompost applications on the yield and yield characteristics of chickpea in the ecological conditions of Siirt in 2017-2018. The trials were set up with 3 replications according to the randomized blocks trial design. In the study, Azkan variety of chickpea seed was used. Solid vermicompost doses were applied as 0, 30, 60, 90 and 120 kg da^{-1}. In the study, plant height, first pod height, number of pods per plant, number of seeds per pod, 100-grain weight and grain yield were investigated. According to the results of the study, the plant height is 52.7-59.0 cm, the height of the first pod is 31.0-34.3 cm, the number of pods per plant is 32.9-36.8 pieces plant^{-1}, the number of seeds per plant is 35.1-38.8 pieces plant^{-1}, 100-grain weight is 31.8-36.1 g and the grain yield is varied between 171.5-205.7 kg da^{-1}. The application of solid vermicompost at 120 kg da^{-1} gave the highest values in terms of all the properties investigated. As a result, it is recommended to use 120 kg da^{-1} solid vermicompost in chickpea cultivation under ecological conditions of Siirt province.

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artmasıyla birlikte insan beslenmesi de önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsan beslenmesinin temel taşlarından olan proteinler hayvansal ve bitkisel kaynaklardan sağlanmaktadır [1]. Özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanların en büyük protein kaynağını baklagiller oluşturmaktadır [2]. Yemeklik tane baklagil olarak nohut, mercimek, fasulye, bakla, bezelye ve börülce türleri kullanılmaktadır.

Nohut, insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan Türkiye'de en fazla tarımı yapılan yemeklik tane baklagil türüdür. Dünya'da ise kuru fasulyeden sonra ikinci sırada yer almaktadır [3]. Nohut, diğer baklagil bitkileri gibi kazık kökleri vasıtasıyla toprağın daha derinlerine inerek toprağın daha alt katmanlarındaki besin maddelerinin üst katmanlara taşınmasında önemli bir role sahiptir. Ayrıca hasat artıklarının parçalanıp toprağa karışmasıyla birlikte toprağın organik madde içeriğini de artırmaktadır. Kök bölgesinde yaşayan *Mesorhizobium ciceri* türü bakterilerle ortak yaşam halinde bulunarak atmosferde serbest halde bulunan elementel azotun fikse edilerek bitkiler tarafından kullanılabilecek forma dönüştürülmesine katkı sağlamaktadır [4]. Nohut, diğer kültür bitkileri ile ekim nöbetine girdiğinde bu şekilde kendinden sonra yetiştirilecek bitkiler için de besin maddesince daha zengin bir toprak bırakmaktadır [5].

Nohut iklim ve toprak istekleri bakımından oldukça kanaatkâr bir bitki olmasına rağmen, uygun dozda yapılacak gübreleme ile verim ve verim özelliklerinin iyileştirilmesi mümkündür. Geçmişten bu yana, nohut ile ilgili akademik çalışmalar devam etmektedir. Özellikle farklı kaynaklardan ve içeriklerden gübreler ile ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur. Nohut yetiştiriciliğinde kimyasal gübre kullanımı küçük alanlarda yetiştiricilik yapıldığında çiftçiler tarafından genelde kullanılmamaktadır. Büyük çaplı tarım işletmelerinde ise kimyasal gübre kullanımı yaygındır. Daha önceden yapılan çalışmalar gösteriyor ki, uygun dozda yapılan gübreleme ile verim ve kaliteyi artırmak mümkündür. Ancak yoğun ve bilinçsiz kimyasal gübre kullanımı toprakların ve yer altı sularının kirlenmesine neden olmaktadır. Bu açıdan farklı bitki besleme yöntemleri kullanmak gereklidir. Uygun dozda yapılan gübrelemeyle çevre dostu bir nohut yetiştiriciliğinin yapılması mümkündür.

Hayvansal kaynaklı organik gübreler, mikrobiyal gübreler, kompostlar veya vermikompost olarak adlandırılan solucan gübreleriyle bitkilerin besin ihtiyaçları karşılanabilmektedir [6],[7]. Bu gübreler kimyasal gübrelerin neden olduğu kirlenmelere sebep olmamaktadırlar. Organik gübrelerden solucan gübresi katı halde toprağa karıştırılabilmekte, sıvı formu ise tohuma ve yaprağa uygulanabilmektedir. Özellikle solucan gübresi, bitkilerin verim ve kalitelerinin artırılmasıyla birlikte, bitkilerin hastalık ve zararlılara karşıda dayanıklılığını belli ölçüde artırılmasına katkı sağlamaktadır [8]. Bu konuda yeni çalışmalar halen yapılmaktadır. Bu çalışmada katı solucan gübresinin farklı dozlarının nohut bitkisinin verim ve verim özelliklerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma 2017 ve 2018 yılları yetiştirme dönemlerinde Siirt Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme alanlarında yürütülmüştür. Denemelerde bitki materyali olarak Azkan çeşidi nohut tohumu kullanılmıştır. Ekosol firmasından temin edilen katı solucan gübresi pH: 6,5-8,5, % 35 organik madde, % 1,2 toplam azot içeriğine sahiptir. *Eisenia foetida* türü olan kırmızı Kaliforniya kültür solucanlarının tükettikleri besinlerin tamamının sindirim sisteminden geçen, doğrudan dışkılanan ve % 100 organik olan bir gübredir. Deneme toprakları tuzsuz (0,08 dS/m), kireçli (% 1,61), hafif alkali (pH:7,6), su tutma kapasitesi yüksek (killi-tınlı), eğimi düze yakın, organik madde yönünden fakir (% 0,90) olup, potasyumca zengin (66,9 kg/da), fosfor içeriği (3,12 kg/da) düşüktür [9].

Çalışmanın yapıldığı her iki yıla ve yıllar ortalamasına ait ortalama sıcaklık, yağış miktarı ve ortalama nispi nem değerleri Tablo 1'de verilmiştir, Vejetasyon dönemi boyunca ortalama sıcaklık 2017 yılında 20,5 ºC, 2018 yılında ise 22,0 ºC'dir, Toplam yağış miktarı denemenin ilk yılında 326,6 mm iken, ikinci yılında 264,8 mm'dir, Ortalama nispi nem ise 2017 yılında % 44,7 iken, 2018 yılında % 42,9'dur,

Tablo 1. Denemenin yürütüldüğü alana ait iklim verileri*

	Ortalama Sıcaklık (°C)			Yağış miktarı (mm)			Ortalama Nispi Nem (%)		
Aylar	**2017**	**2018**	**UYO**	**2017**	**2018**	**UYO**	**2017**	**2018**	**UYO**
Mart	9,6	13,7	8,1	119,2	47,6	111,3	63,9	55,9	61,3
Nisan	14	16,8	13,3	132,8	61,6	104,9	59,5	47,6	54,8
Mayıs	19,5	19,8	19,2	74,6	139,6	62,9	51,7	59,2	50,1
Haziran	26,9	27,4	25,9	0	10	9,6	29,5	31,7	34,1
Temmuz	32,3	32,3	30,5	0	0,6	2,3	19	20,1	26,6
Top./Ort.	20,5	22	19,4	326,6	264,8	291	44,7	42,9	45,4

*UYO, Uzun yıllar ortalaması (1963-2018)(Siirt Meteoroloji Bölge Müdürlüğü Kayıtları)

Denemeler tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Ön bitkisi buğday olan araziye, tohumlar m^2'ye 60 tohum düşecek olacak şekilde ekilmiştir [10]. Denemenin ekimleri her parselde 4 sıra, sıra arası mesafe 30 cm, sıra uzunluğu 5 m olacak şekilde 04.03.2017 ve 06.03.2018 tarihlerinde yapılmıştır. Ekimden önce parsellere 0, 30, 60, 90 ve 120 kg da^{-1} dozlarında katı solucan gübresi serpilip, tırmıkla toprağa karıştırılmıştır. Nohut kuraklığa dayanıklı bir bitki olduğundan yağış koşullarında yetiştirilmiş olup, ayrıca sulama yapılmamıştır. Yabancı ot mücadelesi elle yolunarak yapılmıştır. Gözlem ve hasat için parsellerin kenarlarından birer sıra ve parsellerin baş ile sonlarından 0,5'er m'lik kısımlar kenar tesiri olarak kabul edilmiş

olup, içeride kalan alandaki bitkilerden seçilen 10 bitki üzerinden gözlemler alınmıştır.

Bitki boyu, ilk bakla yüksekliği, bitkide bakla sayısı, bitkide tane sayısı, 100 tane ağırlığı ve tane verimi özellikleri incelenmiştir. Antraknoz hastalığına karşı 2017 yılında 3 kere, 2018 yılında ise 1 kere kimyasal mücadele yapılmıştır. Deneme alanlarının hasadı 06.07.2017 ve 08.07.2018 tarihlerinde yapılmıştır. Hasat ve harman işlemleri elle yapılmıştır. Araştırma sonucu elde edilen veriler JMP istatistik paket programında analiz edilmiştir.

3. BULGULAR

Katı solucan gübresi dozlarının nohut bitkisinde incelenen özelliklere olan etkilerine ilişkin ortalamalar ile LSD grupları Tablo 2 ve Tablo 3'te belirtilmiştir.

3.1. Bitki Boyu

Bitki boyuna yılların ve katı solucan gübresi dozlarının etkisi istatistiki bakımdan önemli bulunurken, interaksiyonun etkisi önemli bulunmamıştır. İnteraksiyonun bitki boyuna istatistiki olarak önemli bir etkisi bulunmamıştır. Çalışmanın ilk yılında bitki boyu değerleri, ikinci yıla göre daha yüksek bulunmuştur. Yağışların, bitkinin ilk gelişim dönemlerinde 2017 yılında 2018 yılına nazaran daha yüksek olması sebebiyle bitki boyu değerleri ilk yıl daha yüksektir. Yağışlarla birlikte topraktaki azotun mineralize olması ile birlikte bitkiler azottan daha iyi faydalanmışlar ve buna bağlı olarak vejetatif gelişimleri bundan olumlu etkilenmiştir. En yüksek bitki boyu 120 kg da^{-1} solucan gübresi dozundan elde edilirken, en düşük bitki boyu değeri ise kontrolden alınmıştır (Tablo 2). Solucan gübresi dozu arttıkça bitki boyu artış göstermiştir. [11], [12], [13] ve [14] de solucan gübresi uygulamasının bitki boyunu artırdığını bildirmişlerdir.

3.2. İlk Bakla Yüksekliği

İlk bakla yüksekliğine interaksiyonun etkisi istatistiki bakımdan önemsiz bulunurken, solucan gübresinin ve yılların etkisi önemli bulunmuştur. İlk bakla yüksekliği değerlerinin 2017 yılında 2018 yılına göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun ilk gelişim dönemlerinde yağan yağışlarla birlikte mineralizasyona uğrayan azottan bitkinin daha iyi faydalanması sonucu bitki boyunun uzaması ve buna bağlı olarak ilk bakla yüksekliğinin arttığı düşünülmektedir. En yüksek ilk bakla yüksekliği 120 kg da^{-1} solucan gübresi uygulamasından elde edilmiş olup, 90 kg da-1 solucan gübresi uygulaması ile aralarındaki fark istatistiki açıdan önemsizdir. En düşük ilk bakla yüksekliği değeri ise kontrolde tespit edilmiştir (Tablo 2). [4], solucan gübresi uygulamasının ilk bakla yüksekliğini düşürdüğünü bildirmiştir.

Tablo 2. Nohutta katı solucan gübresi uygulamalarına ait bitki boyu, ilk bakla yüksekliği ve bitkide bakla sayısı ortalamaları ve grupları

		Bitki boyu (cm)			İlk bakla yüksekliği (cm)			Bitkide bakla sayısı (adet bitki^{-1})		
	Solucan gübresi dozları	**2017**	**2018**	**Ortalama**	**2017**	**2018**	**Ortalama**	**2017**	**2018**	**Ortalama**
	Kontrol	55,6	52,7	**54,2 D**	32,2	28,8	**30,5 D**	32,9	34,0	**33,5 C**
	30 kg da^{-1}	57,1	54,7	**55,9 C**	33,4	31,0	**32,2 C**	33,3	35,2	**34,2 BC**
	60 kg da^{-1}	57,5	56,4	**57,0 B**	33,8	31,0	**32,4 BC**	34,5	35,4	**34,9 B**
	90 kg da^{-1}	58,2	56,5	**57,4 B**	33,9	32,3	**33,1 AB**	34,2	35,4	**34,8 B**
	120 kg da^{-1}	59,0	57,6	**58,3 B**	34,3	32,4	**33,4 A**	36,2	36,8	**36,5 A**
	Ortalama	**57,5 A**	**55,6 B**		**33,5 A**	**31,1 B**		**34,2 B**	**35,4 A**	
	Gübre		0,950			0,613			1,087	
LSD $_{(0.05)}$	**Yıl**		0,343			0,735			0,559	
	Gübre x Yıl		ö.d.			ö.d.			ö.d.	

3.3. Bitkide Bakla Sayısı

Bitkide bakla sayısına yılların ve gübre dozlarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken, interaksiyonun etkisi önemli bulunmamıştır. Bitkide bakla sayısının çalışmanın ikinci yılında daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın ilk yılında bitkilerde antraknoz zararı daha fazla olduğundan ilk yıl bitkide bakla sayısı ikinci yıla nazaran daha düşük bulunmuştur. Ayrıca çalışmanın ikinci yılında çiçeklenme döneminde yağan yağışlardan bitkiler daha iyi faydalanmış ve bakla sayısı artış göstermiştir. [15] ve [16] nohut yetiştiriciliğinde çiçeklenme dönemindeki sudan nohutun olumlu etkilendiğini ve bitkide bakla sayısını artırdığını bildirmişlerdir. En yüksek bitkide bakla sayısı 120 kg da^{-1} solucan gübresi uygulamasında saptanırken, en düşük bitkide bakla sayısı kontrolde tespit edilmiştir (Tablo 2). [4], solucan gübresi uygulamasının bitkide bakla sayısını önemli düzeyde etkilemediğini bildirmiştir. [13] ise solucan gübresinin bitkide bakla sayısını artırdığını ifade etmişlerdir.

3.4. Bitkide Tane Sayısı

Katı solucan gübresi dozlarının ve yılların bitkide tane sayısına etkisi istatistiki açıdan önemli bulunurken, interaksiyonun etkisi önemsiz bulunmuştur. Bitkide tane sayısının 2018 yılında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 2017 yılında antraknoz hastalığı nedeniyle bitkiler olumsuz etkilenmiş ve bitkide tane sayısında düşüş gözlemlenmiştir. En yüksek bitkide tane sayısı 120 kg da^{-1} solucan gübresi uygulamasından elde edilirken, en düşük bitkide tane sayısı 30 kg da^{-1} solucan gübresi uygulamasından alınmıştır. İnteraksiyonun bitkide tane sayısına önemli bir etkisi bulunmamıştır (Tablo 3). [4], solucan gübresi uygulamasının bitkide tane sayısını önemli düzeyde etkilemediğini bildirmiştir.

3.5. 100-Tane Ağırlığı

Yılların ve solucan gübresi dozlarının 100-tane ağırlığına etkileri istatistiki bakımdan önemli bulunmuştur. İnteraksiyonun ise 100-tane ağırlığına etkisi önemli bulunmamıştır. Denemenin ilk yılında antraknoz hastalığından bitkilerin olumsuz etkilenmesi sebebiyle 100-tane ağırlığının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. En yüksek 100-tane ağırlığı değeri 120 kg da^{-1} solucan gübresi uygulamasından elde edilirken, en düşük değer ise kontrolden alınmıştır. Kontrol ve 30 kg da^{-1} solucan gübresi uygulaması arasında istatistiki bakımdan önemli bulunmamıştır (Tablo 3). Solucan gübresi dozu arttıkça, 100-tane ağırlığı da artış göstermiştir. [4] ve [13] solucan gübresi uygulamasının 100-tane ağırlığını artırdığını bildirmiştir.

3.6. Tane Verimi

Gübre dozlarının ve yılların tane verimine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Tane verimi 2017 yılında 2018 yılına göre daha düşük bulunmuştur. Bu durumun 2017 yılında bitkilerin antraknoz hastalığından olumsuz etkilenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. En yüksek tane verimi 120 kg da^{-1} solucan gübresi dozunda saptanırken, en düşük tane verimi ise kontrolde tespit edilmiştir. İnteraksiyon ise tane verimini önemli düzeyde etkilememiştir (Tablo 3). Solucan gübresi dozu arttıkça, tane verimi de artış göstermiştir. [13], [17] ve [18] da solucan gübresi uygulamasının tane verimini artırdığını bildirmişlerdir.

Tablo 3. Nohutta katı solucan gübresi uygulamalarına ait bitkide tane sayısı, 100-tane ağırlığı ve tane verimi ortalamaları ve grupları

		Bitkide tane sayısı (adet bitki^{-1})			100-tane ağırlığı (g)			Tane verimi (kg da^{-1})		
	Solucan gübresi dozları	**2017**	**2018**	**Ortalama**	**2017**	**2018**	**Ortalama**	**2017**	**2018**	**Ortalama**
	Kontrol	35,1	36,8	**35,9 BC**	31,8	32,8	**32,3 C**	171,5	175,8	**173,6 E**
	30 kg da^{-1}	34,5	35,6	**35,1 C**	32,0	32,9	**32,4 C**	174,5	182,1	**178,3 D**
	60 kg da^{-1}	35,8	36,9	**36,4 B**	32,7	34,1	**33,4 B**	180,2	183,9	**182,1 C**
	90 kg da^{-1}	35,9	36,8	**36,4 B**	33,5	35,0	**34,2 B**	188,4	192,7	**190,6 B**
	120 kg da^{-1}	38,1	38,8	**38,5 A**	35,1	36,1	**35,6 A**	201,1	205,7	**203,4 A**
	Ortalama	**35,9 B**	**37,0 A**		**33,0 B**	**34,2 A**		**183,2 B**	**188,0 A**	
	Gübre		1,027			0,805			1,589	
LSD $_{(0.05)}$	**Yıl**		1,001			0,532			1,108	
	Gübre x Yıl		ö.d.			ö.d.			ö.d.	

4. SONUÇ

Farklı dozlarda katı solucan gübresi uygulamalarının nohut bitkisinin verim ve bazı verim özelliklerine etkilerini belirlemek üzere yapılan bu çalışmada bitki boyu, ilk bakla yüksekliği, bitkide bakla sayısı, bitkide tane sayısı, 100-tane ağırlığı ve tane verimi özellikleri incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda önemli sonuçlar elde edilmiştir. İncelenen tüm özellikler bakımından en yüksek değerleri 120 kg da^{-1} katı solucan gübresi uygulaması vermiştir. En düşük değerler kontrolden elde edilmiştir. Katı solucan gübresi dozu arttıkça, bitki boyu, ilk bakla yüksekliği, bitkide bakla sayısı, bitkide tane sayısı, 100-tane ağırlığı ve tane verimi değerleri de artış göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; Siirt ili koşullarında nohut yetiştiriciliğinde tane verimini artırmak amacıyla 120 kg da^{-1} katı solucan gübresi uygulaması tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Kökten K, Boydak E, Kaplan M, Seydoşoğlu S, Kavurmacı Z. Bazı soya fasulyesi (*Glycine max* L.) çeşitlerinden yapılan silajların besin değerlerinin belirlenmesi. Türk Doğa ve Fen Dergisi. 2013; 2(2): 7-10.

[2] Kökten K, Seydoşoğlu S, Kaplan M ve Boydak E. Forage nutritive value of soybean varieties. Legume Research-An International Journal. 2014; 37(2): 201-206.

[3] FAO 2020. http://www.faostat.fao.org/beta/en/#data/OA [Ziyaret Tarihi: 10.05.2020]

[4] Uçar Ö. Farklı sıra arası mesafeleri, tavuk gübresi dozları ve tohum ön uygulamalarının nohut (*Cicer arietinum* L.)'un verim, verim öğeleri ve

nodülasyonu üzerine etkileri [Doktora Tezi]. Siirt: Siirt Üniversitesi; 2020.
[5] Ceritoğlu M, Erman M. Tane baklagillerin ekim nöbetinde kullanılması. 6. International congress on matematics, engineering, natural and medical sciences, 2019. p. 396-404.
[6] Uçar Ö, 2019. Nohut yetiştiriciliğinde organik madde içeren gübrelerin önemi. ISPEC Journal of Agricultural Sciences. 2019; 3(1): 116-127.
[7] Dere S, Coban A, Akhoundnejad Y, Ozsoy S, Dasgan YD. Use of mycorrhiza to reduce mineral fertilizers in soilless melon (*Cucumis melo* L.) cultivation. Not. Bot. Horti. Agrobo, 2019; 47(4):1331-1336.
[8] Ceritoğlu M, Şahin S, Erman M. Vermikompost üretim tekniği ve üretimde kullanılan materyaller. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 2019; 6(2): 230-236.
[9] FAO 1990. Micronutrient, assessment at the country level: An international study. *FAO Soil Bulletin by Sillanpaa*, Rome.
[10] Toğay N, Toğay Y, Erman M, Doğan Y, Çığ F. Kuru ve sulu koşullarda farklı bitki sıklıklarının bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinde verim ve verim öğelerine etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 2005; 11 (4): 417-421.
[11] Bademkıran F, Çığ A, Türkoğlu N. Nergis (*Narcissus* cv. *'Royal Connection'*) bitkisinin gelişimi üzerine katı ve sıvı solucan gübresi dozlarının etkileri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi. 2018; 5(4):676-684.
[12] Ulukapı K, Şener S. Farklı Organik Gübrelerin Tarla ve Örtüaltı Koşullarında Yetiştirilen Karnabaharın Bitki Gelişimi ve Verim Parametreleri Üzerine Etkisi. Selçuk Gıda ve Tarım Bilimleri Dergisi. 2018; 32(3): 510-515.
[13] Kumar S, Singh R, Saquib M, Singh D, Kumar A. Effect of different combinations of vermicompost, biofertilizers and chemical fertilizers on growth, productivity and profitability in chickpea (Cicer arietinum L.). Plant Archives. 2014; 14(1):267-270.
[14] Singh G, Sekhon HS, Harpreet K. Effect of farmyard manure, vermicompost and chemical nutrients on growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). International Journal of Agricultural Research. 2012; 7(2):93-99.
[15] Kayan N. Farklı gelişme dönemlerinde uygulanan sulamanın bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinde verim ve verim ögelerine etkisi. Yüzücü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi. 2012; 22(1):40-47.
[16] Yolcu R. Diyarbakır ekolojik koşullarında farklı gelişme dönemlerinde sulanan nohudun (*Cicer arietinum* L.) sulama suyu gereksinimi ve su tüketimi üzerine bir araştırma [Yüksek Lisans Tezi], Adana: Çukurova Üniversitesi, 2008.
[17] Pezeshkpour P, Ardakani MR, Paknejad F, Vazan S. Effects of vermicompost, mycorrhizal symbiosis and biophosphate soulbilizing bacteria on seed yield and quality of chickpea as autumn plantation in rain fed conditions. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 2014; 3(2): 53-58.
[18] Bhattacharjya S, Chandra R. Effect of inoculation methods of Mesorhizobium ciceri and PGPR in chickpea (*Cicer arietinum* L.) on symbiotic traits, yields, nutrient uptake and soil properties. Legume Research. 2013: 36(4): 331- 337.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.782054 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Yüksek ve Düşük Kalsiyum İçeren Uçucu Küller ile Üretilen Geopolimer Harçların Fiziksel ve Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

Mehmet KAYA[1*]

[1]Yozgat Bozok Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Yozgat, Türkiye
Mehmet KAYA ORCID No: 0000-0002-8116-0123

**Sorumlu yazar: mehmet.kaya@yobu.edu.tr*

(Alınış: 18.08.2020, Kabul: 07.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
F sınıfı uçucu kül, Geopolimer, Eğilme dayanımı, Basınç dayanımı, Aktivatör, Fiziksel özellikler

Öz: Bu çalışmada, C sınıfı ve F sınıfı uçucu külün birlikte kullanılarak geri dönüşümlerinin sağlanması ve ekonomiye kazandırılması amacıyla üretilen geopolimer harçların fiziksel ve mekanik özellikleri incelenmiştir. C sınıfı uçucu kül (UK) ile F sınıfı UK 'nın %0,%10, %20, %30, %40 ve %50 oranlarında birbirleri ile yer değiştirilmesi ile oluşturulan bağlayıcı, sodyum hidroksit (NaOH) ve potasyum hidroksit (KOH) ile ayrı ayrı aktive edilmiştir. Aktivatör/bağlayıcı oranı %10 olarak kullanılmıştır. Likit/bağlayıcı oranı 0,35, agrega/bağlayıcı oranı 3 olarak belirlenmiştir. UK, kum, aktivatör ve suyun standart çimento mikserinde karıştırılması ile hazırlanan harç numuneler, 40mm×40mm×160 mm boyutlu standart kalıplara yerleştirildikten sonra 100 °C' de 24 saat süre ile aktivasyon sıcaklığına maruz bırakılmıştır. Daha sonra numuneler 28 gün boyunca hava kürüne (22±2°C) tabi tutulmuşlardır. Hava kürünü takiben fiziksel ve mekanik deneyler gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak %60 C sınıfı ve %40 F sınıfı UK içeren ve NaOH ile üretilen numunelerde 3,8 MPa eğilme dayanımı, 28 MPa basınç dayanımı elde edilmiştir.

Investigation of Physical and Mechanical Properties of Geopolymer Mortars Produced with High and Low Calcium Content Fly Ash

Keywords
F class fly ash, Geopolymer, Flexural strength, Compressive strength, Activator, Physical properties,

Abstract: In this study, the physical and mechanical properties of geopolymer mortars produced in order to provide recycling and gain to the economy by using C class and F class fly ash (FA) together were examined. Binder, sodium hydroxide (NaOH) and potassium hydroxide (KOH), which is formed by replacing C class FA and F class FA at 0%, 10%, 20%, 30%, 40% and 50%. with individually activated. Activator/binder was used as 10%. The liquid/binder ratio was determined as 0.35, and the aggregate/binder ratio was determined as 3. Mortar samples prepared by mixing FA, sand, activator and water in a standard cement mixer were placed in standard molds of 40mm×40mm×160mm and then exposed to the activation temperature at 100 °C for 24 hours. The samples were then air cured (22 ± 2 °C) for 28 days. Physical and mechanical tests were carried out following air curing. As a result, 3.8 MPa flexural strength and 28 MPa compressive strength were obtained in samples containing 60% C class and 40% F class FA and produced with NaOH.

1. GİRİŞ

Çimento üretimi sırasında, fazla miktarda enerji tüketimi ve yüksek miktarda CO_2 gazı salınımı nedeniyle, çimentoya alternatif bağlayıcı yapı malzemesi üretimine yönelik çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır. Bazı kaynaklarda çimento üretimindeki enerji maliyetinin %20-%40 olduğu [1-3], bazılarında ise enerji maliyetinin %59,1'e ulaştığı belirtilmektedir [4]. 1 ton çimento üretimi sonucu yaklaşık 1 ton CO_2 açığa çıkmaktadır. Küresel CO_2 salınımın tahmini %5-7' si çimento tesislerinden kaynaklanmaktadır [5]. Dünyada çimento tüketimi 2019 yılı itibariyle tahmini 102 milyon tona ulaşmıştır [6]. Buna bağlı olarak fosil yakıt kaynaklı CO_2 salınımın ise yaklaşık 1.5 Gigaton olduğu bilinmektedir [7]. Diğer taraftan, dünya genelinde enerji ihtiyacının karşılanması için fosil yakıtların kullanımı oldukça yaygındır. Elektrik ihtiyacının bir kısmı da termik santrallerde kömürün yakılması ile sağlanmaktadır. Kömürün yanması sonucu hem yakma ünitesi tabanında hem de termik santral bacasında kül oluşmaktadır [8]. Yanmış kömür atığı olan taban külü ve bacadan çıkan UK, çevreyi kirletici etkisinin yanı sıra, depolanma gibi

atık yönetimi sorunlarına neden olmaktadır. Kömürün yakılması sonucu oluşan uçucu külün dünyada 2015 yılı itibariyle 750 milyon tona ulaştığı belirtilmektedir [9]. ASTM C618–19 'a göre, bitümlü kömürden elde edilen ve içeriğindeki SiO_2+Al_2O_3+Fe_2O_3 miktarı %70 ve fazlası olan UK, F sınıfı olarak tanımlanmaktadır. Yarı bitümlü kömürden elde edilen ve içeriğindeki SiO_2+Al_2O_3+Fe_2O_3 miktarı %50'den fazla olan UK ise C sınıfı olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca C sınıfı UK sınıflandırmasında CaO oranın %10 üzerinde olduğu belirtilmektedir [10]. Son yıllarda UK, yüksek fırın cürufu ve silis dumanı gibi endüstriyel atıkların geri dönüşümünün sağlanması önem kazanmıştır [11-13]. UK, yüksek fırın cürufu, silis dumanı gibi endüstriyel atıklar ile kaolin, kil, kireç ve kırmızı çamur gibi doğal malzemelerin çeşitli alkaliler ile aktivasyonu sağlanarak bağlayıcı üretilebilmektedir [14-18]. Bu şekilde üretilen bağlayıcılar ile üretilen betonlara geopolimer beton ismi verilmektedir [19]. Aktivasyon işleminde sodyum hidroksit (NaOH) [20], potasyum hidroksit (KOH) [21], sodyum silikat (Na_2SiO_3) [22], potasyum silikat (K_2SiO_3)[23] gibi alkali aktivatörler kullanılmaktadır. Bu aktivatörler tek başına kullanılabildiği gibi, NaOH+Na_2SiO_3 ve KOH+K_2SiO_3 karışımı biçiminde kullanılabilmektedir [24-25]. Geleneksel portland çimentoda görülen C-S-H jeli, alkali aktivasyonu ile üretilen geopolimerlerde N-A-S-H veya C-A-S-H jeli olarak gözlenmektedir [26-27]. Geopolimerin dayanım mekanizmasında bu jelin etkisi büyüktür. Bununla birlikte karışımda kullanılan cüruf ve UK gibi bağlayıcıların yapısındaki Si/Al oranlarının da bağ yapısı üzerinde etkileri bulunmaktadır [28-29]. UK içeren geopolimerin dayanım kazanması için sıcaklık kürüne ihtiyaç duyulmaktadır [20,24]. Yüksek fırın cürufu ve metakaolin esaslı geopolimerlerde 60 °C-80 °C sıcaklık dayanım için yeterli olurken [30-31], UK esaslı geopolimerlerde 80°C-110°C aralığında sıcaklık gerekmektedir [20,24]. Dayanım mekanizmasında kür sıcaklığı, kür süresi, kömürün yanmasına bağlı olarak bağlayıcı kalitesi, bağlayıcı içeriği, agrega cinsi, su miktarı, aktivatör oranı, aktivatör cinsi, kür şartları gibi unsurlar önemlidir [20,32-34]. Geopolimer betonlar geleneksel betonlara kıyasla, erken ve yüksek dayanım, yüksek sıcaklık, donma-çözülme, ıslanma-kurumaya ve aşınma karşı daha dirençli olup, daha düşük kuruma büzülmesi gösterirler [20,24,35-36]. Buna karşılık bazı çalışmalarda asit ve sülfatlara karşı dirençleri geleneksel betonlardan daha düşük olduğunu belirtilmektedir[37]. Bazı çalışmalarda ise asit ve ağır metallere karşı dirençli olduğu belirtilmektedir [38-39]. Literatürde F sınıfı UK ile geopolimer üretme çalışmaları yoğun biçimde gözlenirken, C sınıfı uçucu kül, aktivasyon zorluğu, erken priz ve düşük dayanım gibi sorunları nedeniyle, geopolimer üretim çalışmalarında çok yaygın kullanılmamaktadır [40]. Bu çalışmada, C sınıfı uçucu külün erken priz, düşük dayanım, sülfatlara karşı direnç gibi özelliklerinin iyileştirilmesi ve geopolimer üretiminde yaygın olarak kullanılmasının sağlanması amacıyla, F sınıfı UK ile karıştırılarak geopolimer harç üretimi yapılmıştır. Üretilen harçlar üzerinde, yayılma tablası deneyi, birim ağırlık, su emme oranı, boşluk oranı, ultrases geçiş hızı gibi fiziksel deneylerin yanı sıra eğilme ve basınç dayanımı deneyleri yapılmıştır. Yüksek dayanım sağlayan uçucu kül oranları tespit edilmiştir.

2.MATERYAL ve YÖNTEM

2.1.Materyal

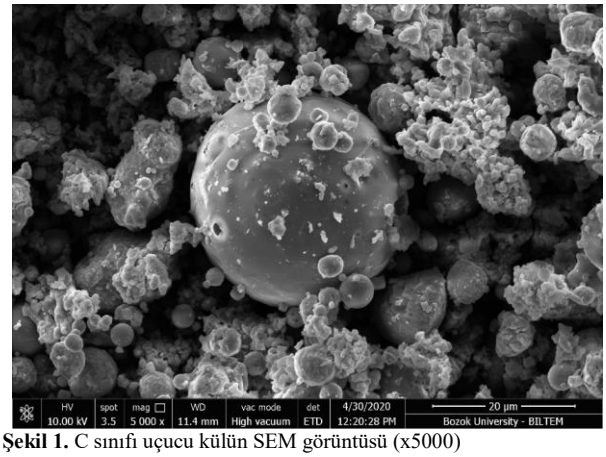
2.1.1.Uçucu kül (UK)

Çalışmada kullanılan C sınıfı UK, Soma Termik Santrali'nden, F sınıfı UK ise Tunçbilek Termik santralinden tedarik edilmiştir. Uçucu Küllerin kimyasal ve fiziksel özellikleri Tablo 1' de gösterilmiştir. C sınıfı uçucu külde Al_2O_3+SiO_2+Fe_2O_3 oranının %54,63, F sınıfı uçucu külde ise Al_2O_3+SiO_2+Fe_2O_3 oranının ise %90,6 olduğu görülmektedir.

Tablo 1. Uçucu küllerin kimyasal ve fiziksel özellikleri

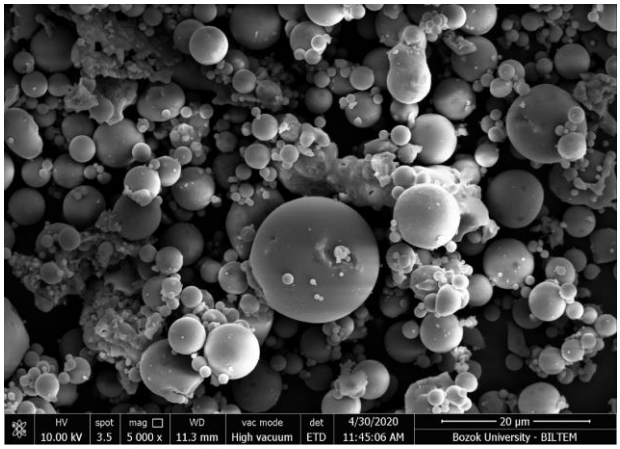
UK	C	F
Kimyasal Özellikler	(%)	(%)
MgO	3,12	3,68
Al_2O_3	14,2	21,41
SiO_2	35,01	58,73
SO_3	7,56	0,25
Na_2O	1,21	0,28
Ka_2O	1,06	1,65
CaO	25,75	1,88
Fe_2O_3	5,42	10,46
Çözünmez kalıntı	24,21	24,33
Kızdırma kaybı	6,02	0,64
Toplam	99,35	98,98
SiO_2/Al_2O_3	2,46	2,74
Fiziksel Özellikler		
Özgül ağırlık , (ton m^{-3})	2,72	2,24
45 mikron elek üstünde kalan, (%)	44,3	4,9
Blaine özgül yüzey , cm^2 g^{-1}	3320	3703

C sınıfı uçucu külün taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (SEM) Şekil 1' de gösterilmiştir. C sınıfı uçucu külde 1-20 mm arasında değişen kürecik taneler gözlenmektedir. Bu taneciklerin yüzeyi pürüzlü olup, çoğunluğu düzensiz şekildedir.



Şekil 1. C sınıfı uçucu külün SEM görüntüsü (x5000)

F sınıfı uçucu külün taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (SEM) Şekil 2' de gösterilmiştir. F sınıfı UK tanelerinin belirgin şekilde küresel ve camsı yapıda olduğu gözlenmektedir.



Şekil 2. F sınıfı uçucu külün SEM görüntüsü (x5000)

2.1.2. Sodyum hidroksit (NaOH)

Çalışmada kullanılan sodyum hidroksitin (NaOH), Ankara' da faaliyet gösteren Emir Kimya Firması'ndan temin edilmiş olup, kimyasal özellikleri Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. NaOH'un özellikleri

Sodyum Hidroksit (NaOH)	
Molekül ağırlığı	40 g.mol^{-1}
Asidimetrik	≥97
Na_2CO_3	≤1
Cl	<0,01
SO_4	≤0,01
Ağır metal	≤0,002
Al	≤0,002
Fe	≤0,002

2.1.3. Potasyum hidroksit (KOH)

Çalışmada kullanılan sodyum hidroksitin (KOH), Ankara' da faaliyet gösteren Emir Kimya Firması'ndan temin edilmiş olup kimyasal özellikleri Tablo 3' de verilmiştir.

Tablo 3. KOH'un özellikleri

Potasyum Hidroksit (KOH)	
Molekül ağırlığı	56,11 g.mol^{-1}
Yoğunluk	2,04 g.cm^{-3}
Erime Noktası	406 °C
Kaynama Noktası	1320 °C

2.1.4. Agrega ve su

Çalışmada, en büyük tane çapı 4 mm olan kalker kökenli agrega kullanılmış olup, özgül ağırlığı 2,64 ton.m^{-3}, su emme oranı ise % 0,95 tir. Deneysel çalışmalarda musluk suyu kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

Çalışmada C sınıfı UK ile F sınıfı UK, %0, %10, %20, %30, %40 ve %50 oranlarında yer değiştirmek suretiyle karıştırılıp bağlayıcı olarak kullanılmıştır. UK karışımlarından bir grup, bağlayıcı ağırlığına oranla %10 sodyum (Na) içeren NaOH ile aktive edilerek geopolimer harç numuneler hazırlanmıştır. Diğer grup UK karışımları ise bağlayıcı ağırlığına oranla %10 potasyum (K) içeren KOH ile aktive edilerek, geopolimer harç numuneler hazırlanmıştır. C sınıfı uçucu külde bulunan fazla miktardaki CaO içeriğinin bağlayıcılık üzerine etkisi dikkate alınarak aktivatör oranı düşük tutulmuştur. Toplamda 22 seri harç numunesi üretilmiştir. Harç numunelerin tamamında agrega/bağlayıcı oranı 3, likit/bağlayıcı oranı 0,35 olarak kullanılmıştır. Karışımlar standart çimento mikserinde hazırlanmış olup, ilk önce UK ve kum 1 dakika kuru olarak karıştırılmıştır. Daha sonra suda çözünmüş ve oda sıcaklığına kadar soğutulmuş aktivatör karışımı miksere ilave edilerek 2 dakika daha karıştırma işlemi yapılmıştır. Harç karışımları kalıba yerleştirilmeden önce TS EN 12350-5:2019 standardına uygun olarak yayılma tablası deneyi yapılmıştır [41]. Daha sonra harç karışımları 40 mm×40 mm×160 mm boyutlarındaki standart kalıplara yerleştirilerek etüve konulmuştur. Kalıplar etüvde 100 °C sıcaklıkta 24 saat süre sıcaklık kürüne maruz bırakılmıştır. Etüvden çıkarılan numuneler kalıplardan sökülerek oda sıcaklığında 28 güne kadar bekletilmiştir. 28 gün sonunda numuneler üzerinde birim ağırlık, su emme, boşluk oranı, ve ultrases geçiş hızı deneyleri yapılmıştır. Numuneler üzerinde TS EN 1015-11 standardına göre eğilme ve basınç deneyleri uygulanmıştır [42]. Basınç deneyinden sonra tamamı C sınıfı ve F sınıfı UK içeren numuneler ile en yüksek dayanıma sahip numunelerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri incelenmiştir. Numune kodlamalarında C sınıfı kül içeriği C ile F sınıfı UK içeriği ise F ile belirtilmiştir. Örnek olarak, C100-F0 kodlu numune ağırlıkça %100 C sınıfı UK içeren numuneyi temsil ederken, C40-F60 ise ağırlıkça %40 C sınıfı UK ile %60 F sınıfı UK içeren numuneyi temsil etmektedir. Bazı çalışmalarda uçucu külün işlenebilirlik ve dayanım açısından optimum su/bağlayıcı oranın 0,28-0,40 arasında olduğu belirtilmektedir [20,32-35]. Bu çalışmada likit/UK oranı 0,35 olarak alınmıştır. Tablo 4' te numunelerin karışım oranları verilmiştir.

Tablo 4. Numunelerin karışım oranları

Numune Kodu	UK (C) g	UK (F) g	Kum (g)	Aktivatör /UK (%)	Likit/UK (%)
C100-F0	450	0	1350	10	0,35
C90-F10	405	45	1350	10	0,35
C80-F20	360	90	1350	10	0,35
C70-F30	315	135	1350	10	0,35
C60-F40	270	180	1350	10	0,35
C50-F50	225	225	1350	10	0,35
C40-F60	180	270	1350	10	0,35
C30-F70	135	315	1350	10	0,35
C20-F80	90	360	1350	10	0,35
C10-F90	45	405	1350	10	0,35
C0-F100	0	450	1350	10	0,35

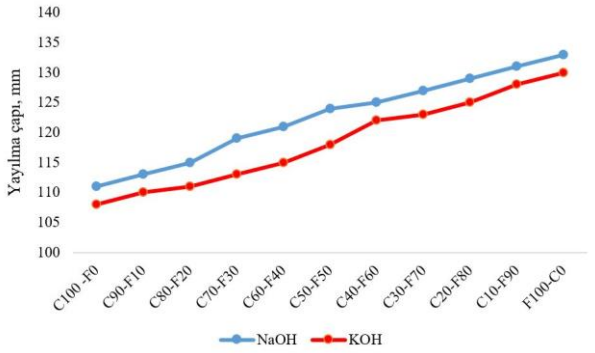
Numuneler içerisindeki UK karışımlarının SiO_2/Al_2O_3 ve CaO/Al_2O_3 oranları, basınç dayanımları ile karşılaştırılmak amacıyla Tablo 5' te verilmiştir.

Tablo 5. Numunelerin SiO_2/Al_2O_3 ve CaO/Al_2O_3 oranları

Numune Kodu	SiO_2/Al_2O_3	CaO/Al_2O_3
C100-F0	2,46	1,81
C90-F10	2,48	1,64
C80-F20	2,52	1,47
C70-F30	2,54	1,29
C60-F40	2,57	1,12
C50-F50	2,6	0,95
C40-F60	2,63	0,78
C30-F70	2,66	0,61
C20-F80	2,68	0,43
C10-F90	2,71	0,26
F100-C0	2,74	0,09

3. DENEY SONUÇLARI

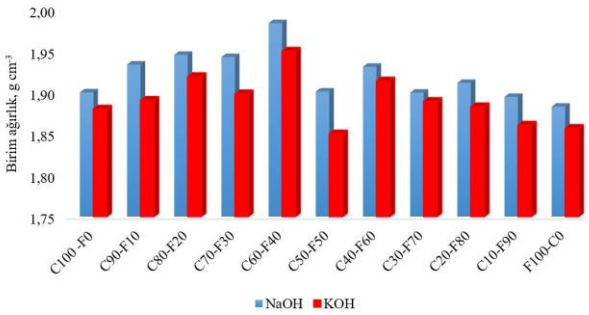
3.1. Yayılma Tablası Deney Sonuçları



Şekil 3. Numunelerin yayılma tablası değerleri

Numunelerin yayılma tablası değerleri Şekil 3'te verilmiştir. Numunelerin yayılma tablası deney sonuçları incelendiğinde, karışım içerisinde F sınıfı UK miktarının artışı işle birlikte yayılma değerlerinin arttığı tespit edilmiştir. NaOH ile üretilen numunelerin yayılma tablasındaki yayılma çapları 111 mm ile 133 mm arasında değişiklik gösterirken KOH ile üretilen numunelerin yayılma tablasındaki yayılma çapı değerleri ise 108 mm ile 130 mm arasında değişiklik göstermektedir. NaOH ile üretilen numuneler, KOH ile üretilen numunelere kıyasla tabla üzerinde daha fazla yayılma göstermişlerdir. Literatürde, F sınıfı UK kullanılarak NaOH ile üretilen, bağlayıcı/su oranı 0,30 olan ve %9 Na içeren numunelerde ve yayılma tablası değerinin 100 mm ve 102 mm arasında değiştiği belirtilmektedir [35]. F sınıfı ve C sınıfı UK ayrı ayrı kullanılarak $NaOH+Na_2SiO_3$ karışımı ile geopolimer harç üretilen başka bir çalışmada ise, F sınıfı UK ile üretilen numunelerde yayılma değerinin 122 mm olduğu, C sınıfı UK kül ile üretilen numunelerde ise yayılma değerinin 109 mm olduğu belirtilmektedir [27]. Numunelerde yayılma değerleri arasında farkın az olması, sabit aktivatör ve su miktarından kaynaklanmaktadır. C sınıfı uçucu külün bağlayıcılık özelliğinin bulunması yayılma değerlerini azaltıcı bir unsur olarak gözlenmektedir [43]. NaOH'un, KOH' a kıyasla daha fazla aktivasyon özelliği göstermesinden dolayı, NaOH ile üretilen numunelerde, KOH ile üretilen numunelere kıyasla daha fazla yayılma değeri gözlenmiştir. Bu durum NaOH ile üretilen numunelerde işlenebilirliğin daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır [44].

3.2. Birim Ağırlık Deney Sonuçları

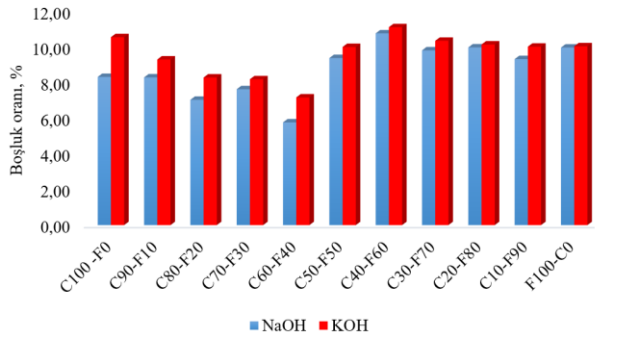


Şekil 4. Numunelerin birim ağırlıkları

Numunelerin birim ağırlıkları Şekil 4' te verilmiştir. NaOH ile imal edilen numunelerin birim ağırlıkları 1,88 gr cm^{-3} ile 1,98 gr cm^{-3} arasında değişirken, KOH ile üretilen numunelerin birim ağırlıkları 1,85 gr cm^{-3} ile 1,95 gr cm^{-3} arasında değişmektedir. En büyük birim ağırlık %60 C sınıfı UK, %40 F sınıfı UK içeren numunelerden NaOH ile üretilenlerde 1,98 gr cm^{-3}, KOH ile üretilen numunelerde ise 1,95 gr cm^{-3} olarak belirlenmiştir. NaOH ile üretilen numunelerin birim ağırlıkları KOH ile üretilen numunelerin birim ağırlıklarından daha yüksektir. İki farklı F sınıfı uçucu külün NaOH ile aktive edilmesi ile geopolimer harçların üretildiği bir çalışmada, %9 Na içeriğine sahip, 24 saat 100 °C' sıcaklık küründe tutulan numunelerde, birim ağırlığın 2,04 ve 2,13 gr cm^{-3} olduğu belirlenmiştir [35]. Başka bir çalışmada ise C sınıfı UK ile üretilen geopolimer harçlarda birim ağırlığın 1,77-1,97 gr cm^{-3}, F sınıfı UK ile üretilen geopolimer harçlarda ise birim ağırlığın 1,57-2,05 gr cm^{-3} arasında değiştiği belirtilmiştir [37]. NaOH, KOH'a kıyasla daha etkin aktivasyon özelliği göstermekte ve daha kuvvetli bağ yapısı oluşturmaktadır [44]. Bu sebeple NaOH ile üretilen numunelerin birim ağırlıkları KOH ile üretilen numunelerin birim ağırlıklarından daha büyüktür. Bunun yanı sıra birim NaOH ve KOH ile üretilen numuneler arasındaki birim ağırlık farkı fazla belirgin değildir.

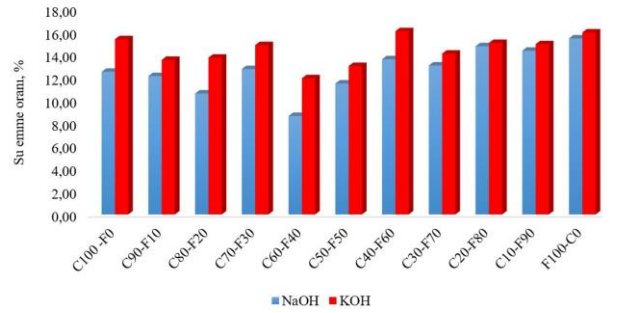
3.3. Boşluk Oranı ve Su Emme Oranı Deney Sonuçları

Numunelerin boşluk oranları Şekil 5'te verilmiştir. NaOH ile üretilen numunelerde boşluk oranı %5,76-%10,75 arasında değişirken, KOH ile üretilen numunelerde ise %7,16 -%11,10 arasında değişmektedir. En düşük boşluk oranı, %60 C sınıfı %40 F sınıfı UK içeren ve NaOH ile üretilen numunelerde %5,76, KOH ile üretilen numunelerde ise numunelerde %7,16 gözlenmiştir.



Şekil 5. Numunelerin boşluk oranları

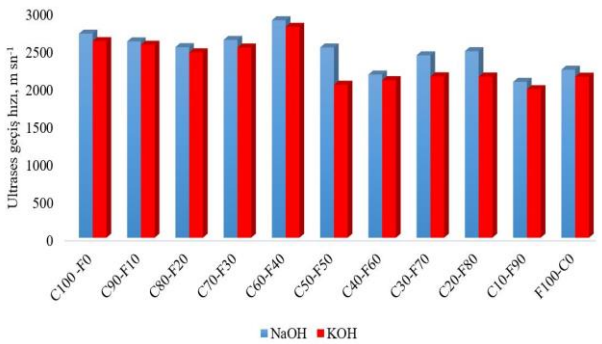
En büyük boşluk oranı ise %40 C sınıfı %60 F sınıfı UK içeren C40-F60 numunelerinde tespit edilmiştir. NaOH ile üretilen C60-F40 numunesinde boşluk oranı %10,75, KOH ile üretilen C60-F40 numunesinde ise %11,10 olarak belirlenmiştir. NaOH ile üretilen numunelerin boşluk oranları KOH ile üretilen numunelerin boşluk oranlarından daha azdır. Numunelerin boşluk oranları arasındaki bu fark fazla belirgin değildir. Karışımlardaki sodyum/bağlayıcı ile potasyum/bağlayıcı oranlarının %10 olarak aynı kullanılması, NaOH ve KOH ile aktive üretilmiş numunelerde boşluk oranlarının belirgin farklılık göstermemesine sebep olmuştur. Literatürde tamamı F sınıfı UK ile üretilmiş geopolimer numunelerde boşluk oranını %9-10 civarında olduğu belirtilmektedir [37].



Şekil 6. Numunelerin su emme oranları

Numunelerin su emme oranları Şekil 6'da verilmiştir. Su emme oranları, NaOH ile üretilen numunelerde %8,63-%15,44 arasında gözlenirken KOH ile üretilen numunelerde ise %11,94-%16,07 arasında değişiklik göstermektedir. En düşük su emme oranı %60 C sınıfı %40 F sınıfı UK içeren ve NaOH ile üretilen numunelerde % 8,63, KOH ile üretilen numunelerde ise numunelerde %11,94 olarak gözlenmiştir. NaOH ile üretilen C0-F100 numunesinde su emme oranı %15,44, KOH ile üretilen C60-F40 numunesinde ise %16,07 olarak belirlenmiştir. KOH ile üretilen numunelerin su emme oranları NaOH ile üretilen numunelerin su emme oranlarından belirgin olmamakla birlikte bir miktar daha fazladır. KOH aktivasyonunun NaOH aktivasyonuna kıyasla daha az olması, numunelerde bağlayıcılık özelliğini de etkilemektedir [44]. Bu sebeple boşluk miktarının artışı ile birlikte su emme özelliğinin de artış gösterdiği bilinmektedir [35,37].

3.4. Ultrases Geçiş Hızı Deneyi Sonuçları

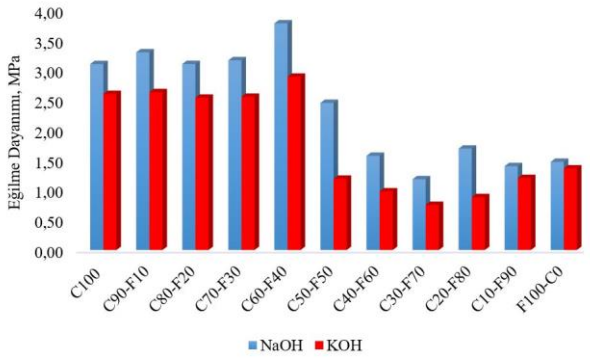


Şekil 7. Numunelerin ultrases geçiş hızları

Numunelerin ultrases geçiş hızları Şekil 7' de verilmiştir. Ultrases geçiş hızları NaOH ile üretilen numunelerde 2065-2882 m sn^{-1} arasında, KOH ile üretilen numunelerde ise 1967-2794 m sn^{-1} arasında değişiklik göstermektedir. En yüksek ultrases geçiş hızı değeri, %60 C sınıfı UK, %40 F sınıfı UK içeren ve NaOH ile aktive edilmiş numunelerde 2882 m sn^{-1}, KOH ile aktive edilen numunelerde ise 2794 m sn^{-1} olarak tespit edilmiştir. En düşük ultrases geçiş hızı değeri ise %10 C sınıfı UK, %90 F sınıfı UK içeren ve NaOH ile aktive edilmiş numunelerde 2065 m sn^{-1}, KOH ile aktive edilen numunelerde ise 1967 m sn^{-1} olarak tespit edilmiştir. NaOH ile üretilen numunelerin ultrases geçiş hızları KOH ile üretilen numunelerin ultrases geçiş hızlarından daha yüksektir. Boşluk oranın artışı ile birlikte ultrases geçiş hızlarında da azalma görülmektedir [44]. F sınıfı UK kullanılarak geopolimer üretilen bir çalışmada 100 °C' de 24 saat kür edilerek üretilen numunelerin 28 gün sonraki ultrases geçiş hızları 2514 m sn^{-1}, C sınıfı UK kullanılarak üretilen numunelerin ultrases geçiş hızı ise 1600 m sn^{-1} olarak tespit edilmiştir [32]. Ağırlıkça %9 Na içeren aktivatör ile farklı iki kaynaktan saplanan F sınıfı UK ile üretilen geopolimer numunelerde 3825 m sn^{-1} ve 3175 m sn^{-1} ultrases geçiş hızı tespit edilmiştir [35]. Boşluk oranının artmasına bağlı olarak ultrases geçiş hızları azalma göstermektedir.

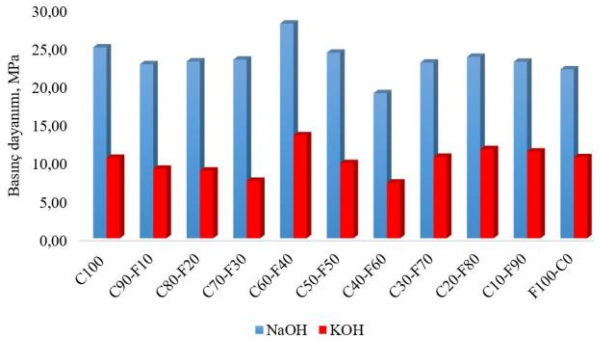
3.5. Eğilme Dayanımı Deneyi Sonuçları

Şekil 8' de numunelerin eğilme dayanımları verilmiştir. 28 günlük eğilme dayanımları, NaOH ile aktive edilmiş numunelerde 1,2 MPa-3,8 MPa arasında, KOH ile aktive edilmiş numunelerde ise 0,8 MPa-2,9 MPa arasında değişiklik göstermektedir. En yüksek eğilme dayanımı, NaOH ve KOH ile aktive edilmiş C60-F40 numunelerinde gözlenmiş olup, sırasıyla 3,8 MPa ve 2,9 MPa olarak tespit edilmiştir. En düşük eğilme dayanımları ise C30-F70 numunelerinde NaOH ile aktive edilmiş olanlarda 1,2 MPa, KOH ile aktive edilmiş olanlarda ise 0,8 MPa olarak tespit edilmiştir. Karışım içerisindeki F sınıfı UK miktarının %50 ve üzerine çıkması ile birlikte eğilme dayanımlarında belirgin azalmalar gözlenmiştir. Düşük aktivatör oranlarında C sınıfı uçucu külün yapısında bulunan fazla CaO miktarı bağ yapısı ve dayanım üzerinde etkili olmaktadır [43]. CaO'nun bağlayıcı özelliği nedeniyle fazla miktarda C sınıfı UK içeren numunelerde eğilme dayanımı daha yüksek değerlere ulaşmıştır.



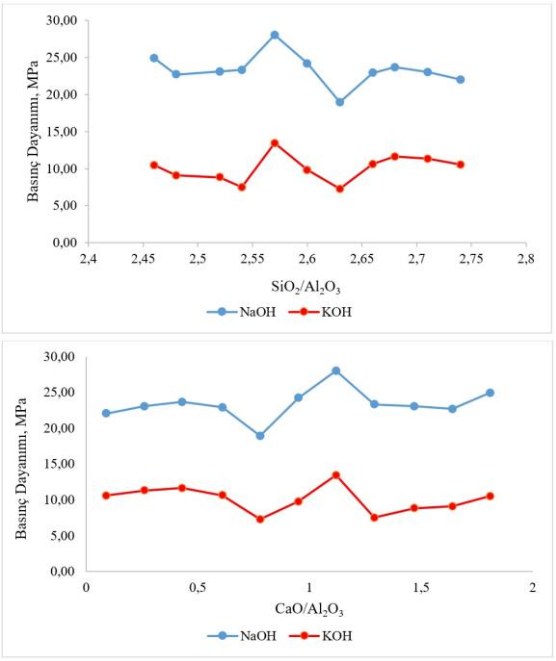
Şekil 8. Numunelerin eğilme dayanımları

3.6. Basınç Dayanımı Deneyi Sonuçları



Şekil 9.Numunelerin basınç dayanımları

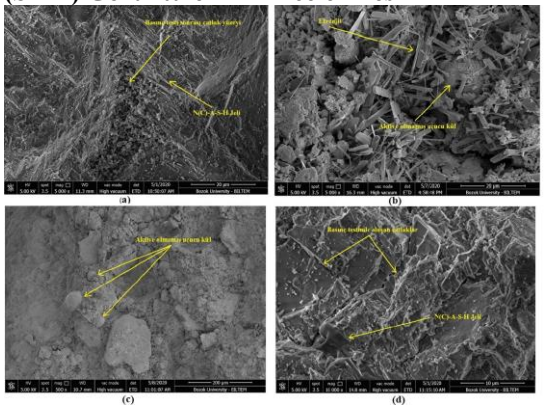
Numunelerin basınç dayanımları Şekil 9' da verilmiştir. 28 günlük basınç dayanımları, NaOH ile aktive edilmiş numunelerde 18,9 MPa-28 MPa arasında, KOH ile aktive edilmiş numunelerde ise 7,3 MPa-13,4 MPa arasında değişiklik göstermektedir. En yüksek basınç dayanımı, NaOH ve KOH ile aktive edilmiş C60-F40 numunelerinde sırasıyla 28 MPa ve 13,4 MPa olarak tespit edilmiştir. En düşük basınç dayanımları ise C40-F60 numunelerinde NaOH ile aktive edilmiş olanlarda 18,9 MPa, KOH ile aktive edilmiş olanlarda ise 7,3 MPa olarak tespit edilmiştir. NaOH ile üretilmiş numunelerin basınç dayanımları KOH ile üretilen numunelerin basınç dayanımlarından daha yüksektir. Geopolimer harçlarda, kullanılan alkali aktivatör miktarı ve tipinin dayanım üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. NaOH ile üretilen geopolimerlerde, özellikle yüksek dayanım için 12 M ve üzeri karışımlarda belirgin dayanım artışı gözlenmektedir [45]. NaOH ile KOH aktivatörler karşılaştırıldığında KOH'un iyonik çapının küçük olması ve aktivasyon özelliğinin daha düşük olması sebebiyle, NaOH a göre daha düşük dayanım kazandırma özelliğine sahip olduğu bilinmektedir. [28, 46-47].



Şekil 10. Numunelerin basınç dayanımlarının SiO_2/Al_2O_3 ve CaO/Al_2O_3 oranlarına göre değişimi

Numunelerin basınç dayanımlarının SiO_2/Al_2O_3 ve CaO/Al_2O_3 oranlarına göre değişimi Şekil 10' da verilmiştir. NaOH ve KOH ile üretilen numunelerde en yüksek dayanıma sahip C60-F40 numunelerinin SiO_2/Al_2O_3 oranı 2,57 olarak belirlenmiştir. En düşük dayanıma sahip C40-F60 numunelerinin ise SiO_2/Al_2O_3 oranı 2,63 olarak belirlenmiştir. Literatürde Si/Al atomik oranının dayanım üzerinde etkili olduğu, özellikle SiO_2/Na_2O oranının Si/Al atomik oranını artırdığı belirtilmektedir. Si/Al oranının 1,5 civarında olması dayanımı belirgin şekilde artırmaktadır [28,48-49]. NaOH ve KOH ile üretilen numunelerde en yüksek dayanıma sahip C60-F40 numunelerinin CaO/Al_2O_3 oranı 1,12 olarak belirlenmiştir. En düşük dayanıma sahip C40-F60 numunelerinin ise CaO/Al_2O_3 oranı 0,78 olarak belirlenmiştir. CaO içeriğinin ortam sıcaklığında kür edilen geopolimerlerde dayanımı artırdığı, yüksek sıcaklıklarda kür edilenlerde ise dayanımı olumsuz etkilediği bilinmektedir [50]. Diğer taraftan CaO içeriğinin N(C)-A-S-H jeli oluşumunda da önemli etkisi bulunmaktadır [48].

3.7.Numunelerin Taramalı Elektrom Mikroskobu (SEM) Görüntülerinin İncelenmesi



Şekil 11. Numunelerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri

Numunelerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 11'de verilmiştir. Şekil 11(a) da, NaOH ile aktive edilen %100 C sınıfı UK içeren numunenin basınç deneyi sonrasındaki SEM görüntüsü verilmiştir. Görüntünün incelenmesi sonucu, numune yüzeyinde N(C)-A-S-H jeli gözlenmiştir. Şekil 11 (b)' de görüldüğü üzere, %100 F sınıfı UK ile üretilmiş numunede ise etrenjit oluşumu gözlenmiştir. %100 C sınıfı uçucu külün KOH ile aktive edilmesi sonucu üretilmiş numunede ise zayıf aktivasyon yüzeyi görülmektedir. Numune görüntülerinde aktive olmamış UK taneleri görülmektedir. KOH ile aktive edilmiş numunelerin basınç dayanımlarının NaOH ile aktive edilmiş numunelerin basınç dayanımlarının daha düşük olması, zayıf aktivasyondan kaynaklanmaktadır. Şekil 11(c) incelendiğinde, KOH ile üretilmiş numune yüzeyinde belirgin N(C)-A-S-H jeli gözlenememiştir. Buna karşılık Şekil 11(d)' de görüldüğü gibi %60 C sınıfı ve %40 F sınıfı UK içeren ve NaOH kullanılarak üretilmiş C60-F40 numunesinde yüzeyinde belirgin N(C)-A-S-H jeli gözlenmektedir. C60-F40 numunesi, diğer deney numuneleri arasında en yüksek basınç dayanımına sahip numunedir. Dayanım üzerinde N(C)-A-S-H jeli oluşumunun büyük etkisi bulunmaktadır [26-27,48]. Literatürde, NaOH ve KOH ile üretilen geopolimer numunelerin içyapıları karşılaştırıldığında, NaOH ile üretilen numune yüzeylerinin daha yoğun ve daha homojen bir yapıya sahip olduğu belirtilmektedir [46].

4.SONUÇ

Bu çalışmada, geopolimer üretiminde C sınıfı UK'nın yaygın olarak kullanılmasını sağlamak amacıyla, farklı oranlarda C sınıfı ve F sınıfı UK birlikte kullanılarak geopolimer harç numuneler üretilmiştir. Üretilen numunelerin fiziksel ve mekanik özellikleri incelenerek, özellikle SiO_2/Al_2O_3 ve CaO/Al_2O_3 oranlarının dayanım üzerine etkisi araştırılmıştır. Deneysel çalışmalardan aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- NaOH ile üretilen numunelerin yayılma tablasındaki yayılma çapı değerlerinin, KOH ile üretilen numunelerin yayılma çapı değerlerinden daha büyük olduğu tespit edilmiştir.
- En büyük birim ağırlık %60 C sınıfı UK, %40 F sınıfı UK içeren numunelerden NaOH ile üretilenlerde 1,98 gr cm^{-3}, KOH ile üretilen numunelerde, 1,95 gr cm^{-3} olarak belirlenmiştir.
- NaOH ile üretilen numunelerin boşluk oranları, KOH ile üretilen numunelerin boşluk oranlarından daha düşük olarak tespit edilmiştir. En düşük boşluk oranı, %60 C sınıfı %40 F sınıfı UK içeren ve NaOH ile üretilen numunelerde %5,76, KOH ile üretilen numunelerde ise numunelerde %7,16 gözlenmiştir.
- En yüksek ultrases geçiş hızı değeri NaOH ve KOH kullanılarak üretilen %60 C sınıfı UK, %40 F sınıfı UK içeren numunelerde tespit edilmiştir. En düşük ultrases geçiş hızı değeri ise %10 C sınıfı UK, %90 F sınıfı UK içeren numunelerde tespit edilmiştir.
- Aktivatör/bağlayıcı oranı %10 kullanılarak, NaOH ve KOH ile üretilen numunelerin basınç ve eğilme dayanımları karşılaştırıldığında, NaOH ile üretilen numunelerin daha yüksek basınç ve eğilme dayanımına sahip olduğu belirlenmiştir.
- NaOH ile üretilen numunelerde, %60 C sınıfı ve %40 F sınıfı UK içeren C60-F40 numunesinde 3,8 MPa eğilme dayanımı, 28 MPa basınç dayanımı, en yüksek dayanım olarak tespit edilmiştir. KOH ile aktive edilmiş numunelerde ise %60 C sınıfı ve %40 F sınıfı UK içeren NaOH ile üretilen C60-F40 numunesinde 2,9 MPa eğilme dayanımı, 13,4 MPa basınç dayanımı, en yüksek dayanım olarak belirlenmiştir.
- En yüksek basınç dayanımı tespit edilen numunelerde SiO_2/Al_2O_3 oranının 2,57, CaO/Al_2O_3 oranının ise 1,12 olduğu gözlenmiştir.
- Tamamı F sınıfı UK ile üretilmiş ve NaOH ile aktive edilmiş numunelerde etrenjit oluşumu görülmüştür.
- Numuneler içerisinde, fiziksel ve mekanik özellikler açısından NAOH ile üretilen, %60 C sınıfı ve %40 F sınıfı UK içeren karışımın optimum karışım oranı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Bhagath Singh G. V. P. and Subramaniam K. V. L. Production and characterization of low-energy Portland composite cement from post-industrial waste, Journal of Cleaner Production, 2019; 239: 118024.

[2] Wang J, Dai Y Gao, L. Exergy analyses and parametric optimizations for different cogeneration power plants in cement industry, Applied Energy, 2009; 86(6): 941-948.

[3] Zhang W, Maleki A, Khajeh M. G, Zhang Y, Mortazavi S. M, Vasel-Be-Hagh A. A novel framework for integrated energy optimization of a cement plant: An industrial case study, Sustainable Energy Technologies and Assessments, 2019; 35: 245-256

[4] Çimento Sektör Raporu (2019), Sanayi ve Verimlilik Genel Müdürlüğü, https://www.sanayi.gov.tr/plan-program-raporlar-ve-yayinlar/sektor-raporlari/mu0303011402 (05.07.2020)

[5] Habert G, Ouellet-Plamondon C. Recent update on the environmental impact of geopolymers, RILEM Tech. Lett. 1 (2016): 17–23.

[6] https://www.statista.com/statistics/267364/world-cement-production-by-country/ (10.06.2020)

[7] https://essd.copernicus.org/preprints/essd-2019-152/essd-2019-152.pdf, (07.06.2020)

[8] Yılmaz B, Erdoğmuş E, Erdoğan Y. Uçucu Kül taban külü ve wallostonit katkılı çimentolara sodyum karbonat ilavesinin etkisinin incelenmesi, Yapılarda Kimyasal Katkılar Sempozyumu, İnşaat Mühendisleri Odası, Kongre Sempozyum Bildiriler Kitab.2005.

[9] Fan, F, Liu, Z, Xu, G, Peng, H, Cai, C.S. Mechanical and thermal properties of fly ash based geopolymers. Construct. Build. Mater. 2018; 160: 66e81.

[10] ASTM C618–19, Standard Specification for Coal Fly Ash and Raw or Calcined Natural Pozzolan for Use in Concrete.
[11] Raijiwala DB, Patil HS. , Geopolymer concrete A green concrete, 2010 2nd International Conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering. ICBEE 2010.
[12] Provis JL. Green concrete or red herring–future of alkali-activated materials, Advances in Applied Ceramics. 2014; 113(8): 472-477.
[13] Simatupang P, Imran I, Pane I. The Latest Development of Green Concrete in Indonesia, 1st International Conference on Sustainable Civil Engineering Structures and Construction Materials. 2012.
[14] Sukprasert S, Hoy M, Horpibulsuk S, Arulrajah A, Safuan A, Nazir R. Fly ash based geopolymer stabilisation of silty clay/blast furnace slag for subgrade applications, Road Materials and Pavement Design. 2019.
[15] Yurt Ü. High performance cementless composites from alkali activated GGBFS, Construction and Building Materials. 2020; 264: 120222
[16] Li Y, Min X, Ke Y, Liu D, Tang C. Preparation of red mud-based geopolymer materials from MSWI fly ash and red mud by mechanical activation. Waste Management. 2019;83:202-208.
[17] Suraj D, Priyantha W.J, Sanjaya S, Branimir S. Stabilization of highly expansive soils containing sulfate using metakaolin and fly ash based geopolymer modified with lime and gypsum, Transportation Geotechnics. 2020;23: 100327.
[18] Yurt Ü. An experimental study on fracture energy of alkali activated slag composites incorporated different fibers, Journal of Building Engineering. 2020; 32: 101519
[19] Davidovits J. Geopolymers - Inorganic Polymeric New Materials. J Therm Anal. 1991;37(8):1633-56.
[20] Atis C. D, Gorur E. B, Karahan O, Bilim C, Ilkentapar S, LUGA E. Very high strength (120 MPa) class F fly ash geopolymer mortar activated at different NaOH amount, heat curing temperature and heat curing duration. Constr. Build. Mater. 2015:673-678.
[21] Okoye F.N, Durgaprasad J, Singh N.B. Fly ash/Kaolin based geopolymer green concretes and their mechanical properties. Data in Brief. 2015; 5:739-744.
[22] X. Yu, L. Jiang, J. Xu, Y. Zu. Effect of Na2SiO3 content on passivation and corrosion behaviour of steel in a simulated pore solution of Na2SiO3-activated slag. Constr. Build. Mater. 2017;146: 156-164.
[23] H. L. Chi, P. Louda, T. Bakalova, V. Kovačič. Preparation and Mechanical Properties of Potassium Metakaolin Based Geopolymer Paste, Advanced Engineering Forum. 2019;31: 38-45.
[24] Kaya M, Uysal M, Yılmaz K, Atiş C.D. Behaviour of Geopolymer Mortars after Exposure to Elevated Temperatures. Materials Science (Medžiagotyra). 2018;24: 428-436.
[25] Hosan, A, Haque, S. and Shaikh, F. Compressive behaviour of sodium and potassium activators synthetised fly ash geopolymer at elevated temperatures: a comparative study. Journal of Building Engineering. 2016;8:123-130.
[26] Hayder A, Mohamed A.S, Megan L. W. Review of Fly-Ash-Based Geopolymers for Soil Stabilisation with Special Reference to Clay, www.mdpi.com/journal/geosciences, Geosciences, 2020;10: 249
[27] Rangan, B.V, "Fly ash-based geopolymer concrete". Research Report GC 4,Engineering Faculty, Curtin University of Technology.2008; SF:44, Perth, Australia.
[28] Komljenovic, M, Bascarivic, Z, Bradic, V. Mechanical and microstructural properties of alkali-activated fly ash geopolymers.. J. Hazard. Mater,2010; 181: 35- 42.
[29] Greiser S, Gluth G, P Sturm, Jäger C, 29Si 27Al}, 27Al {29Si and 27Al 1H double-resonance NMR spectroscopy study of cementitious sodium aluminosilicate gels (geopolymers) and gel-zeolite composites. RSC Advances. 2018; 70: 40164–40171.
[30] Tippayasam C, Balyore P, Thavorniti P, Kamseu E, Leonelli C, Chindaprasirt P, et al. Potassium alkali concentration and heat treatment affected metakaolin-based geopolymer, Construction and Building Materials.2016; 104: 293–297.
[31] Ankur Gupta. Investigation of the strength of ground granulated blast furnace slag based geopolymer composite with silica füme, Materials Today: Proceedings. 2020.
[32] Kaya M, Uysal M, Yilmaz K, Karahan O, Atiş C.D. Mechanical properties of class C and F fly ash geopolymer mortars, Gradevinar.2020; 72 (4): 297-309.
[33] İlkentapar, S, Atiş, C. D, Karahan, O, Görür Avşaroğlu E. B. Influence of duration of heat curing and extra rest period after heat curing on the strength and transport characteristic ofalkali activated class F fly ash geopolymer mortar. Construction and Building Materials. 2017;vol.151: 363-369.
[34] Ozodabas, A, Yilmaz, K. Improvement of the performance of alkali activated blast furnace slag mortars with very finely ground pumice. Constructıon And Building Materials.2013: Vol.48 pp.26.
[35] Atabey İ.İ. F sınıfı uçucu küllü geopolimer harcının durabilite özelliklerinin araştırılması. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İnşaat Mühendisliği. Doktora Tezi, 2017
[36] Balcikanli M, Turker H T, Ozbay, E, Karahan O, Atiş C. D. Identifying the bond and abrasion behavior of alkali activated concretes by central composite design method. Construction nnd Building Materials, 2017; 132: 196-209.
[37] Kaya M, Farklı Tür Uçucu Kül Kullanılarak Üretilen Alkali Aktive Edilmiş Harçların Mekanik ve Durabilite Özelliklerinin İncelenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2016
[38] M. Zhang, M. Zhao, G. Zhang, D. Mann, K. Lumsden, and M. Tao, "Durability of red mud-fly

ash based geopolymer and leaching behavior of heavy metals in sulfuric acid solutions and deionized water," Construction and Building Materials, 2016; 124:373-382.
[39] B. B. Jindal, "Investigations on the properties of geopolymer mortar and concrete with mineral admixtures: A review," Construction and Building Materials. 2019;227;116644.
[40] Nuaklong P, Wongsa A, Sata V, Boonserm K, at al, Properties of high-calcium and low-calcium fly ash combination geopolymer mortar containing recycled aggregate, Heliyon. 2019:5(9): e02513,
[41] TS EN 12350-5 :2019; Beton- Taze beton deneyleri- Bölüm 5: Yayılma tablası deneyi, Türk Standardları Enstitüsü,2019
[42] TS EN 1015-11, Kagir harcı - Deney metotları - Bölüm 11: Sertleşmiş harcın basınç ve eğilme dayanımının tayini, Türk Standardları Enstitüsü,2013
[43] Chindaprasirt P, Chareerat T, Sirivivatnanon V. Workability and strength of coarse high calcium fly ash geopolymer. Cement & Concrete Composites.2007; 29, 224–229.
[44] Aygörmez Y, Canpolat O, Al-mashhadani M, Uysal M. Elevated temperature, freezing-thawing and wetting-drying effects onpolypropylene fiber reinforced metakaolin based geopolymer composites, Construction and Building Materials.2020; 235(28): 117502.
[45] Hamidi R, Man Z, Azizli K. Concentration of NaOH and the Effect on the Properties of Fly Ash Based Geopolymer, Procedia Engineering.2016; 148: 189–193.
[46] Purbasari A, Samadhi T, Bindar Y. The Effect of Alkaline Activator Types on Strength and Microstructural Properties of Geopolymer from Co-Combustion Residuals of Bamboo and Kaolin, Indones. J. Chem. 2018; 18 (3): 397–402.
[47] Askarian M, Tao Z, Samali B, Adam G, Shuaibu R. Mix composition and characterisation of one-part geopolymers with different activators. Construction and Building Materials,2019; 225:526–53.
[48] Wang Y, Liu X, Zhang W, Li Z, Zhang Li Y, Ren Y. Effects of Si/Al ratio on the efflorescence and properties of fly ash based geopolymer, , Journal of Cleaner Production,2020; 244: 118852.
[49] Lee B, Kim G, Kim R, Cho B, Lee S, Chon C. Strength development properties of geopolymer paste and mortar with respect to amorphous Si/Al ratio of fly ash. Construction and Building Materials.2017; 151: 512–519.
[50] Temuujin J, Riessen A, Williams R. Influence of calcium compounds on the mechanical properties of fly ash geopolymer pastes. Journal of Hazardous Materials, 2009; 167: 82–88.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 105-111, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 105-111, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.755233 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Örtüşme ve Deforme Durumlarında Kapsül Ağ ile Evrişimsel Sinir Ağ Sınıflama Performanslarının Karşılaştırılması

Kazım FIRILDAK[1*], Muhammed Fatih TALU[2]

[1] Fırat Üniversitesi, Kovancılar Meslek Yüksek Okulu, Bilgisayar Teknolojileri Bölümü, Elazığ, Türkiye
[2] İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Malatya, Türkiye
Kazım FIRILDAK ORCID No: 0000-0002-1958-3627
Muhammed Fatih TALU ORCID No: 0000-0003-1166-8404

**Sorumlu yazar: kfirildak@firat.edu.tr*

(Alınış: 19.06.2020, Kabul: 02.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
ESA,
KA,
ESA ile KA kıyaslanması

Öz: Evrişimsel sinir ağı (ESA) ve Kapsül Ağ (KA) önemli derin öğrenme mimarileridir. Bu makalede, ESA ve KA mimarilerinin MNIST ve Fashion MNIST veri kümelerindeki örtüşme ve deformasyon durumlarında sınıflama doğrulukları incelenmiştir. Bu veri kümelerinin her bir test verisi, rastgele alınan 7x7 lik blokların iki, üç ve dört tanesinin kendi aralarından yer değişmesiyle deforme edilmiştir. Bunun yanında veri kümelerine ait farklı sınıftaki veriler birbirilerini kısmi olarak örtecek şekilde test veri kümeleri oluşturulmuştur. Yapılan deneysel sonuçlarda deformasyon durumunda ESA'nın sınıflama doğruluğunun MNIST veri kümesi için %5 ila %13,5, Fashion MNIST için %7,1 ila %25,4 oranında azaldığı, KA da ise MNIST veri kümesi için %31 ila %43, Fashion MNIST için %34,7 ila %53,2 oranında azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum ESA mimarisinin, deforme edilmiş test kümelerinde KA' ya göre yüksek doğrulukta sınıflama yaptığı gösterilmiştir. Bunun yanında KA' nın deforme edilen sahte verilere karşı duyarlılığı ve sınıflama başarımına tepkisi ESA'ya göre daha doğru olduğu görülmüştür. Deforme durumlarının önemsenmediği uygulamalarda ESA'nın, deforme durumuna hassasiyet gösterecek güvenlik uygulamalarında KA kullanılması sonucuna varılmıştır. Örtüşme durumlarında ise ESA'nın sınıflama doğruluğu MNIST için %63, Fashion MNIST için % 58, KA ise doğruluk oranı MNIST için %88, Fashion MNIST için %81 olarak elde edilmiştir. Bu durum örtüşme durumlarında KA' nın ESA'ya göre daha yüksek sınıflama doğruluğuna ulaştığı gözlemlenmiştir.

Comparison of Capsule Network and Convolutional Neural Network Classification Performances in Overlap and Deformation Conditions

Keywords
CNN,
CapNet,
Comparison of CapNet and CNN

Abstract: Convolution Neural Network (CNN) and Capsule Network (CapsNET) are important deep learning architectures. In this paper, the classification accuracy of CNN and CapsNET architectures in the overlap and deformation states of MNIST and Fashion MNIST data sets are examined. Each test data of these data sets are deformed by the interchange of two, three, and four of the 7x7 blocks taken randomly. In addition, test data sets are created to overlap each other with different classes of data clusters partially. In experimental results, in case of deformation, the classification accuracy of CNN for the MNIST data set decreased to between 5% and 13.5% and for the Fashion MNIST to between 7.1 % and 25.4%, on the other hand, it was observed that the classification accuracy of CapsNET for the MNIST data set decreased to between 31% and 43% and for the Fashion MNIST to between 34.7% and 53.2%. This situation shows that CNN architecture makes high accuracy classification in deformed test sets compared to CapsNET. In addition, it was seen that the sensitivity of CapsNET to deformed fake data and its response to classification performance is more accurate than CNN. It is concluded that CNN should be used in applications where deformed situations are not considered, and CapsNET should be used in security applications that may show sensitivity in deformed situations. In the case of overlap, the classification accuracy of CNN is obtained 63% for MNIST, 58% for Fashion MNIST, on the other hand, CapsNET is obtained 88% for MNIST and 81% for Fashion MNIST. In this case of overlap, it was observed that CapsNET obtained higher classification accuracy than CNN.

1. GİRİŞ

Bilgisayar bilimleriyle ilgilenen birçok araştırmacının ilgi duyduğu güncel konulardan biri yapay öğrenmedir [1]. İnsan gibi düşünebilen, hareket edebilen veya muhakeme edebilen bilgisayarlar geliştirmek yapay öğrenmenin temel amaçları arasındadır. Derin öğrenme, son yıllarda yapay öğrenmenin popüler bir araştırma alanıdır. Derin öğrenme, klasik öğrenme mimarilerinden farklı olarak daha fazla öğrenme katmanı barındırabilir(GoogleNet 22 katman [2]), giriş parametresi olarak imge, ses sinyalleri gibi veriler alabilir ve daha fazla sınıf barındıran büyük veriler giriş olarak uygulanabilir (ImageNet [3] 1000 sınıf ve 100000 imge). Bu durum yüksek hesaplama maliyeti gerektirir. Fakat öğrenme üzerindeki başarımının yüksek olduğu bilimsel çalışmalarla ortaya konulmaktadır [4]. Evrişimsel Sinir Ağları (ESA), Boltzman Makinaları, Otomatik Kodlayıcılar (Autoencoder), Çekişmeli Üretici Ağlar (ÇÜA) ve Kapsül Ağlar (KA) en sık kullanılan derin öğrenme mimarileridir.

ESA, medikal imgelerin sınıflanması, nesnelerin tanınması ve tespiti gibi uygulama alanlarından sıklıkla kullanılan bir mimaridir [4–7]. ESA temelde evrişim (konvülasyon), aktivasyon fonksiyonu (Relu) ve havuzlama (pooling) katmanlarının belirli sayıda uygulanmasıyla ve sonunda tam bağlı bir sinir ağını barındıran bir yapay öğrenme modelidir. Bu yapının havuzlama katmanı 3x3, 5x5 gibi boyutlarda imgeyi bloklara ayırmaktadır. Bu blokların her biri seçilen havuzlama modeline (maksimum havuzlama, ortalama havuzlama ve minumum havuzlama gibi) göre tek bir skaler değere indirgenmektedir. Yapılan havuzlama işlemi evrişim uygulanmış imgenin büyük bir veri ve özellik kaybına neden olur. Birçok problemde yüksek doğruluk başarımı gösteren ESA'nın bu yönüyle sağladığı güvenilirlik tartışılmaktadır.

KA mimarisi, imgenin temel özelliklerini (konum, yönelim, kalınlık) öğrenebilen derin öğrenme mimarisidir [8,9]. ESA'nın literatürde vurgulanan eksik yönlerine alternatif olarak önerilen KA, temelde evrişim katmanı ile başlamaktadır. Daha sonra sınıf özelliklerine göre boyutlanan vektör tabanlı bir kapsül katmanıyla imgelerin özelliklerini modellemektedir. Kapsül katmanına anlaşmalı yönlendirme algoritması uygulanarak çıkış kestirimi yapılmaktadır. Ayrıca öğrenme ağında çözücü katman kullanılmaktadır. Bu katman, kapsül ağın vektörel çıktılarını giriş olarak alır ve giriş verisinin tekrar yapılanmasını öğrenir.

Literatürde KA'ın hesaplama yükünü azaltmak için temel mimarisindeki gereksiz ağırlıkları budama metoduyla tespit eden mimari sunulmaktadır [10]. Bu çalışmada yapılan analiz sonucunda gereksiz yapılar KA çıkarılarak işlem karmaşası ve hesaplama yükü azaltılmıştır. Diğer bir çalışmada KA mimarisinde anlaşmalı yönlendirme algoritmasına alternatif bir yöntem önerilmiştir. Sunulan yöntem farklı veri kümeleri için başarımı gösterilmiştir [11].

KA literatürde göğüs kanseri imgelerinin sınıflanmasında [12], beyin tümör imgelerinin sınıflanması [13], diyabetik retinopati ve mitoz tespiti [14] gibi medikal alanda sıklıkla kullanılmıştır. Bunun yanında kapsül tabanlı çekişmeli üretici ağ, veri üretimindeki performansı literatürde detaylandırılmıştır [15]. Ayrıca işaret dili tanıma uygulamasında yüksek başarım gösterdiği gözlemlenmiştir [16]. KA, CIFAR [17] gibi birden fazla nesnenin bulunduğu karmaşık veri kümelerinde başarımı düşük olduğu literatürde sunulmuştur [18].

Bu makalede, son dönemlerde popülerliği giderek artan ESA ve KA'ın bozulmuş veya üst üste örtüşme durumlarını içeren imgelerdeki sınıflandırma performansları kıyaslanmaktadır. Bu bağlamda çalışmada öncelikle ESA mimarisi anlatılmaktadır. Daha sonra KA mimarisi sunulmaktadır. Çalışmanın devamında deneysel sonuçlarda kullanılacak veri kümeleri ve özellikleri verilmektedir. Bu veri kümeleri önce bloklarına ayrılmaktadır. Bloklar 1,2 ve 3 parça olarak yer değiştirilerek veri kümesi yeniden düzenlenmektedir. Bunun yanında veri kümesindeki farklı sınıflara ait imgeler, rastgele seçilerek iki imge üst üste kaydırılarak örtüşme oluşturulan yeni test veri kümesi elde edilmektedir. Son olarak ESA ve KA performansları bu farklılaştırılmış iki veri kümesi için detaylandırılarak tartışılmaktadır.

2. EVRİŞİMSEL SİNİR AĞI

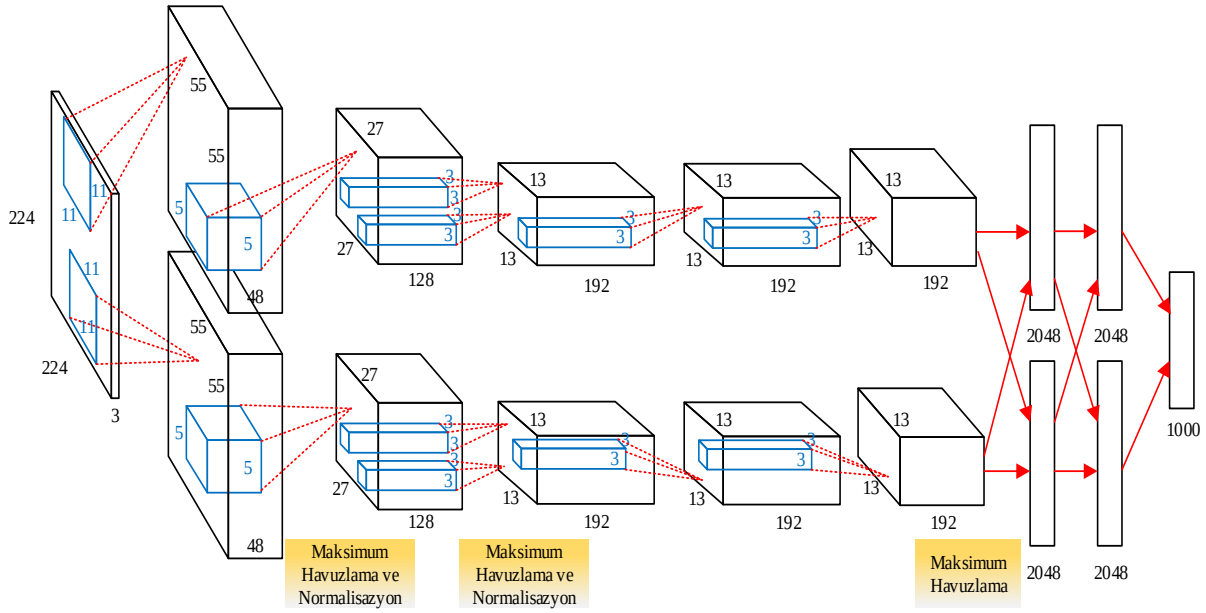
ESA, klasik sinir ağından farklı olarak evrişim katmanı içermektedir. Evrişim katmanın ilk adımı belirlenen sayıda ve boyuttaki filtreyi, kaydırma ile padding değerine göre imgeye uygulanan konvolüsyon işlemidir. Denklem 1' de konvolüsyon işleminin matematiksel formülü verilmektedir.

$$x_{i,j}^{l} = \sum_{a}^{n}\sum_{b}^{n} w_{ab}\, y_{(i+a)(i+b)}^{l-1} \qquad (1)$$

Denklem 1' de de y giriş imgesi w ise uygulanacak konvolüsyon filtresini göstermektedir. Evrişim sonucu yatay kenarlar, dikey, ve açısal kenarlar gibi uygulanan imge ile aynı veya yakın boyutta imge türevleri elde edilmektedir [5]. ESA 'larda her bir konvolüsyon sonucu, relu veya hiperbolik tanjant gibi bir aktivasyon fonksiyonuna verilmektedir. Böylelikle konvolüsyon çıkış değerlerinin belirli bir sayı aralığında olduğu garantilenmektedir. Denklem 2' de Relu fonksiyonun matematiksel modeli gösterilmektedir.

$$\mathrm{z} = \max(0, x) \qquad (2)$$

Denklem 2' de x, konvolüsyon çıkış değerlerini göstermektedir. z ise bu çıkış değerlerinin Relu



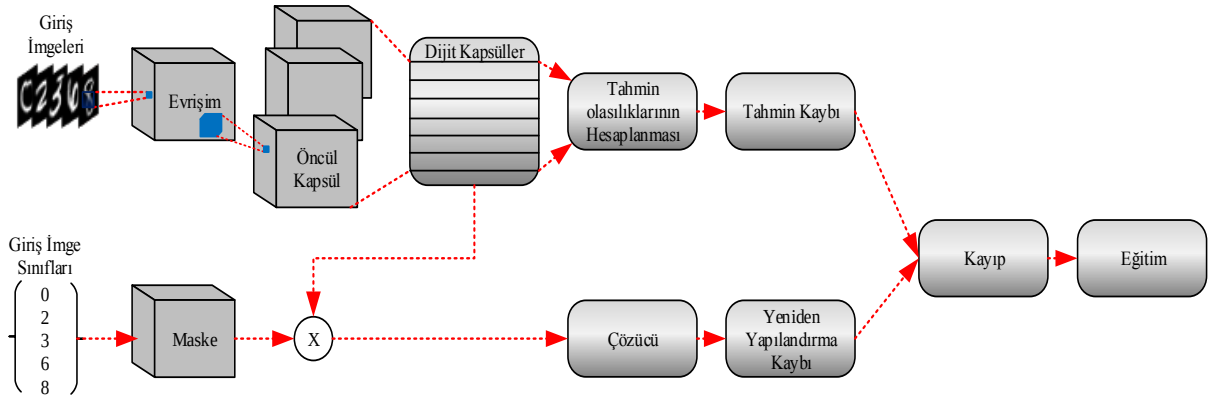
Şekil 1. AlexNET mimarisi [4].

aktivasyon fonksiyonu sonucudur. ESA evrişim işleminin son aşaması havuzlama katmanıdır. Havuzlama 3x3, 5x5 gibi maskeleri imgeye uygulayarak 3x3 filtre için 9 tane, 5x5 filtre için 25 tane değeri maksimum, minimum veya ortalama değerini alarak tek bir skaler değere indirerek boyut küçülten bir katmandır.

ESA'nın son katmanında genel olarak tam bağlı yapay sinir ağı kullanılmaktadır. Bu yapısıyla ESA güçlü bir derin öğrenme mimarisidir. Literatürde birçok çalışmada kullanılan bir ESA ağı olan Alexnet ağının örnek şema modeli Şekil 1' de gösterilmektedir.

3. KAPSÜL AĞ

Sabour ve diğ tarafından ilk olarak literatürde sunulan KA, temelde ESA'nın havuzlama katmanındaki özellik kaybına dikkat çekerek, ESA' ya alternatif olarak tasarlanmıştır. Sekil 2' de KA aşamaları gösterilmektedir [9].



Şekil 2. Kapsül ağ işlem aşamaları [9].

KA ilk olarak bir evrişim katmanıyla imgeleri filtrelemektedir. Bu filtre ağırlıkları başlangıçta rastgele verilmektedir. Şekil 2' de görüldüğü üzere evrişim işleminin sonucu ezme fonksiyonuna giriş olarak verilmektedir. Ezme fonksiyonu denklem 3' te gösterilmektedir.

$$v_j = \frac{\|s_j\|^2}{1+\|s_j\|^2}\frac{s_j}{\|s_j\|} \qquad (3)$$

Burada v_j, j. kapsül çıkış vektörüdür. v_j ise toplam giriş verilerini temsil etmektedir. Bu işlem aşamasından sonra dijit kapsül aşaması gelmektedir. Dijit kapsül aşamasına giriş olarak gelen her vektör ilgili w ağırlığı ile çarpılarak çıkış tahmini yapılmaktadır. Denklem 4' te ağırlıklandırılmış çıkış tahmini gösterilmektedir.

$$\hat{u}_{j|i} = w_{j|i}u_i \qquad (4)$$

Bu aşamadan sonra anlaşmalı yönlendirme algoritması uygulanarak dijit kapsül katmanı çıkış kestirimi yapılmaktadır. Anlaşmalı yönlendirme algoritmasının sözde kodu Tablo 1' de verilmektedir.

Anlaşmalı yönlendirme algoritması uygulandıktan sonra dijit kapsül çıkışlarının uzunlukları hesaplanmaktadır.

Her bir dijit kapsülün olasılıksal çıkışları, kapsülü oluşturan ve veri kümesinin sınıf sayısına eşit olan her bir elemanın uzunluğuna eşittir. Bunun anlamı giriş değerinin hangi sınıfa ait olduğu uzunluk değerine göre tespit edilmektedir. Tespit hatası herhangi bir k dijit kapsülü için L_k, Denklem 5'te verilmektedir.

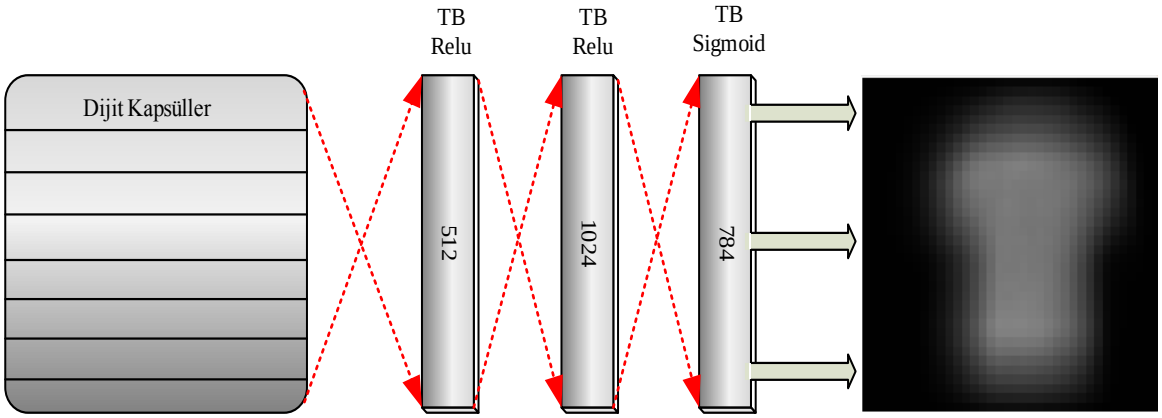
Tablo 1. Anlaşmalı yönlendirme algoritması sözde kodu [9].

Anlaşmalı Yönlendirme
1: fonksiyon Yonlendirme $(\hat{\mathbf{u}}_{j\|i}, \mathbf{r}, \mathbf{l})$
2: for $\mathbf{l}$ katmanındaki bütün $\mathbf{i}$ kapsülleri ve $\mathbf{l}+\mathbf{1}$ katmandaki kapsül j ler için $\mathbf{b}_{ij} \leftarrow \mathbf{0}$
3: for $\mathbf{r}$ iterasyon sayısınca
4: for $\mathbf{l}$ katmanındaki bütün $\mathbf{i}$ kapsülleri için: $\mathbf{c}_i \leftarrow \mathbf{softmax}(\mathbf{b}_i)$
5: for $\mathbf{l}+\mathbf{1}$ katmandaki kapsül j lerin için: $\mathbf{s}_j \leftarrow \sum_i \mathbf{c}_{ij}\hat{\mathbf{u}}_{j\|i}$
6: for $\boldsymbol{l}+\mathbf{1}$ katmandaki kapsül j lerin için: $\boldsymbol{v}_j = \boldsymbol{ezme}(\boldsymbol{s}_j)$
7: for $\mathbf{l}$ katmanındaki bütün $\mathbf{i}$ kapsülleri ve $\mathbf{l}+\mathbf{1}$ katmandaki kapsül j lerin için
8: $\mathbf{b}_{ij} \leftarrow \mathbf{b}_{ij} + \hat{\mathbf{u}}_{j\|i}\mathbf{v}_j$
9: return $\mathbf{v}_j$

$$L_k = T_k \max(0, m^+ - \|v_k\|)^2 + \Delta(1 - T_k) \max(0, \|v_k\| - m^-)^2 \quad (5)$$

Burada T_k değeri imgedeki farklı sınıflara ait tek bir değer olması durumunda 1 olarak belirlenmektedir. m^-, m^+ ve Δ değeri veri kümesinin göre belirlenen sabitlerdir. Kapsül ağın kayıp fonksiyonu, L_k ile dijit kapsülün değerlerini giriş alan çözücü yapısının maliyetinin sabit bir katsayı ile çarpımlarının toplamı olarak belirlenmektedir. Şekil 3' te örnek bir çözücü ağ yapısı modellenmektedir. Çözücü ağ, giriş olarak dijit kapsül verilerini alarak tekrardan imgeyi inşa etmeye çalışmaktadır. Çözücünün giriş verisi dijit kapsül değerleridir. Çıkışı ise imgenin kapsül değerlerine göre yeniden üretilmiş halidir.

Şekil3'te TB, tam bağlı sinir ağıdır. Ayırca Şekil 3'te Fashion MNIST veri kümesi için örnek bir KA ve TB yapılarının nöron sayıları göstermektedir. KA son aşaması eğitim safhasıdır. Kayıp maliyeti hesaplandıktan sonra ağın bütün ağırlıkları güncellenmektedir.



Şekil 3. Çözücü ağ yapısı.

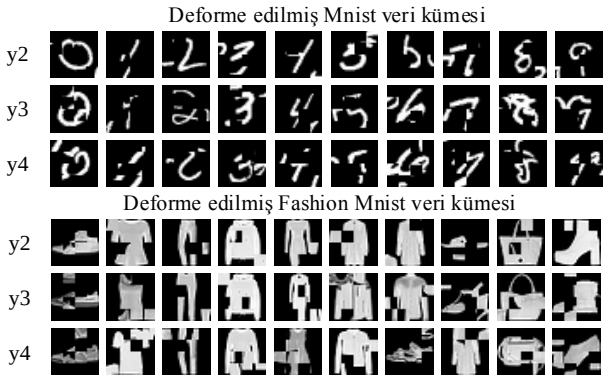
4. VERİ KÜMELERİ

Bu makale çalışmasında MNIST [19] ve Fashion MNIST [20] veri kümeleri kullanılmaktadır. Bu veri kümelerinin her ikisi de 10 adet sınıfa sahip 28x28 boyutundaki 70000 gri formatta imgeden oluşmaktadır. MNIST veri kümesi, el yazması rakamlardan meydana gelmektedir. Fashion mnist veri kümesi ise ayakkabı, elbise, çanta, tişört, pantolon, mont ve bunların farklı türevlerinden oluşmaktadır. MNIST ve Fashion MNIST veri kümesindeki farklı sınıflara ait örnek imgeler Şekil 4' te gösterilmektedir.

Şekil 4. (a) Fashion MNIST (b) MNIST için seçilmiş örnek imgeler.

4.1. NxM Boyutundaki Blokların Yer Değişmesiyle İmgelerin Deformasyonu

ESA ve KA doğruluk ve test güvenliği performanslarını karşılaştırmak için MNIST ve Fashion MNIST veri setleri 7x7 boyutunda bloklara bölünmektedir. Daha sonra bu bloklar arasından rastgele seçilen 2, 3 ve 4 blok kendi arasında yer değiştirilerek yeni örnek imgeleri elde edilmiştir. Deforme edilmiş bu görüntüler Şekil 5' te gösterilmektedir. Bu yeni imge kümesi için y2, iki bloğun, y3 üç bloğun, y4 dört bloğun yer değişmesi anlamına gelmektedir.

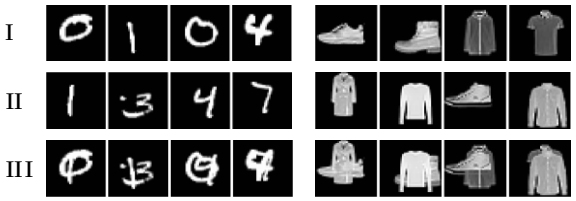


Şekil 5. Deforme edilmiş veri kümeleri

Deformasyon işlemi, sınıflandırılacak nesnelerin bütünlüğünün bozulması durumunda derin mimarilerin performanslarının kıyaslanması için uygulanmaktadır.

4.2. İmgelerin Örtüşmesi

Örtüşme, veri küme sınıfına ait birden fazla üyenin imge üzerinde görünümlerini kısmi perdeleyecek şekilde kapatmasıdır. MNIST ve Fashion MNIST veri kümesi için farklı sınıflara ait imgeler birbirleriyle aynı sahnede kaydırarak örtüşme oluşturulmaktadır. Örtüşme işlemi ile ilgili literatürde çeşitli çözüm önerileri sunulmaktadır [21]. Örtüşme durumunda ESA ve KA performanslarının karşılaştırılması için tam örtüşme durumunda veriler Şekil 6' da sunulmaktadır.



Şekil 6. I. İlk imge, II. İkinci imge, III. İlk ve ikinci imgenin örtüşmüş halleri a. MNIST veri kümesi için örtüşmeli imgelerin oluşumu b. Fashion MNIST için örtüşmeli imgelerin oluşumu

4. DENEYSEL SONUÇLAR

Deneysel sonuçlar, Matlab 2019b ortamında ve Python programlama dili ile gerçekleştirilmektedir. Geliştirilen yazılımlar, 20 çekirdekli 2 işlemcili, 64 gb ram sahip bir sunucu bilgisayarda bulunan Nvidia Quard 4000 gpu hızlandırıcıda yürütülmektedir. Bunun yanında deneysel çalışmalarda kullanılan KA'ın katmanları ve özellikleri Tablo 2' de, ESA'nınki de Tablo 3'te sunulmaktadır. Deneysel çalışmalarda yöntemlerin toplam doğruluk kıyaslanmaktadır. Toplam doğruluk hesabı denklem 6'da sunulmaktadır.

$$Doğruluk\ (D) = \frac{\sum TP}{Toplam\ Veri\ Sayısı} \qquad (6)$$

TP değişkeni, sınıflardaki doğru tahmin edilen veri sayısını ifade etmektedir. Doğruluk değeri, her sınıfta tahmin edilen doğru veri sayısının toplam veri sayısına oranıdır.

Tablo 2. KA katman yapısı.

Katman	Çıkış boyutu	Parametre sayısı	Bağlantısı
İmge giriş (input_1)	(?,28,28,1)	0	-
Konvülasyon1 (conv1)	(?,20,20,256)	20992	input_1
Öncül kapsül (convp)	(?,6,6,256)	5308672	conv1
Öncül kapsül tekrar boyutlama (reshape)	(?,1152,8)	0	convp
Öncül ezme fonksiyonu (lambda)	(?,1152,8)	0	reshape
Dijit kapsül (digitcaps)	(?,10,16)	1474560	lambda
Giriş (input_2)	(?,10)	0	-
Maske (mask)	(?,160)	0	digitcaps input_2
Kapsül ağ (length)	(?,10)	0	digitcaps
Çözücü (decoder)	(?,28,28,1)	1411344	mask

Tablo 2' de verilen KA mimarisinde giriş örnek boyutunun olarak 28x28 olduğu görülmektedir. Eğitim veri kümesindeki eleman sayısı ve parametrelerine göre çıkış boyutundaki sütunun ilk değerleri belirlenmektedir. Bu nedenle o sütundaki ilk boyut '?' ile ifade edilmektedir. Giriş verilerine 9x9 luk 256 adet filtre ile evrişim uygulanmaktadır. Evrişim katmanın ardından kaydırma boyutu 2 olarak belirlenen öncül kapsül katmanı ile resim boyutu 6x6x256 indirgenmektedir. Daha sonra tekrar boyutlama yapılarak 8 elemanlı 1152 adet öncül kapsül çıkışı belirlenmektedir. Dijit kapsül katmanın her bir elemanı sınıf sayısı kadar çıkış içeren 16 adet vektör ile temsil edilmektedir. Dijit kapsülün çıkışı, çözücü katmana giriş olarak verilmektedir. Böylelikle ağın kaybı hesaplanarak eğitim işlemi gerçekleştirilmektedir.

Tablo 3. ESA katman yapısı.

Katman	Filtre boyutu	Filtre sayısı	Padding	Stride
Resim girişi	-	-	-	-
Konvolüsyon1	3x3	8	Same	-
Batch normalisazyonu	-	-	-	-
Relu aktivasyon Fonksiyonu	-	-	-	-
maxPooling	2x2	-	-	2x2
Konvolüsyon2	3x3	16	Same	-
Batch normalisazyonu	-	-	-	-
Relu aktivasyon Fonksiyonu	-	-	-	-
maxPooling	2x2	-	-	2x2
Konvolüsyon3	3x3	32	Same	
Batch normalisazyonu	-	-	-	-
Relu aktivasyon Fonksiyonu	-	-	-	-
Tam bağlı sinir ağı	-	-	-	-
Softmax	-	-	-	-
Sınıflama katmanı	-	-	-	-

Tablo 3' te ESA yapısında öncelikle 3x3 lük 3 adet evrişim sırasıyla giriş veri kümesine uygulanmaktadır. Daha sonra evrişim katmanları arasında toplu normalisazyon ve Relu aktivasyon işlemleri yapılarak veriler normalize edilmektedir. Bunun yanında her evrişim işleminden sonra maksimum havuzlama işlemi yapılarak boyut indirgenmektedir. ESA ağının son aşamasında sınıflama işlemi için tam bağlı sinir ağı, softmax ve sınıflama katmanı uygulanmaktadır.

Deneysel çalışmaların ilkinde, NxM boyutunda blokların yerleri değişmesiyle oluşan test veri kümelerini önceden

eğitim verileriyle eğitilmiş KA ve ESA'ya verilerek sahte imgeler için performansları incelenmektedir. Tablo 4' te KA ve ESA'nın sahte resimlerde toplam doğruluk ve deforme durumuna göre yüzde değişimi gösterilmektedir.

Tablo 4' de YD, başarımın yüzde azalma oranını göstermektedir. Deforme edilmiş Mnsit ve Fashion MNIST imgelerinde ESA'nın KA'ya göre sınıflama başarımının yüksek olduğu görülmektedir. Ancak KA sahte resimlere karşı duyarlılığı ve sınıflama başarımına tepkisi ESA'ya göre daha doğru olduğu gözlemlenmektedir. KA iki veri kümesi için rastgele seçilen test verilerinin tekrar yapılanma sonuçları ve tahmin çıktıları Şekil 7'de sunulmaktadır.

Tablo 4. Y2,Y3 ve Y4 deforme durumunda performans kıyaslanması.

	Veri Kümesi	D	Y2	Yd2	Y3	Yd3	Y4	Yd4
Ka	Mnist	99.2	68	31	61	38	56	43
Esa	Mnist	99	91	5	81	15	83	13.5
Ka	F- Mnist	92	60	34.7	49	46.7	43	53.2
Esa	F- Mnist	90	83,6	7.1	76,8	14.6	67,1	25.4

Tablo 4' te YD, başarımın yüzde azalma oranını göstermektedir. Deforme edilmiş Mnsit ve Fashion MNIST imgelerinde ESA'nın KA' ya göre sınıflama başarımının yüksek olduğu görülmektedir. Ancak KA sahte resimlere karşı duyarlılığı ve sınıflama başarımına tepkisi ESA'ya göre daha doğru olduğu gözlemlenmektedir. KA iki veri kümesi için rastgele seçilen test verilerinin tekrar yapılanma sonuçları ve tahmin çıktıları Şekil 7' de sunulmaktadır.

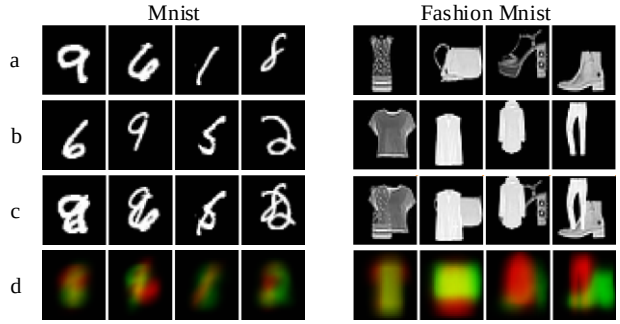
Şekil 7. Deforme edilmiş görüntülerin KA çözücü sonuçları a. MNIST veri kümesi, b. MNIST çözücü sonuçları, c. Fashion MNIST veri kümesi, d. Fashion MNIST çözücü sonuçları.

KA sanal verileri gerçeğinden ayırt etme yeteneği ile ESA'nın bir adım önüne geçmektedir. ESA ağ yapısı verilerin konum, yönelim, kalınlık gibi önemli özniteliklerini KA' ya göre daha sınırlı miktarda öğrendiği gözlemlenmektedir. ESA sinir ağının örnek sanal imgeleri ayırt etme yeteneği KA göre daha düşüktür. ESA, yapısı büyük ölçüde deforme olmuş imgeleri orijinal imgenin parçalarının yer değişmesi olarak algılayarak deformasyon durumunda hassasiyet göstermemektedir. KA ise tekrar yapılanma kaybı ve dijit kapsül çıkış kestirim kaybını göz önüne alarak imgenin şekil bütünlüğüne karşı hassasiyet göstermektedir.

Deneysel çalışmaların ikincisinde örtüşme durumunda KA ve ESA performansları karşılaştırılmaktadır. Öncelikle iki veri kümesine ait veriler kendi aralarında farklı sınıflardan birer tane olmak üzere rastgele seçilerek örtüşme işlemi uygulanmaktadır. Örtüşme durumunda ağların doğruluk performansları Tablo 5' te gösterilmektedir. KA örtüşme durumu ile başa çıkmak için ağın kayıp fonksiyonunda T_k değerini değiştirerek ve dijit kapsül sayısını artırarak imgeden birden fazla eleman çıkarımı yapmaktadır. Bunun yanında çözücü katman yardımıyla imgede var olan farklı sınıflara ait bilgileri çözmeye çalışmaktadır. Şekil 8' de örtüşme durumunda KA' ın çözücü sonucu verilmektedir.

Tablo 5. Örtüşme durumlarında doğruluk kıyaslanması.

Mimari	Veri Kümesi	Tek İmge Doğruluk(%)	Örtüşme Doğruluğu(%)
Ka	Mnist	99.2	88
Esa	Mnist	97	63
Ka	F-Mnist	92	81
Esa	F-Mnist	90	58



Şekil 8. MNIST ve Fashion MNIST veri kümeleri için seçilen örnek örtüşme imgeleri ve KA sonuçları. a. ilk imge, b. ikinci imge, c. örtüşme durumu, d. KA çözücü sonucu.

Şekil 8' de örtüşme durumunda kapsül ağın çözücü katmanının 2 adet maske ürettiği görülmektedir. Bu maskelerin kırmız ve yeşi renk ile üst üste konumu gösterilir. KA, ESA' ya göre örtüşme durumlarında eğitim veri setinde yüksek başarım göstermektedir. Bu durum KA, kapsül yapısı ve çözücü katmanın ağa kazandırdığı önemli bir yetenektir. Sınıflara ait yönelim bilgisini öğrenebilen KA, örtüşme durumunda bile imgenin hangi sınıfa ait olduğunu yüksek başarımla tahmin edebilmektedir. ESA, örtüşme durumunda 2 farklı sınıfa ait bilgileri aynı imge üzerinde öğrenmede zorlanmaktadır. Bunun temel nedeni ESA ağında bulunan havuzlama katmanından dolayı imgeye ait

konum ve yönelim bilgilerinin kaybolması olarak yorumlanmaktadır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu çalışmada KA ile ESA gibi iki derin öğrenme mimarisini farklı veri kümelerindeki performansları değerlendirilmiştir. Veri kümesindeki örneklerde örtüşme ve deformasyon durumları gözetilmiş ve hassasiyet ve doğruluk kıstasları irdelenmiştir. KA yaklaşımının deformasyon durumunda ESA'ya göre daha fazla hassasiyet gösterdiği gözlemlenmiştir. ESA'nın yapısal bileşenleri deformasyon durumunu anlamayı engellemektedir. ESA'nın bu davranışı nesne tanıma gibi bazı uygulamalarda olumlu olarak değerlendirileceği gibi güvenlik açısından bir takım zafiyetlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Örtüşme durumunda KA ve ESA performanslarına bakıldığı zaman, KA, MNIST veri kümesi için %88, Fashion MNIST veri kümesi içinde %81 doğrulukla ESA'ya karşı büyük bir üstünlük göstermektedir. Bu açıdan bakıldığında örtüşme durumlarının sıklıkla gerçekleştiği veri kümeleri için KA önemli bir yapay öğrenme mimarisi olarak öne çıkmaktadır.

İleriki çalışmalarda, makaledeki tecrübelerden faydalanılarak biyomedikal imge sınıflama ve bölütleme gibi problemlere farklı çözümler sunulması hedeflenmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Bishop CM. Pattern Recognition and Machine Learning. New York: Springer; 2006.

[2] Szegedy C, Wei Liu, Yangqing Jia, Sermanet P, Reed S, Anguelov D, et al. Going deeper with convolutions. 2015 IEEE Conf. Comput. Vis. Pattern Recognit., IEEE; 2015, p. 1–9. https://doi.org/10.1109/CVPR.2015.7298594.

[3] İnternet. Image.net 2019. http://www.image-net.org (accessed December 20, 2019).

[4] Krizhevsky A, Hinton GE. ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks. Adv Neural Inf Process Syst 2012;1907–1105:1–9.

[5] Firildak K, Talu MF. Evrişimsel Sinir Ağlarında Kullanılan Transfer Öğrenme Yaklaşımlarının İncelenmesi. Bilgi Bilim 2019;4:88–95.

[6] Şengör, Abdülkadir; Yaman, Akbulut; Yanhui, Guo; Varun B. Classification of amyotrophic lateral sclerosis disease based on convolutional neural network and reinforcement sample learning algorithm. Heal Inf Sci Syst 2017. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13755-017-0029-6.

[7] ÇALIŞAN M, TALU MF. Comparison of Methods for Determining Activity from Physical Movements. J Polytech 2020. https://doi.org/10.2339/politeknik.632070.

[8] Hinton G, Sabour S, Frosst N. Matrix capsules with EM routing. 6th Int. Conf. Learn. Represent. ICLR 2018 - Conf. Track Proc., 2018.

[9] Sabour S, Frosst N, Hinton GE. Dynamic routing between capsules. Adv Neural Inf Process Syst 2017;2017-Decem:3857–67.

[10] Jeong T, Lee Y, Kim H. Ladder Capsule Network. Proc 36th Int Conf Mach Learn 2019:3071--3079.

[11] Heinsen FA. An Algorithm for Routing Capsules in All Domains 2019.

[12] Anupama MA, Sowmya V, Soman KP. Breast cancer classification using capsule network with preprocessed histology images. Proc 2019 IEEE Int Conf Commun Signal Process ICCSP 2019 2019:143–7. https://doi.org/10.1109/ICCSP.2019.8698043.

[13] Afshar P, Mohammadi A, Plataniotis KN. Brain Tumor Type Classification via Capsule Networks. Proc - Int Conf Image Process ICIP 2018:3129–33. https://doi.org/10.1109/ICIP.2018.8451379.

[14] Jiménez-Sánchez A, Albarqouni S, Mateus D. Capsule Networks Against Medical Imaging Data Challenges, 2018, p. 150–60. https://doi.org/10.1007/978-3-030-01364-6_17.

[15] Saqur R, Vivona S. CapsGAN: Using Dynamic Routing for Generative Adversarial Networks 2018.

[16] Beser F, Kizrak MA, Bolat B, Yildirim T. Recognition of sign language using capsule networks. 26th IEEE Signal Process Commun Appl Conf SIU 2018 2018:1–4. https://doi.org/10.1109/SIU.2018.8404385.

[17] Krizhevsky A, Hinton GE. Learning multiple layers of features from tiny images. University of Toronto, 2009.

[18] Xi E, Bing S, Jin Y. Capsule Network Performance on Complex Data 2017;10707:1–7.

[19] Bengio Y, Haffner P. Gradient-Based Learning Applied to Document Recognition 1998;86.

[20] Xiao H, Rasul K, Vollgraf R. Fashion-MNIST: a Novel Image Dataset for Benchmarking Machine Learning Algorithms 2017.

[21] Greff K, Rasmus A, Berglund M, Hao TH, Schmidhuber J, Valpola H. Tagger: Deep Unsupervised Perceptual Grouping 2016.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.766027 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Bazı Upland Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Çeşitlerinin Çimlenme Döneminde Farklı Tuz (NaCI) Seviyelerine Karşı Toleranslarının Belirlenmesi

Sadettin ÇELİK[1*]

[1]Bingöl Üniversitesi, Genç Meslek Yüksekokulu, Ormancılık bölümü Bingöl, Türkiye
Sadettin ÇELİK ORCID No: 0000-0002-0588-1391

**Sorumlu yazar: sadettincelik@bingol.edu.tr*

(Alınış: 07.07.2020, Kabul: 14.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Pamuk,
NaCI,
Çimlenme,
Na/K oranı,
Tuzluluk,
SAR

Öz: Pamuk (*Gossypium spp.*), geniş istihdam yelpazesiyle dünyanın birçok yerinde kültürü yapılan bir bitkidir. Pamuk yetiştiriciliği yapılan hemen her yerde sulamadan kaynaklı tuzluluk, en büyük problem olarak ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada, çimlenme döneminde bazı pamuk çeşitlerinin farklı konsantrasyonlardaki tuzlu (NaCI) sulara karşı toleransları araştırılmıştır. 2020 yılında iklim odasında tesadüf parsellerinde faktöriyel düzenleme deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak kurulan denemede 4 upland pamuk çeşidi (PG 2018, Lima, Edessa, May 505) kullanılmıştır. Her çeşide tuz konsantrasyonlarından (0 mM (kontrol), 25 mM, 50 mM, 75 mM, 100 mM, 125 mM, 150 mM) 10'ar mL eklenmiştir. Deneme sonunda fenotipik veriler alınarak varyans analizi yapılmıştır. Yapılan varyans analizi sonucunda çeşitler arasındaki fark önemli ($P<0.05$) ve kullanılan farklı tuz konsantrasyonları arasındaki fark çok önemli ($p<0.01$) bulunmuştur. PG 2018 %49,64, Lima %51,42, Edessa %49,65 ve May 505 çeşidi de %52,50 çimlenme ortalamaları göstermiştir. En yüksek tuz konsantrasyonunda en fazla çimlenme May 505 çeşidinde görülmüştür. May 505 çeşidi uygun sulama suyu ve normal tuzluluktaki arazilerde ekimi önerilebilmektedir.

Determination the Tolerance of Some Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Varieties for Different Salt (NaCI) Levels at the Germination Stage

Keywords
Cotton,
NaCI,
Germination,
Na/K ratio,
Salinity,
SAR

Abstract: Cotton (*Gossypium Spp.*) is a crop cultivated in many places of the world with its wide employment range. Irrigation-based salinity emerges as a major problem almost everywhere where cotton is grown. In this study, the tolerances of some cotton varieties to the salt at different concentrations during germination period were investigated. The experiment was conducted on 4 upland cotton varieties (PG 2018, Lima, Edessa, May 505) by using a randomized complete plot in a factorial experiment design with 4 replications in growth chamber in 2020. 10 m L^{-1} of different salt concentrations (0 mM, 25 mM, 50 mM, 75 mM, 100 mM, 125 mM, 150 mM) was applied to the each variety. At the end of the experiment, phenotypic data were collected and subjected to analysis of variance. As a result of the variance analysis, differences in salinity tolerance were found important ($P<0.05$) between plant species. The differences between the different salt concentrations tested were also found to be important ($p<0.01$). The varieties of PG 2018, Lima, Edessa and 505 May showed an average of 49.64%, 51.42%, 49.65%, and 52.50% germination, respectively. May 505 showed the highest germination rate at the highest salt concentration. May 505 variety could be recommended for cultivation in normal salinity lands using suitable irrigation water.

1. GİRİŞ

Pamuk bitkisi dünya genelinde tekstil sektöründe kullanılan doğal lifin %35'ini sağlamaktadır [1]. Lifi ile tekstil ve diğer endüstri dallarına ham madde sağlarken, küspesi ve kapçığı hayvan yemi olarak, çiğiti tohum ve yağ olarak, çırçırlamadan sonra pamuk çiğiti üzerinde kalan ince lifler (linteri) selüloz kimya, yatak, dolgu ve savaş endüstrisine ham madde sağlamaktadır [2]. Yaklaşık 50 kadar endüstri dalına ham made tedarik eden [3] pamuk bitkisi, soya bitkisinden sonra en önemli ikinci yağ bitkisidir ve tohumundan elde edilen yağ petrole alternatif olarak da biyodizel üretiminde kullanılmaktadır

[4]. 35 farklı ülkede 100 milyonun üzerinde insanın temel geçim kaynağını sağlayan pamuk, yaklaşık 20 milyon çiftçi tarafından yetiştirilmekte ve yılda yaklaşık 33.5 milyon hektar alanda ekimi yapılmaktadır [5].

Pamuğun verim, adaptasyon ve kalitesi gibi çeşitli ekonomik özelliklerini sınırlandıran ve hatta sonlandıran en önemli abiyotik stres koşullarından birisi tuzluluk problemidir. Kurak ve yarı-kurak bölgelerde çeşitli yollarla (salma sulama, sel, vb.) çözünebilen tuzların yıkanarak taban suyuna karışması ve kapilarite yoluyla toprak yüzeyine yakın yere çıkması sonucunda suyun buharlaşmasından sonra toprakta kalan tuz, topraktaki tuzluluğu meydana getirmektedir [6]. Pamuk üretimini negatif yönde etkileyen tuzluluk, Dünya çapında sulu arazilerden oluşmak üzere yaklaşık 45 milyon hektarın tuzluluğa maruz kaldığı ve bu tuzluluğun sebebebiyet verdiği kayıpların yıllık 27.3 milyar ABD dolarına tekabbul ettiği bildirilmektedir [7]. Dünyada ise 800 milyon ha alandan daha fazla alanda tuzluluk probleminin olduğu ve bu alan tarım yapılan karasal alanların %6'sına tekabül ettiği bilinmektedir [8]. Ayrıca tuzluluk, abiyotik stres faktörü olan kuraklıktan sonra ikinci en tahripkar faktör olmakta ve bitkilerin gelişimlerini kısıtlarken, ürün verimlerini de kademeli olarak düşürmektedir [9].

Topraktaki tuzluluğun en büyük müsebbibi olan sulama suyunun tuzluluk seviyesi (sulama kalitesi sınıfı) tarımsal alanda çok büyük önem arz etmektedir. Elektriksel iletkenlik (EC, electrical conductivity) (mikromhos/cm) ve Sodyum adsorpsiyon oranı (SAR) oranlarına göre, en iyi sulama suyu sınıfının en düşük SAR (0-6) ve EC (0-250)'ye sahip olan C1S1 sınıfı, en kötü sulama suyunun en yüksek SAR (26-30) ve en yüksek EC (>2250) değerine sahip olan C4S4 sulama sınıfı olduğu bilinmektedir [10].

Sulama sınıfları EC (mikromhos/cm) değerine göre 0-250 düşük tuzlu (1. Sınıf), 250-750 orta tuzlu (2. Sınıf), 750-2250 yüksek tuzlu (3. Sınıf), >2250 çok yüksek (4. Sınıf) tuzludur. SAR (%) değerine göre 0-10 arası az sodyumlu (1. Sınıf), 10-18 orta sodyumlu (2. Sınıf), 18-26 yüksek sodyumlu (3. Sınıf) ve >26 çok yüksek sodyumlu (4. Sınıf) sulardır. Her iki sınıflandırmada da birinci sınıf sular sulamada rahatlıkla kullanılırken, ikinci ve üçüncü sınıf suları tedbirler alınarak, drenajın iyi olduğu topraklarda kullanılmaktadır 4. sınıf kategorisine giren sular ise sulamada mecbur kalınmadığı sürece kullanılmaması gerekmektedir. Ancak mücbir durumlarda tuza toleransı yüksek olan bitkiler, iyi drenaj koşullarında, infiltrasyon hızı yüksek arazilerde kontrollü bir şekilde kullanılmaktadır [10].

Sulama suyuyla toprakta ortaya çıkan tuzluluk problemleri toprağın ihtiva ettiği tuzluluk seviyesine göre sınıflandırılmaktadır. Toprakta tuzluluk (EC_e, dS/m), 0-0.98 arasında olduğunda bitkiyi olumsuz etkilemeyecek kadar azdır. 0.98-1.71 oranı, az ve sadece tuza çok hassas olan bitkilerde verim kaybına sebebiyet verir. 1.71-3.16 aralığı tuzlu aralık olarak kabul edilir ve çok sayıda bitkide verim ve gelişme düşüşlerine neden olur. 3.16-6.07 aralığı çok tuzlu topraklar olarak kabul edilir ve sadece tuza dayanıklı bitkiler bu tip topraklarda ürün verebilir. >6.07 oranına sahip topraklar aşırı tuzludur ve çok az sayıda tuza dayanıklı bitki burada ürün verebilir [11].

Sodyum adsorpsiyon oranı (SAR) topraktaki tuzluluk seviyesinin belirlenmesinde çok önemli bir kriterdir. Kötü drenaj koşullarında topraktaki tuz konsantrasyonun artması; özellikle SAR değeri %10-15'i aştığında, kil agregatları dağılmış olur. Toprağın geçirgenliğini ve toprağın hava almasını azaltır. Toprağın yapısını bozar, bitkinin topraktan su ve besin alımını engelleyerek fotosentezi sekteye uğratır. Bitkinin boyu kısa, yapraklar küçük kalır. Gövde ve dallar uzayamaz. Çimlenme yavaş ve yetersiz olur. Çiçeklenmenin gecikmesine, çiçeklerin az açmasına ve tohumların kısa kalmasına, toprakta su olmasına rağmen osmotik denge bozulduğu için bitki topraktaki suyu alamaz ve fizyolojik kuraklık denilen bir olayın gerçekleşmesi sonucunda bitkinin ölümüne sebebiyet vermektedir [11]. Ayrıca topraktaki Na/K oranının artması fazla miktarda Na alımı ve yeteri kadar K alınamaması dolayısıyla bitkiyi negatif yönde etkilemektedir [12].

Pamuk verim açısından tuzluluğa karşı tolerant bir bitki sınıfına girmektedir [2]. Her ne kadar çimlenme, sürme ve fide döneminde tuzluluktan dolayı yavaşlama veya gecikme [13], olsa da yine de tuzluluğun negatif etkisi pamuk bitksinin türüne, çeşidine ve gelişme dönemine bağlıdır. *G. barbadance* L., *G. hirsutum* veya *G. arboreum* pamuk türlerine göre tuzluluğa karşı tolerant ve fide döneminde çimlenme dönemine nazaran daha fazla duyarlılık göstermektedir [14].

Pamuk bitkisi topraktaki elektriksel iletkenlik (EC) 7.7 dS $^{m-1}$ seviyesine kadar tolerant olan bir bitkidir [15], ancak EC 17 dS $^{m-1}$ seviyesine ulaştığında pamukta %50'ye varan verim kayıplarının olduğu gözlenmiştir [16].
Qadir & Shams [17], sularda 10 ve 20 dS $^{m-1}$ tuzluluk seviyelerinin pamuk genotiplerinin çimlenme üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 10 dS $^{m-1}$ seviyesinin bütün genotiplerde çimlenme oranını %47-84, 20 dS $^{m-1}$ seviyesinin ise %17-54 oranında değiştirdiğini bildirmişlerdir. Amjad ve ark. [18] farklı tuz seviyelerinin (1.5, 5, 10, 15, 20, 22, 30 dS $^{m-1}$) pamuk genotiplerinin çimlenme, fide uzunluğu ve ağırlığı üzerindeki etkisini inceledikleri araştırmalarında, tuz yoğunluğun artması fide uzunluğunu, fide ağırlığını ve çimlenme hızını düşürdüğünü; 10, 15, 22 ve 30 dS $^{m-1}$ seviyelerindeki tuz konsantrasyonlarının çimlenmeyi sırasıyla %11, 22, 44 ve 84 oranında azalttığını bildirmişlerdir.

Wang ve ark. [19] yaptıkları araştırma sonucunda pamuk bitkisinin çimlenme döneminde, fideleme dönemine nazaran tuzluluk stresine karşı daha hassas olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yine çimlenme dönemlerinde, tuz toleransının belirlenmesi noktasında, çimlenme potansiyeli, çimlenme oranı, yeni kütle ve vigor indeksinin kullanılabileceği belirtilmiştir [20].

Yapılan çalışmalar tuzluluğun pamuğun lif kalitesini olumsuz etkilediğini [21], hem *G. hirsutum* (Acala 1517D) hem de *G. barbadance* (Pima S-2) pamuk genotiplerinde pamuk lifinin uzunluğunu, mukavemetini

ve microner değerini düşürdüğü görülmüştür [21]. Sattar ve ark. [22], farklı tuz konsantrasyonlarının pamuğun (*Gosyypium arboreum* L.) çimlenmesi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, genotiplere 100-600 mM arasında değişen oranlardaki tuzlu su konsantrasyonları uyguladıklarını, bütün tuz konsantrasyonunda çimlenmeyi düşürdüğünü ancak 600 mM seviyesindeki tuzlu suda ise bitkilerin tamamen öldüklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı sulama sularındaki farklı NaCI seviyelerinin pamuk bitkisinin (*Gossypium hirsutum* L.) çimlenmesi üzerindeki etkilerini araştırmak ve tolerant çıkan çeşitlerin tuz problemi olan topraklarda ekilmesinin önünü açmaktır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Bingöl Üniversitesine bağlı Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde yürütülen bu çalışmada bitki materyali olarak Progen tohum A. Ş'den temin edilen PG 2018, Lima ve Edessa ile May tohumculuk firmasından temin edilen May 505 pamuk çeşitleri kullanılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Denemede kullanılan çeşitlerin tarımsal özellikleri

Çeşit adı	Tür adı	Genom gr.	Çeşit özellikleri	Referans
PG 2018	*G. hirsutum* L.	(AD)1	Orta erkenci, çorak arazilerde çimlenmesi iyi	[23]
Lima	*G. hirsutum* L.	(AD)1	Erkenci, kuraklığa toleranslı	[23]
Edessa	*G. hirsutum* L.	(AD)1	Erkenci, kuraklığa toleranslı	[23]
May505	*G. hirsutum* L.	(AD)1	Orta erkenci, çorak arazilerde çimlenmesi iyi	[24]

2.2. Yöntem

Deneme, laboratuvarda, oda sıcaklığında (24 ± 2°C) kurulmuştur. Denemede Türkiye'de yaygın ekimi yapılan, adaptasyonu, verimi, biyotik ve abiyotik hastalık ve zararlılara karşı reaksiyonları bilinen ve farklı firmalardan temin edilen ticari PG 2018, Lima, Edessa ve May 505 upland (*G. Hirsutum* L.) pamuk çeşitleri kullanılmıştır. 2020 yılında tesadüf parsellerinde faktöriyel düzenleme deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak kurulan denemede 0 mM, (Kontrol), 25 mM, 50 mM, 75 mM, 100 mM, 125 mM ve 150 mM olmak üzere, biri kontrol diğer altısı farklı oranlarda tuz içeren toplamda 7 farklı NaCI konsantrayonlarının pamuk bitkisinin çimlenmesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Her petri kabına konsantrasyonlardan 10 m L^{-1} hacminde çözelti eklenmiştir. Şahin ve Akçalı [25] her bir petri kabına 5, 10, 15, 20 ve 25 mL olmak üzere 5 farklı hacimde su vermiş ve en iyi çimlenmenin 10 m L^{-1} hacimde gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan tuz konsantrasyonları İzci [2] ve Çaçan & Kökten [26] çalışmaları baz alınarak belirlenmiştir. Pamuk bitkisi tuzluluk stresine karşı tolerant olmasına rağmen, yüksek tuz konsantrasyonları, etkisini pamuğun iki hassas devresi olan çimlenme ve fide döneminde kendisini göstermektedir [27;28].

Denemede kullanılan tohum harici materyallerin tümü 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. İki kat filtre kâğıdı kesilerek petri kaplarının dibini kaplayacak şekilde yerleştirilmiştir. Her bir petri kabı için 10'ar adet tohum sayılarak petri kaplarına yeknesak bir şekilde ekilmiştir. Her farklı doz için 500 m L^{-1}'lik solusyon hazırlanarak dozlardan 10'ar m L^{-1}'lik çözelti konulmuş ve 15 gün boyunca her gün çimlenen tohumlar sayılmıştır. Çimlenme 11. günde durmuş ve 14. günün sonunda çimlenenler sayılarak deneme sonlandırılmıştır. Alınan verilerin varyans analizi SAS (SAS Institute Inc.) [29] bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmış ve Duncan çoklu karşılaştırma testiyle ortalamalar karşılaştırılmıştır.

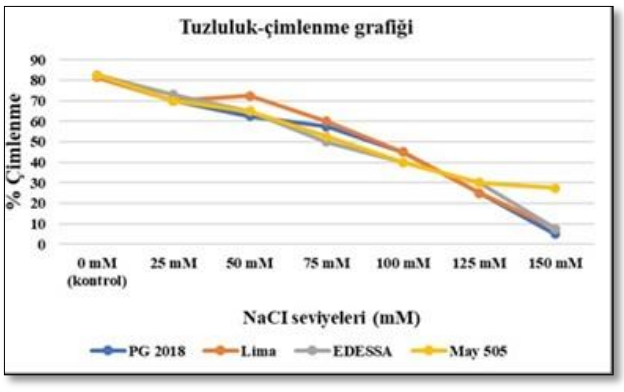
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Varyans analizi sonucunda farklı NaCI konsantrasyonlarının arasındaki farkın %99 güven seviyesinde çok önemli ($p<0.01$), çeşitlerin ve çeşit X tuz konsantrasyonları interaksiyonu %95 güven seviyesinde önemli olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Varyans analiz tablosu

Varyans kay.	S. D	K. T	K. O	F (Değeri)
Çeşit	3	166.9643	55,6548	0.54*
Tuz kons.	6	59.871,4286	9.978,571	103.16**
Çeşit X Tuz kons.	18	1.864,2857	103,5714	0.3952*
Hata	84	8.125,0000		
Genel	111	70.027,6786		
VK (%)	19			

Varyasyon katsayısı (VK): 19, *: $p<0.05$, **: $p<0.01$



Şekil 1. Farklı tuz (NaCI) seviyelerinde pamuk çeşitlerinin çimlenme yüzdesi (%)

Saf suyun (dH_2O) kontrol olarak kullanıldığı araştırmada neredeyse bütün çeşitlerin çimlenme yüzdeleri aynı olmuştur. Genel olarak sudaki NaCI seviyesi arttıkça kademeli olarak çeşitlerin hepsinde çimlenme yüzdesi düşmüştür. 25 mM konsantrasyonunda %70-73 aralığında çimlenme görülürken, 50 mM seviyesinde %60-72, 75

mM seviyesinde %49.5-62, 100 mM'da %39-48 oranında çimlenme çimlenme kaydedilmiştir. Çalışmamızda farklı firmadan temin edilen May 505 çeşidi hariç, aynı firmaya ait diğer üç çeşidin çimlenme yüzdeleri 150 mM tuz seviyesinde %10'nun altına düşmüştür (Şekil 1).

Zhang ve ark. [30] biri tuzluluğa karşı hassas (Simian 3), diğeri de tuzluluğa karşı tolerant olan (CCRI-79) iki pamuk çeşidini kullanarak, tuzluluğun büyüme parametleri prolin içeriği, fotosentez, antioksidan enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonu, iyon ve klorofil üzerine etkilerini araştırmak için, çeşitlere 0 mM, 80 mM, 160 mM, and 240 mM NaCl solusyonları vermiş ve 7 gün sonunda deneme sonlandırmışlardır. Çalışma neticesinde, CCRI-79 çeşidinin bütün büyüme parametlerinde ve bütün tuz konsantrasyonlarında Simian 3 çeşidine oranla daha tolerant olduğu ve daha iyi gelişme gösterdiği belirtilmiştir.

Çalışmamıza benzer sonuçlar Şahin & Akçalı [25] tarafından bildirilmiştir. PG 2018, Carisma, Flash ve Lydia çeşitleri ile yaptıkları çalışmada tuz seviyelerinin artmasına paralel olarak çeşitlerin çimlenmesinde önemli düzeyde bir düşüşün gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

Tablo 3. Pamuk çeşitlerinin farklı tuz seviyesindeki çimlenme ortalaması (%)

Çeşitler	PG 2018	Lima	EDESSA	May 505	Ort. (%)
0 (mM)	82.5 ±5.0a	80 ± 7.5 a	82.5 ± 5 a	82.5± 5.0 a	81.87
25 (mM)	70 ±0.2b	72.5 ±15 b	72.5 ±15 b	70 ± 0.2 b	71.25
50 (mM)	62.5 ± 15 ab	70 ± 0.0 b	65 ±10 ab	65 ±10 ab	65.62
75 (mM)	57.5 ± 5.0 c	60 ±16.3 bc	50± 8.0 c	52.5± 9.7 c	55.00
100 (mM)	45 ± 5.7 cd	45 ±5.7 cd	40 ±8.16 d	40± 8.16 d	42.50
125 (mM)	25 ± 17.0 e	25 ±17.0 e	30 ± 8.16 de	30 ± 8.16 de	27.5
150 (mM)	5 ± 5.7 f	7.5 ± 15 f	7.5± 15 f	27.5± 9.57 de	11.87
Ort. (%)	49.64	51.42	49.65	52.5	50.80

[a, b, c, d, e, f]: Çeşitlerin ortalamaları arasındaki farkları gösterir. Harfle birbirinden uzaklaştıkça ortalamalar arasındaki fark büyür.

PG 2018, Lima, Edessa ve May 505 çeşidi 0 mM ve 25 mM tuz konsantrasyonunda neredeyse eşit oranda çimlenme göstermiş ve aynı guruba dahil olmuşlardır (Tablo 3).

50 mM tuz seviyesinde ise çeşitler 2 farklı gruba ayrılmıştır. PG 2018, May 505 ve Edessa 60-65 aralığındaki çimlenme oranlarıyla birinci grupta sınıflandırılabilirken, Lima çeşidi 72.5 çimlenme ortalamasıyla ayrı bir sınıf oluşturmuştur (Tablo 3). İzci (2), Gossypium hirsutum L. pamuk türüne ait 3 çeşide (Carmen, Nazilli-84 ve NM-503) 0, 50, 100, 150, 200 ve 250 mM gibi farkı NaCI konsantrasyonları verilmiş ve deneme sonucunda en tolerant çeşidin Nazilli-84 olduğunu, bunu Carmenin izlediğini ve en az tolerant olan çeşidin de NM-503 olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca her üç çeşidinde 150 mM tuz seviyesine kadar toleranslı oldukları görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmaların çalışmamızla örtüştüğü görülmektedir.

Qadir & Shams [17] kumlu- killi-tınlı topraklarda (ECe = 1. 9 dS m-1) 4 pamuk (B-557, MNH-93, NIAB-78 and S-12) çeşidi ile 9:5:5:1 oranında 1Na2S04, NaCl ve MgS04 karışık tuzları kullanarak tuzluluğun pamuğun çeşitli dönemlerdeki etkisini araştırdıkları çalışmalarında, tuzluluğun gelişme periyodunda ve çimlenme döneminde çeşitler arasında önemli düzeyde farklılıklar ortaya çıkardığını bildirmişlerdir. Ayrıca tohum çimlenmesinin 10 ve 20 dS m^{-1} tuzluluk seviyesinde %47-84 ve 17-84 arasında değişiklik gösterdiğini, en az etkilenen çeşidin NIAB-78 olduğunu ve bunu MNH-93 çeşidinin takip ettiğini de belirtmişlerdir. Sıkder ve ark. [31], çimlenme ve fide döneminde 11 tane pamuk genotipinin tuz stresine karşı reaksiyonlarını araştırdıkları denemelerinde, Z9807, Z0228 ve Z7526 genotiplerinin tuzluluğa karşı tolerant, Z0710, Z7514, Z1910, Z7516 genotiplerinin orta tolerant, Z0102, Z7780, Z9648 ve Z9612 genotiplerinin de tuzluluğa karşı duyarlı çeşitler olduğunu bildirmişlerdir.

Ahmed ver ark. [32] upland pamuğun Z0102, Z9648, Z9612 ve Z7780 genotiplerini kullanarak tuzluluğun etksini araştırdıkları çalışmalarında bütün genotiplerinde önemli düzeyde biyokütle üretimininde düşüş olduğunu gözlemlereyerek bu genotiplerinin hepsinin tuzluluğa karşı hassas genotipler olduğunu bildirmişlerdir. Haider et al. [33], tuzluluk stresinin fotosentezi düşürdüğünü ortaya koymuşlardır. Chiconato ve ark. [34] fotosentez ile tuz stresi arasında çok karmaşık bir ilişki olduğunu ve tuz stresinin fotosentezi olumsuz etkilemesi, tuz konsantrasyonuna, gelişme dönemindeki tuza maruz kalma süresine ve bitkinin türüne bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

75 mM, 100 mM ve 125 mM tuzluluk seviyesinde bütün çeşitlerler yakın çimlenme yüzdeliği göstermesine rağmen, 150 mM'lık tuz konsantrasyonunda aynı firmadan elde edilen çeşitler (PG 2018, Lima ve Edessa) %10'nun altında bir çimlenme yüzdeliği göstermiştir. May 505 çeşidi 150 mM tuz seviyesinde ise %27.5'luk bir çimlenme oranı göstererek tuzlu topraklarda tolerant bir çeşit olduğu ortaya çıkmıştır. Bu çeşidin artan tuz oranına karşı dayanıklılık mekanizmasına sahip olduğunu (tuzluluğa karşı direnç geni) ve bu dayanıklılık özelliğini kontrol eden genlerin resesif durumundan dominant duruma geçmiş olabileceği düşünülebilmektedir (Tablo 3). Daha önceki yıllarda tuzluluk ile ilgili yapılan çalışmalar, pamuk gibi tuzluluğa tolerant olan bitkilerin tuzluluktan dolayı daha az biyokütle kayıpları verdiğini ve tuzluluğa hassas bitkilere nazaran tuzluluk stresi altında daha iyi gelişme gösterdikleri görülmüştür [32; 35; 34]. Pamukta tuzluluk stres faktörünün genetik mekanizmasının çözülmesi ile ilgili olarak da Asyatik

pamuk (*Gossypium arboretum*) türünün 215 tane genotipinin kullanılarak tuzluluk stresi ile ilgili yapılan ilişkilendirme haritalaması sonucunda Chr.7 üzerinde 2 tane önemli SNP (tek nükliotit farklılığı) bölge keşfettiklerini, ayrıca yine tuzlulukla ilişkili olarak 40 aday gen üzerinde dağılmış 9 tane zengin SNP bölgesinin belirlendiği bildirilmiştir [36].

Genel olarak en fazla çimlenme ortalamasına (%52.5) sahip çeşit May 505 olurken, bunu Lima çeşidi %51.42 çimlenme ortalamasıyla takip etmiştir. Edessa ve PG 2018 %49 gibi çimlenme ortalamasıyla üçüncü sırada yer almıştır (Tablo 3).

4. SONUÇ

Araştırma sonucunda bütün çeşitlerin artan tuz konsantrasyonlarından olumsuz etkilendikleri görülmüştür. Tuzlu su konsantrasyonlarının 100 mM seviyesine kadar çimlenmeyi yavaşlattığını, bu seviyeden sonraki tuz konsantrasyonlarının çimlenme oranını %50'nin altına düşürdüğünü ve 150 mM tuz konsantrasyonunda ise çimlenmeyi ciddi oranda azalttığı görülmüştür. 150 mM tuz konsantrasyonunda May 505 çeşidi hariç diğer bütün çeşitlerin çimlenmesinin %10'nun altına düştüğü görülmüştür. May 505 çeşidi en fazla çimlenme ortalamasıyla en tolerant çeşit olmuştur. Yüksek tuz konsantrasyonunda bile yüksek çimlenme oranı gösteren bu çeşit, sulama sınıfı ve toprağın tuzluluk oranı belirlendikten sonra orta derece tuzlu topraklarda ve normal sulama sınıfı koşullarında kontrollü olarak ekilebilecektir.

Teşekkür

Bu çalışmada teknik destek aldığım Bingöl Üniversitesi, Genç Meslek Yüksekokulu Organik Tarım bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Erdal Çaçan hocama ve bana tohum desteğinde bulunan May tohumculuk, Progen tohumculuk firması ve Bingol Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi personellerine teşekkürlerimi sunarım.

KAYNAKLAR

[1] Zhang J, Fang H, Zhou H, Sanogo S, Ma Z. Genetics, Breeding, and Marker-Assisted Selection for Verticillium Wilt Resistance in Cotton. *Crop Science*. 2014a; 54 (4), 1289-1303. Doi: 10.2135/Cropsci2013.08.0550.

[2] İzci B. Pamukta (*G. hirsutum* L.) farklı tuz konsantrasyonlarının in vitro koşullarda fotosentetik pigmentler üzerine etkisi. *Alınteri Zirai Bilimler Dergisi. 2009;* 17(2): 7-13.

[3] Erdoğan O. Pamukta Verticillium Solgunluğu. *Türkiye'nin Bitkisel Üretim ve Hayvancılık Dergisi. 2011; 31*.

[4] Anonima.www.taris.com.tr/pamukweb/t_pamuk_hak.asp. 2020a (Erişim tarihi: 11.12.2020, 22:47).

[5] FAO.http://www.fao.org/news/story/en/item/1236886/icode/ (Erişim tarihi: 11.12.2020).

[6] Öz M, Karasu A. Pamuğun çimlenmesi ve erken fide gelişimi üzerine tuz stresinin etkisi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2007; 21(1): 9-21.

[7] Anschu¨tz U, Becker D, Shabala S. Going beyond nutrition: regulation of potassium homoeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment. J Plant Physiol. 2014; 171:670–687

[8] Yılmaz E, Tuna AL, Bürün B. Bitkilerin tuz stresi etkilerine karşı geliştirdikleri tolerans stratejileri. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 2011; 7(1): 47-66.

[9] Gao Y, Lu Y, Wu M, et al. Ability to remove Na^+ and retain K^+ correlates with salt tolerance in two maize inbred lines seedlings. *Front Plant Sci.* 2016; 7:1716. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01716.

[10] Akkaya E. Demir,A, Varank G. investıgatıon of treated leachate reusıng. *Journal of Engineering and Natural Sciences (Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi).* 2011. Sigma 3. 149-155, 2011

[11] Ekmekçi E, Apan M, Kara T. Tuzluluğun bitki gelişimine etkisi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*. 2005; 20(3), 118-125.

[12] Korkmaz A, Karagöl A, Horuz A. Substrat kültüründe domates bitkisi yaprağında besin kapsamı, K/Na ve Ca/Na oranları üzerine besin çözeltisine artan dozlarda ilave edilen NaCl'ün etkileri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*. 2016; *31*(3), 441-447.

[13] Khorsandi F, Anagholi A. Reproductive compensation of cotton after salt stress relief at different growth stages. *J. Agron. Crop Sci*. 2009; 195:278–283.

[14] Abul-Naas AA, & Omran MS. Salt tolerance of seventeen cotton cultivars during germination and early seedling development. *Z Acker Pflanzenbau*. 1974;140: 229-236.

[15] Zhang L, Zhang G, Wang Y, Zhou Z, Meng Y, Chen B. Effect of soil salinity on physiological characteristics of functional leaves of cotton plants. *J Plant Res. 2013;* 126:293–304

[16] Kent LM, Lauchli A. Germination and seedling growth of cotton; salinity-calcium interactions. *Plant, Cell and Environment*. 1985; 8, 155-159.

[17] Qadir M, Shams M. Some agronomic and physiological aspects of salt tolerance in cotton (Gossypium *hirsutum* L.). *J. Agron. Crop Sci*.1997; 179: 101-106.

[18] Amjad J, Yasin M, Nabi G, Rauf A. Evaluation of germination and growth of cotton by presowing treatments under salt-stressed conditions. Pakistan Journal of Agricultural Research. 2002; 17(2): 170-175.

[19] Wang J, Wang D, Fan W, Song G, Wang S, Ye W. The characters of salt-tolerance at different growth stages in cotton. *Shengtai Xuebao Acta Ecol Sin*. 2011; 31:3720–3727

[20] Guo-Wei Z, Hai-Ling L, Lei Z, Bing-Lin C, Zhi-Guo Z. Salt tolerance evaluation of cotton (*Gossypium hirsutum*) at its germinating and seedling stages and selection of related indices. *Yingyong Shengtai Xuebao*. 2011; 22:2045–2053.

[21] Higbie SM, Wang F, Stewart JMcD, Sterling TM, Lindemann WC, Hughs E, Zhang J. Physiological response to salt (NaCl) stress in selected cultivated tetraploid cottons. *Int. J. Agron*. 2010; 1:1-12.
[22] Sattar S, Hussnain T, Javaid A. Effect of NaCl salinity on cotton (Gossypium arboreum L.) grown on MS medium and in hydroponic cultures. *The J. Anim. Plant Sci*. 2010; 20(2): 87-89.
[23] Anonim.https://www.progenseed.com/progen/19/pamuk-tohumu-lima.html. 2020b (Erişim tarihi: 12.12.2020).
[24] Anonimc.http://www.may.com.tr/en/products/cotton. 2020c. (Erişim tarihi: 12.12.2020)
[25] Şahin CB, Akçalı, CT. Farklı NaCl konsantrasyonlarının bazı pamuk çeşitlerinin çimlenmesi üzerine etkisi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimler Dergisi*. 2016; 2.
[26] Çaçan E, Kökten K. Bazı yonca (Medicago sativa L.) çeşitlerinin tuzluluğa toleransının belirlenmesi. *Uluslararası katılılımlı Türkiye 5. Tohumculuk kongresi. Diyabakır, Türkiye*. 2014.493-496.
[27] Nematzadeh GA. Salt-related Genes Expression in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Cultivars of Cotton (*Gossypium* sp. L.) under NaCl Stress. *J. Plant Mol. Breed*. 2018; doi: 10.22058/jpmb.2018.75866.1151.
[28] Frouin J, Languillaume A, Mas J, Mieulet D, Boisnard A, Labeyrie A, et al. Tolerance to mild salinity stress in japonica rice: A genome-wide association mapping study highlights calcium signaling and metabolism genes. *PLoS ONE. 2018;* 13(1): e0190964. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190964.
[29] SAS. SAS® University Edition. Available from https://sas.com. (Erişim tarihi: 25.06.2020).
[30] Zhang L, Ma H, Chen T, Pen J, Yu S, Zhao X. Morphological and Physiological Responses of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) *Plants to Salinity. PLoS ONE*. 2014b; 9(11): e112807. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112807
[31] Sıkder RK, Wang X, Jin D, *et al.* Screening and evaluation of reliable traits of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes for salt tolerance at the seedling growth stage. *J Cotton Res.* 2020; **3,** 11. https://doi.org/10.1186/s42397-020-00049-1
[32] Ahmed IM, Dai H, Zheng W, et al. Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley. *Plant Physiol Biochem*.2013;63:49–60. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.11.004.
[33] Haider MS, Jogaiah S, Pervaiz T, et al. Physiological and transcriptional variations inducing complex adaptive mechanisms in grapevine by salt stress. *Environ Exp Bot.* 2019;162:455-67. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.03.022.
[34] Chiconato DA, Junior GD, dos Santos DM, et al. Adaptation of sugarcane plants to saline soil.*Environ Exp Bot*. 2019;162:201 11. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.02.021.
[35] Singh DP, Sarkar RK. Distinction and characterisation of salinity tolerant and sensitive rice cultivars as probed by the chlorophyll fluorescence characteristics and growth parameters. *Funct Plant Biol*. 2014;41(7):727–36. https://doi.org/10.1071/FP13229.
[36] Dilnur, Tussipkan et al. Association Analysis of Salt Tolerance in Asiatic cotton (*Gossypium arboretum*) with SNP Markers. *International journal of molecular sciences* vol. 20,9 2168. 1 May. 2019, doi:10.3390/ijms20092168

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 118-126, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 118-126, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.809220 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Bortezomib ile Kalp Hasarı Oluşturulan Ratlarda Berberinin Oksidatif ve Nitrozatif Stres Üzerine Etkisi

Cihan GÜR[1*], Fatih Mehmet KANDEMİR[1], Aydın GENÇ[1]

[1] Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye
Cihan GÜR ORCID No: 0000-0001-6775-7858
Fatih Mehmet KANDEMİR ORCID No: 0000-0002-8490-2479
Aydın GENÇ ORCID No: 0000-0001-5367-0743

**Sorumlu yazar: cihan.gur@atauni.edu.tr*

(Alınış: 12.10.2020, Kabul: 14.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Berberin, Bortezomib, Kalp, Nitrozatif Stres, Oksidatif Stres, Rat

Öz: Bortezomib (BTZ), proteazom sistemini bloke ederek hücresel protein yıkımını engelleyen yeni nesil bir antineoplastik ilaçtır. Bu çalışmada BTZ kaynaklı kalp hasarına karşı bir izokinolin alkaloid olan berberinin (BBR) koruyucu etkileri araştırılmıştır. Çalışmada erkek Sprague Dawley cinsi ratlara 1., 3., 5. ve 7. günlerde periton içi 0,2 mg kg^{-1} BTZ ve 10 gün boyunca her gün 50 ve 100 mg kg^{-1} dozlarda BBR verildi. Ratların kalp dokularında malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), total antioksidan kapasite (TAK), total oksidan kapasite (TOK) ve nitrik oksit (NO) seviyeleri ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve laktat dehidrogenaz (LDH) aktiviteleri biyokimyasal yöntemler ile analiz edildi. Veriler BTZ'nin kalp dokusunda MDA, NO ve TOK seviyelerini, serumda LDH aktivelerini ve oksidatif stres indeksini (OSI) önemli ölçüde arttırdığını, GSH ve TAK seviyeleri ile SOD, KAT ve GPx aktivitelerini azaltarak oksidatif stresi tetiklediğini buna bağlı olarak dokuda hasar oluşturduğunu gösterdi. Buna karşın BBR, BTZ'nin neden olduğu oksidatif stresi ve nitrozatif stresi hafifleterek kalp hasarına karşı koruyucu etki gösterdi. Sonuçlara göre BBR'nin, BTZ ile indüklenen kardiyak toksisiteye karşı daha ileri çalışmalardan sonra koruyucu olarak kullanılabileceğini gösterdi.

The Effect of Berberine on Oxidative and Nitrosative Stress in Rats with Bortezomib-Induced Heart Damage

Keywords
Berberine, Bortezomib, Heart, Nitrosative Stres, Oxidative Stres, Rat

Abstract: Bortezomib (BTZ) is a new generation antineoplastic drug that blocks cellular protein degradation by blocking the proteasome system. In this study, the protective effects of berberine (BBR), an isoquinoline alkaloid, against BTZ-induced heart damage were investigated. In the study, male Sprague Dawley rats were given intraperitoneal 0.2 mg kg^{-1} BTZ on the 1st, 3rd, 5th and 7th days and BBR doses of 50 and 100 mg kg^{-1} every day for 10 days. In the heart tissues of rats, malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), total antioxidant capacity (TAC), total oxidant capacity (TOC) and nitric oxide (NO) levels and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and lactate dehydrogenase (LDH) activities were analyzed by biochemical methods. The data showed that BTZ significantly increased MDA, NO and TOC levels in heart tissue, LDH activities in serum and oxidative stress index (OSI), triggered oxidative stress by decreasing GSH and TAC levels and SOD, CAT and GPx activities, thereby causing tissue damage. On the other hand, BBR showed a protective effect against heart damage by relieving oxidative stress and nitrosative stress caused by BTZ. The results showed that the BBR can be used as a protective agent against BTZ-induced cardiac toxicity after further studies.

1. GİRİŞ

Ubikuitin proteazom sistemi (UPS), hücre içi protein yıkımını düzenlemek için temel hücresel yoldur. Bu yol birkaç bileşenden oluşan karmaşık bir proteolitik mekanizma ile gerçekleştirilir. Araştırmacılar 1980'lerin başında UPS'in özelliklerinin belirlenmesinden kısa bir süre sonra, yeni proteazom inhibitörlerinin geliştirilmesiyle birlikte tümör hücrelerinde seçici olarak apoptozu indüklemek için birkaç girişimde bulunmuşlardır [1, 2].

Boronik asit dipeptidi olan bortezomib (BTZ), proteazom sistemini bloke ederek hücresel protein yıkımını engelleyen yeni nesil bir antineoplastik ilaçtır. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 2003 yılında başta multipl miyelom olmak üzere prostat, meme, akciğer, böbrek ve yumurtalık kanserleri gibi çeşitli tümörlerin tedavisinde kullanılmak üzere onay verilmiş ve yaygın bir şekilde kullanıma başlamıştır [3, 4]. BTZ, ubikuitin-proteazom sistemi yoluyla hücre içi proteinlerin parçalanmasından sorumlu olan 26S proteazomunun proteaz aktivitesini inhibe etmektedir. Proteazomal aktivitenin inhibisyonu, çoklu hücre sinyalizasyonunu ve diğer yolakları bozmakta, hücre döngüsünün bozulmasına yol açmakta ve apoptozu ve aktif hücre ölümünü indüklemektedir [5]. BTZ'nin, maya 20S proteazomunun β5 alt biriminde treonin1 (Thr1) ile son derece güçlü, ancak tersine çevrilebilir bir kompleks oluşturduğu gösterilmiştir [6]. BTZ'nin bu etkileri kötü huylu hücrelerde daha şiddetli olsa da normal hücrelerin de bu durumdan etkilenmesi kaçınılmazdır [3]. Tersinir bir proteazom inhibitörü olan BTZ ile tedavinin yan etkileri esas olarak nörolojik komplikasyonlarla (periferal nöropati) ilişkilidir [7]. Bununla birlikte son vaka raporları, BTZ ile tedavinin kardiyak olaylarla ilişkili olabileceğine dair endişe verici kanıtlar sunmaktadır [8, 9].

Fitokimyasallar, koruyucu veya hastalık önleyici etkilere sahip olan fakat besleyici özellikleri bulunmayan bitkisel kimyasallardır [10]. Maliyetlerinin düşük olması ve doğal gıdalardan kolayca elde edilmelerinden dolayı bu kimyasallara olan ilgi her geçen gün artmaktadır [11]. Klinik öncesi çalışmalar, fitokimyasallara ait antioksidan, anti-enflamatuvar ve anti-apoptotik özellikleri de dahil olmak üzere kardiyoprotektif etkilerinin altında yatan çeşitli mekanizmaları tanımlamışlardır [12]. Başta *Hydrastis canadensis* L. olmak üzere Berberidaceae ve Ranunculaceae familyalarına ait birçok bitkiden izole edilen bir alkaloid olan berberin (BBR) (5,6-dihidro-9,10-dimethoksibenzo[g]-1,3-benzodioksolo [5,6-α] kinolizinyum), geleneksel Çin tıbbında uzun yıllardan beri kullanılmaktadır [13]. Bu bileşik, antioksidan, anti-enflamatuar, anti-mikrobiyal, anti-kanser, anti-hipertansif, renoprotektif ve anti-hiperglisemik gibi geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptir [14, 15]. BBR, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) için bir tutucu olarak hareket ederek serbest radikallere karşı koruyucu bir etkiye sahiptir. Ayrıca BBR'nin süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimleri aktive ettiği bilinmektedir. BBR'nin malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) gibi oksidatif stres parametrelerinin seviyelerini ise azalttığı gösterilmiştir [15]. Literatürde BBR'nin kardiyovasküler sistem üzerine bir dizi yararlı etkisinin olduğu bildirilmesine rağmen bu etkilerin mekanizması hala net olarak aydınlatılamamıştır [13].

Sunulan çalışmada BTZ ile kalp hasarı oluşturulan ratlarda, BBR'nin etkilerinin bazı biyokimyasal parametreler ile araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kimyasallar

Bortezomib (3,5 mg IV/SC), Koçak Farma'dan (İstanbul, Türkiye) temin edildi. Berberin ve diğer kimyasallar Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) satın alındı.

2.2. Deneyde Kullanılan Hayvanlar

Çalışmanın yürütülebilmesi için gerekli olan etik kurul onayı, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Onay no: 2020–9/133). Deneyde yaşları 8-10 haftalık olan toplam 35 adet Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanılmıştır. Deney başlangıcında hayvanların ağırlıkları 250-270 g'dı. Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (Erzurum, Türkiye) temin edilen ratların deneysel uygulamaları yine bu merkezde gerçekleştirilmiştir. Uygulama öncesi 1 haftalık süre boyunca ratların ortama adaptasyonları sağlandı. Ortam şartları 24 ± 1 °C ve 45 ± 5% nem oranına sahipti. Ayrıca ratların bulundukları ortamın 12 saat aydınlık/karanlık döngüsüne sahip olması sağlandı. Ratlar *ad libitum* olarak verilen standart pelet yem ve musluk suyu ile beslendiler.

2.3. Çalışma Dizaynı

Ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Hayvanlarda BTZ ile kardiyotoksisite meydana getirebilmek için Xie ve ark.'nın [16] belirlediği kümülatif doz (0,8 mg kg^{-1}) kullanıldı. BBR ise Moghaddam ve ark. [17] tarafından belirlenen dozlara göre verildi. Gruplar şu şekilde dizayn edildi:

Sağlıklı Kontrol : Ratlara 1., 3., 5. ve 7. günlerde periton içi serum fizyolojik verildi.

Beberin-100 : Ratlara 10 gün boyunca her gün gastrik gavaj vasıtasıyla oral olarak 100 mg kg^{-1} vücut ağırlığı BBR verildi.

Bortezomib : Ratlara 1., 3., 5. ve 7. günlerde periton içi 0,2 mg kg^{-1} vücut ağırlığı BTZ verildi.

BTZ + BBR-50 : Ratlara 1., 3., 5. ve 7. günlerde periton içi 0,2 mg kg^{-1} vücut ağırlığı BTZ verildi. Ayrıca 10 gün boyunca her gün gastrik gavaj vasıtasıyla oral olarak 50 mg kg^{-1} vücut ağırlığı BBR verildi.

BTZ + BBR-100: Ratlara 1., 3., 5. ve 7. günlerde periton içi 0,2 mg kg^{-1} vücut ağırlığı BTZ verildi. Ayrıca 10 gün boyunca her gün gastrik gavaj vasıtasıyla oral olarak 100 mg kg^{-1} vücut ağırlığı BBR verildi.

Son BBR uygulamasından 24 saat sonra (11. gün) ratlar hafif sevofloran anestezisi altında dekapite edilerek kanları ve kalp dokuları alındı. Kan örnekleri biyokimyasal analizler için antikoagulantsız vakumlu tüplere aktarılarak, 3000 devirde +4 °C'de 10 dk. santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı ve biyokimyasal analizler yapılıncaya kadar -80 °C'de saklandı. Kalp dokuları serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra biyokimyasal analizler yapılıncaya kadar aynı şekilde -80 °C'de saklandı.

2.4. Kalp Dokusunda Lipid Peroksidasyon Derecelerinin Belirlenmesi

Kalp dokusu bir homojenizatör vasıtasıyla (Tissue Lyser II, Qiagen, Netherlands) sıvı nitrojen içerisinde toz haline getirildi ve tüm analizlerde toz haline getirilmiş dokular kullanıldı. Ardından yine bu cihaz vasıtasıyla dokular 1,15% potasyum klorür ile 1:10 (w v^{-1}) oranında sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 15 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj edildi. Lipid peroksidasyon derecesinin tespiti için elde edilen homojenatlarda MDA seviyeleri ölçüldü. MDA analizleri Placer ve ark.'nın [18] metoduna göre yapıldı. Sonuçlar nmol g^{-1} doku olarak belirlendi.

2.5. Kalp Dokusunda Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidanların Seviyelerinin Belirlenmesi

Enzimatik (SOD, KAT ve GPx) ve enzimatik olmayan (GSH) antioksidan seviyeleri kalp dokusundan elde edilen homojenatlarda ölçüldü. SOD ve KAT aktiviteleri için homojenatlar 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilirken GPx aktivitesi ve GSH miktarının ölçümü için 10000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Tüm analizlerde homojenatların santrifüj işlemi +4 °C'de gerçekleştirildi. SOD aktivitesi için Sun ve ark.'nın [19] metodu kullanıldı. Aktivite seviyesi U g^{-1} protein olarak belirlendi. KAT aktivitesi için Aebi'nin [20] belirlediği metot kullanıldı ve sonuçlar katal g^{-1} protein olarak verildi. GPx aktivitesi ve GSH miktarı sırasıyla Lawrence ve ark. [21] ve Sedlak ve ark'nın [22] metotlarına göre yapıldı. GPx aktivitesi seviyesi U g^{-1} protein olarak verilirken GSH miktarı nmol g^{-1} olarak ifade edildi.

2.6. Kalp Dokusunda Total Protein Seviyelerinin Analizi

Kalp dokusunun total protein içeriği, Lowry ve ark.'nın [23] belirlediği yönteme göre daha önce elde edilen homojenatlar kullanılarak yapıldı.

2.7. Kalp Dokusunda TAK ve TOK Seviyelerinin Belirlenmesi

Kalp dokusunda total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan kapasite (TOK) seviyeleri Erel'in sırasıyla 2004 [24] ve 2005'de [25] geliştirdiği metotlara göre ticari kitler vasıtasıyla ELISA okuyucuda (Bio-Tek, Winooski, VT, ABD) ölçüldü.

2.8. Kalp Dokusunda OSI'nin Belirlenmesi

Oksidatif stres indeksi (OSI), TOK'un TAK'a oranıdır ve oksidatif stres derecesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir [26].

2.9. Kalp Dokusunda NO Seviyelerinin Belirlenmesi

Kalp dokusunda total NO seviyesini ölçmek için ticari bir NO tespit kiti (Enzo Life Science, Katolog Numarası: ADI-917-020) kullanıldı. Doku NO ölçümü, nitratın nitrite enzimatik dönüşümü ve Griess reaksiyonunun renkli bir azo boya ürünü olan nitritin kolorimetrik tespitine dayanır.

2.10. Serum LDH Aktivitelerinin Belirlenmesi

Serumdaki LDH aktivitesi Mindray Perfect Plus 400 cihazı kullanılarak test edildi. Sonuçlar U L^{-1} olarak ifade edildi.

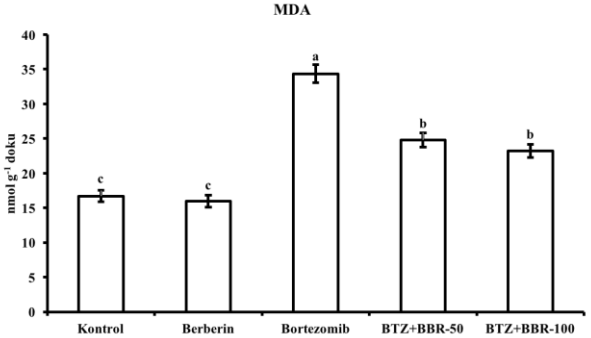
2.11. İstatistiksel Analiz

Biyokimyasal yöntemlerle elde edilen verilerin istatistiksel olarak incelenmesi, tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile yapıldı. Gruplar arasında farkın olup olmadığı Tukey's multiple comparison testi ile belirlendi. Sonuçlar ortalama ± standart hata (S.E.M) olarak verildi. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1.Berberinin Kalp Dokusunda Lipid Peroksidasyon Seviyeleri Üzerine Etkisi

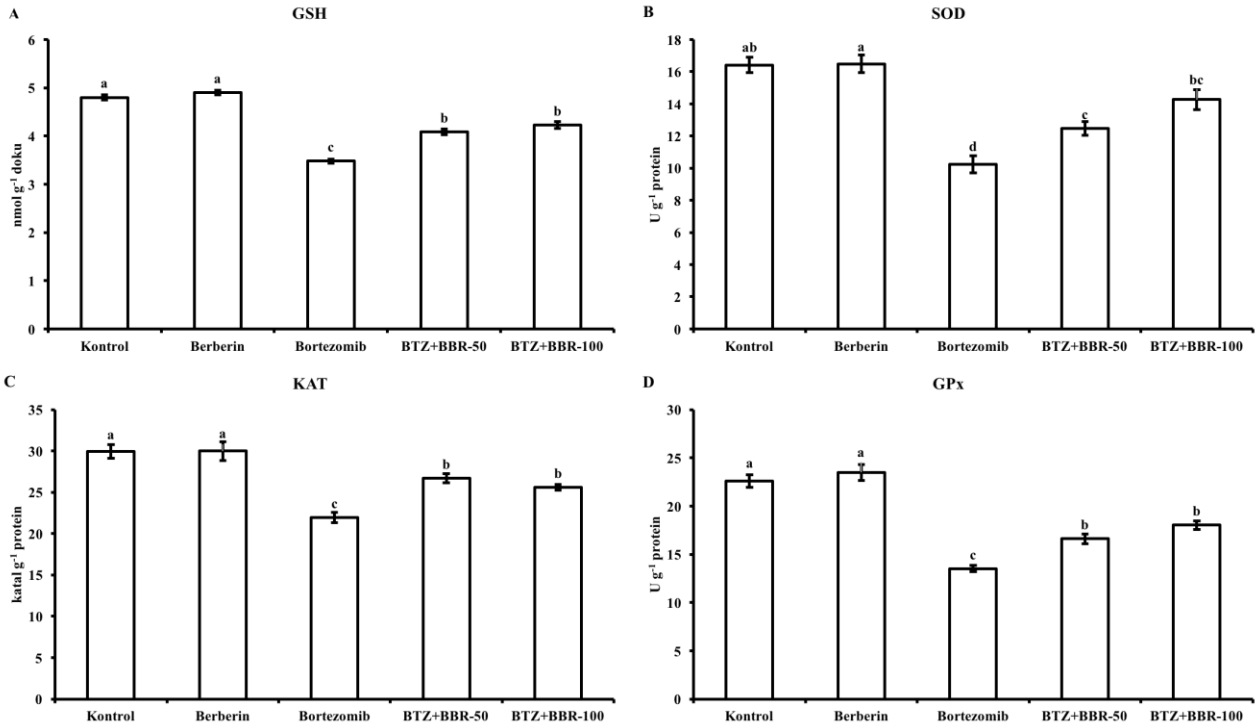
Kalp dokusunda BTZ'nin neden olduğu lipid peroksidasyonuna karşı BBR'nin etkileri Şekil 1'de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlar, BTZ'nin lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA seviyelerini kontrol grubuna göre arttırdığı belirlendi ($p < 0.05$). Bununla birlikte BTZ kaynaklı lipid peroksidasyonunun BBR ile hafifleyerek kontrol grubu seviyelerine yaklaştığı görüldü ($p < 0.05$). Ancak BBR'nin farklı dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi.



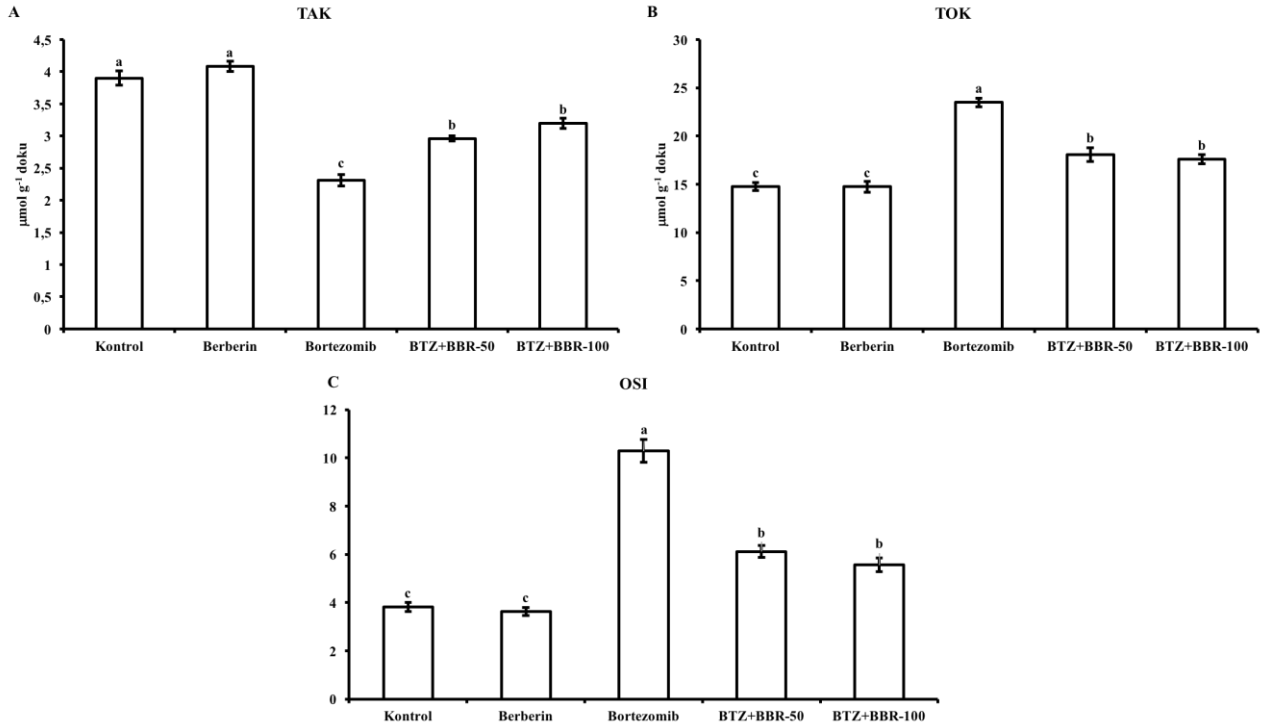
Şekil 1. Bortezomib ve berberin uygulamasının ratların kalp dokularında lipid peroksidasyon belirteci olan MDA seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ortalama ± S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler (a-c) gruplar arası farkı göstermektedir ($p < 0.05$). (BTZ: Bortezomib, BBR: Berberin, MDA: Malondialdehit)

3.2. Berberinin Kalp Dokusunda Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidan Belirteçleri Üzerine Etkisi

Çalışmada, BTZ'nin antioksidan enzim aktivitelerini kontrol grubu ile karşılaştırıldığında inhibe ettiği belirlendi ($p < 0.05$). Ayrıca vücuttaki önemli bir antioksidan olan GSH depolarının BTZ uygulaması ile azaldığı görüldü ($p < 0.05$). Bu durum BTZ'nin kalp dokusunda oksidatif stres meydana getirdiğini göstermektedir. Buna karşın BTZ ile birlikte BBR uygulaması yapılan gruplarda yalnız BTZ grubuna göre GSH seviyelerinin arttığı ve SOD, KAT ve GPx aktivitelerinin kontrol grubu seviyelerine yaklaştığı belirlendi ($p < 0.05$). Kalp dokusunda enzimatik ve enzimatik olmayan belirteçlere ait tüm sonuçlar Şekil 2'de özetlenmiştir.



Şekil 2. Bortezomib ve berberin uygulamasının ratların kalp dokularında enzimatik (SOD, KAT ve GPx) ve enzimatik olmayan (GSH) antioksidan belirteçler üzerine etkileri. Veriler ortalama ± S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler (a-d) gruplar arası farkı göstermektedir ($p < 0.05$). (BTZ: Bortezomib, BBR: Berberin, GSH: Glutatyon, SOD: Süperoksit Dismutaz, KAT: Katalaz, GPx: Glutatyon Peroksidaz)



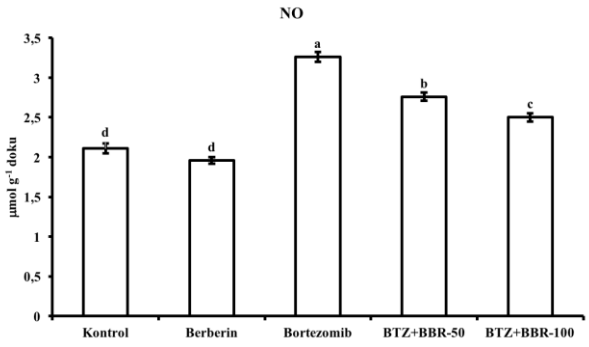
Şekil 3. Bortezomib ve berberin uygulamasının ratların kalp dokularında TAK, TOK ve OSI üzerine etkileri. Veriler ortalama ± S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler (a-c) gruplar arası farkı göstermektedir ($p < 0.05$). (BTZ: Bortezomib, BBR: Berberin, TAK: Total Antioksidan Kapasite, TOK: Total Oksidan Kapasite, OSI: Oksidatif Stres İndeksi)

3.3. Berberinin Kalp Dokusunda TAK-TOK Seviyeleri ve OSI Üzerine Etkisi

Sunulan çalışmada, BTZ'nin TOK seviyelerini ve OSI'yi kontrol grubuna göre arttırdığı, BBR'nin ise antioksidan özellik göstererek bu belirteçleri azalttığı tespit edildi ($p < 0.05$). Ayrıca BTZ'nin kalp dokusunda antioksidan kapasiteyi düşürdüğü görüldü ($p < 0.05$). Buna karşın BTZ'nin azalttığı TAK seviyelerini BBR'nin arttırarak kontrol grubu seviyelerine yaklaştırdığı belirlendi ($p < 0.05$). BBR'nin farklı dozları arasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark görülmedi. Kalp dokusunda TAK-TOK seviyeleri ile OSI'ye ait tüm sonuçlar Şekil 3'te sunulmuştur.

3.4. Berberinin Kalp Dokusunda NO Seviyeleri Üzerine Etkisi

Kalp dokusunda NO seviyeleri Şekil 4'te verilmiştir. Buna göre BTZ uygulaması yapılan hayvanların kalp dokularında NO seviyelerinin kontrol grubuna göre oldukça yüksek olduğu belirlendi ($p < 0.05$). BTZ ile birlikte BBR verilen grupların NO seviyelerini yalnız BTZ uygulanan gruba göre doz bağımlı olarak azalttığı görüldü ($p < 0.05$).

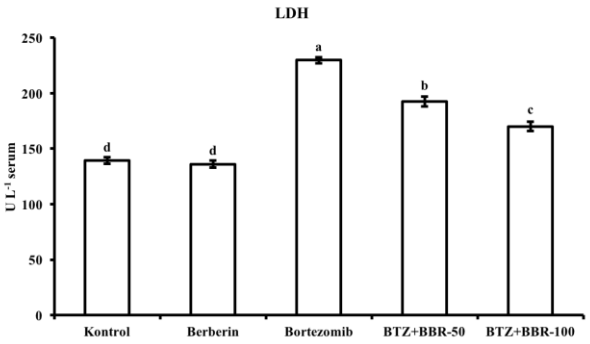


Şekil 4. Bortezomib ve berberin uygulamasının ratların kalp dokularında NO seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ortalama ± S.E.M olarak ifade edildi. Sütunlar üzerindeki harfler (a-d) gruplar arası farkı göstermektedir ($p < 0.05$). (BTZ: Bortezomib, BBR: Berberin, NO: Nitrik Oksit)

3.5. Berberinin Kalp Dokusunda LDH Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Çalışmada kalp hasarının önemli bir göstergesi olan LDH aktiviteleri ölçüldü ve elde edilen sonuçlar Şekil 5'te özetlendi. Bulgulara göre BTZ'nin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kalp dokusuna hasar vererek serum LDH aktivitelerinde artışa neden olduğu belirlendi ($p <$

0.05). BBR ise BTZ kaynaklı kardiyak hasarı azaltarak LDH aktivitelerinin kontrol grubuna yaklaşmasını sağladı ($p < 0.05$). BBR'nin 50 ve 100 mg kg^{-1} vücut ağırlığı dozları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü.



Şekil 5. Bortezomib ve berberin uygulamasının ratların kalp dokularında LDH aktiviteleri üzerine etkileri. Veriler ortalama ± S.E.M olarak ifade edildi. Sütünlar üzerindeki harfler (a-d) gruplar arası farkı göstermektedir ($p < 0.05$). (BTZ: Bortezomib, BBR: Berberin, LDH: Laktat Dehidrogenaz)

4. TARTIŞMA

Tümör hücrelerinde hayati hücresel yolları hedefleyen yeni ilaçların kullanımı, neoplastik hastalıklar için tedavi sonuçlarını önemli ölçüde iyileştirmiştir [27, 28]. Bcr-Abl antagonistleri, monoklonal antikorlar ve proteazom inhibitörleri gibi ilaçlarla hematolojik malignitelerin tedavilerinde iyi sonuçlar elde edilmiştir. Bu başarıların sonucu olarak uzun vadeli hayatta kalan hasta sayısında önemli derecede artışlar meydana gelmektedir. Bununla birlikte kanser tedavilerinin komplikasyonları da dahil olmak üzere buna eşlik eden hastalıkların önemi de her geçen gün artmaktadır [7]. BTZ ile ilgili literatürde dikkat çekici bir oranda nörotoksisite çalışmaları bulunmakta fakat kardiyotoksik etkileri ve bu etkileri iyileştirebilecek maddeler yeteri kadar araştırılmamıştır. Bundan yola çıkılarak sunulan çalışmada BTZ'nin neden olduğu kardiyotoksisiteye karşı BBR'nin etkileri bazı biyokimyasal belirteçler kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, BTZ'nin özellikle oksidatif strese yol açarak kardiyotoksisiteye neden olduğu ve bu toksik etkilere karşı BBR'nin umut verici bir madde olduğu ortaya çıkmıştır.

ROS'lar ve RNS'ler, oksidatif fosforilasyon sırasında fizyolojik olarak oluşan serbest radikallerdir. Çeşitli fizyolojik rolleri vardır ve vücuttan hızla uzaklaştırılırlar [29]. Oksidatif stres, ROS'ların seviyelerinde artış veya antioksidan seviyelerinde bir azalmanın sonucu olarak meydana gelir. Yani oksidan türlerin seviyesi antioksidan seviyelerini aştığında, redoks homeostazı bozulur [30] ve bu da oksidatif strese neden olur. Normal sinyal iletim süreçleri için düşük konsantrasyonlarda oksidan türlere ihtiyaç duyulsa da bu maddelerin daha yüksek seviyelerinin birçok patolojik durumda rol oynadığı gösterilmiştir [31-33] ROS'ların çoğu mitokondride üretilmektedir. Kardiyomiyositler mitokondri bakımından oldukça zengin hücrelerdir. Öyle ki kardiyomiyositlerdeki mitokondri sayısı diğer dokulara göre % 35-40 daha fazladır. Bu durum kalp hücrelerinde ROS üretiminin daha fazla olmasına ve oksidatif stresin daha şiddetli gerçekleşmesine neden olmakta ve sonuç olarak doku hasarına karşı daha duyarlı olmasına neden olmaktadır [34].
Lipitler, serbest radikal hasarına en duyarlı substratlardır [35, 36]. MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin

oksidasyon ürünüdür ve artan MDA içeriği, lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir [37-39]. Önceki çalışmalarda çeşitli toksik ajanların ROS üretimine bağlı olarak lipid peroksidayonu meydana getirdiğini ve buna bağlı olarak MDA seviyelerinde artışların olduğu bildirilmiştir [40-44]. Artan MDA seviyelerinin oksidatif stresin önemli bir göstergesi olduğunu ve oksidatif stresin de kalp dahil çeşitli dokularda toksisiteye yol açtığı yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır [28, 45-47]. Sunulan çalışmada BTZ'nin kalp dokusunda lipit peroksidasyonuna neden olarak MDA seviyelerini önemli derecede arttırması, bu dokuda oksidatif stresi tetiklediğini göstermektedir. Bununla birlikte BBR'nin antioksidan özellik göstererek oksidatif stresi hafiflettiği ve kalp dokusunu BTZ kaynaklı hasardan koruyabileceğini gösterdi. Önceki bir çalışmada da BBR'nin methotrexate ile indüklenen toksisitede oksidatif strese karşı koruyucu özellik göstererek MDA seviyelerini azalttığı rapor edilmiştir [15].

Biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin ortadan kaldırılması, serbest radikallere karşı önemli savunma sistemleri olarak işlev gören enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından sağlanır [48-52]. İndirgenmiş GSH, ROS'ları (peroksinitrit, hidroksil radikali, lipid peroksil radikali ve H_2O_2) ve diğer serbest radikalleri temizleyen enzimatik olmayan bir antioksidandır. GSH, GPx için bir substrat görevi görür. Bu nedenle GSH seviyelerindeki düşüş, azalmış GPx aktivitesi ile sonuçlanır. Diğer antioksidan enzimler, sırasıyla süperoksit anyonlarının ve hidrojen peroksitin parçalanmasını katalize eden SOD ve KAT'dır [53]. Miyokardın diğer dokulara göre SOD, KAT ve GPx gibi antioksidan enzim içeriğini daha düşük seviyelerde bulundurması, oksidatif stresin daha şiddetli gerçekleşmesine neden olmaktadır. SOD, zararlı süperoksit radikallerini H_2O_2'ye dönüştürebilen doğal bir süperoksit radikal temizleyicisidir [34]. KAT enzimi H_2O_2'yi moleküler oksijen ve suya parçalayarak oksidatif stresin azalmasına katkıda bulunabilir [48]. GPx enzimi hem mitokondri hem de sitozolde bulunur ve H_2O_2'nin temizlenmesinde merkezi bir role sahiptir [34]. Bu enzimler, ROS'ları gidermek için birlikte çalışırlar ve fizyolojik konsantrasyonlarındaki küçük sapmalar, hücresel proteinlerin, lipitlerin ve DNA'nın oksidatif hasara karşı direnci üzerinde etkili olabilir. Sonuç olarak bu antioksidan enzimlerin aktivitesi, dokuları ve organları oksidatif strese karşı korumak için gerekli olan önemli faktörlerdir [48]. Önceki çalışmalarda çeşitli kanser türlerinin tedavilerinde kullanılan ilaçların vücutta antioksidan savunma sisteminde görevli olan bu enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivitelerini ve seviyelerini azaltarak oksidatif strese neden olduğu ve dokularda işlev bozukluğuna yol açan toksisiteleri meydana getirdikleri rapor edilmiştir [54-59]. Sunulan çalışmada BTZ'nin kalp dokusunda SOD, KAT ve GPx aktiviteleri ile GSH seviyelerini azalttığı ve sonuç olarak oksidatif stres oluşumuna önemli bir katkı sağladığı belirlendi. Bununla birlikte BBR'nin bu antioksidanların seviyelerini arttırarak oksidatif stresi hafiflettiği görüldü. Önceki çalışmalarda benzer şekilde BBR'nin kanser tedavisinde kullanılan farklı ilaçlarla meydana getirilen oksidatif stresi azaltarak dokularda önemli bir koruma sağladığı bildirilmiştir [15, 60].

Serum ve dokularda çok sayıda farklı antioksidan bileşen vardır. Antioksidan durumunun belirlenmesi için her bir antioksidan bileşenin ölçülmesi zordur. Ayrıca bazı antioksidanların birbirine yardımcı etki göstermelerinden dolayı sadece bir antioksidanın belirlenmesi, kombine etkilerini doğru şekilde yansıtamaz [61]. Aynı şekilde oksidan moleküllerin tek tek ölçümü pratik olmadığından, oksidatif stresi değerlendirmek için farklı bir parametre olarak TOK seviyesinden yararlanılabilir [24]. Son derece yüksek ROS üretiminde, vücudun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü korumak için antioksidan enzimler de arttırılır. Bu nedenle, vücuttaki oksidatif stresin tam olarak belirlenmesi için TAK ve TOK seviyelerinin test edilmesi yetersiz olabilir [35]. OSI, oksidatif stresin belirlenmesi için anahtar faktördür. Bu konu ile ilgili sunulan bir çalışmada, kanser tedavisinde etkin olarak kullanılan cisplatinin TAK seviyelerini değiştirmediği, TOK seviyeleri ve OSI'de ise artışa neden olduğu belirtilmiştir [26]. Sunulan çalışmada ise BTZ'nin TAK seviyelerini önemli ölçüde azalttığı, TOK seviyelerini ve OSI'yi ise arttırdığı belirlendi. Buna karşın BBR'nin OSI'yi ve TOK seviyelerini azaltarak, TAK seviyelerini ise arttırarak oksidatif strese karşı önemli bir koruyucu etki gösterdi. Bizim sonuçlarımıza benzer olarak önceki bir çalışmada BBR'nin kurşun ile indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu özellik gösterdiği ve kurşunun arttırdığı TOK seviyelerini azalttığı ve azalmış TAK seviyelerini ise kontrol grubu seviyelerine çektiği bildirilmiştir [62].

Vasküler tonusun önemli bir belirleyicisi olduğu bilinen ve kalp fonksiyonu ve hastalıkta farklı rollere sahip olabilen bir diatomik serbest radikal olan NO'nun, birçok kardiyovasküler hastalık formunun patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Yakın zamanda aşırı NO'nun miyokardiyal kontraktiliteyi azaltarak ve ejeksiyon süresini kısaltarak sistolik fonksiyonu baskıladığı gösterilmiştir [63]. Birkaç antineoplazik ajanın NO üretimini uyardığı gösterilmiştir [64, 65]. Sunulan çalışmada BTZ'nin de NO seviyelerini arttırdığı ve buna bağlı olarak nitrozatif stres meydana getirdiği belirlendi. Öte yandan BBR uygulamasının NO seviyelerini azaltarak nitrozatif stresi hafiflettiği görüldü.

Çalışmamızda BTZ kaynaklı oksidatif stresin kalp dokusunda meydana getirdiği hasar hakkında fikir edinebilmek için serumda LDH aktivitesi ölçüldü. Sonuçlar BTZ'nin serum LDH aktivitesinde artışa neden olduğunu gösterdi. Buna karşın BTZ ile artan serum LDH aktivitesinin BBR uygulaması ile azaldığı belirlendi. Önceki bir çalışmada cisplatinin kardiyak hasar meydana getirerek LDH seviyelerinde artış meydana getirdiği bildirilmiştir [66]. Başka bir çalışmada doksorubisin uygulamasının miyokardiyal hasara neden olarak arttırdığı LDH aktivitesini BBR'nin normal seviyelere indirdiği ve bu fitokimyasalın doksorubisine bağlı kardiyotoksisitede koruyucu bir role sahip olabileceği belirtilmiştir [67].

5. SONUÇ

Birlikte ele alındığında, BTZ'nin oksidatif strese bağlı olarak kalp dokusunda toksisite meydana getirebileceği ve meydana gelen bu toksisiteye karşı BBR'nin önemli bir koruyucu etkinliğe sahip olabileceği belirlendi. BTZ kaynaklı kardiyak toksisitede BBR'nin etkilerinin daha ileri çalışmalar ile araştırılmasından sonra bu bitkisel ilacın BTZ hasarına karşı koruyucu olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Argyriou AA, Cavaletti G, Bruna J, Kyritsis AP, Kalofonos HP. Bortezomib-induced peripheral neurotoxicity: an update. Arch Toxicol. 2014;88(9):1669-1679.

[2] Shen M, Schmitt S, Buac D, Dou QP. Targeting the ubiquitin–proteasome system for cancer therapy. Expert Opin Ther Targets. 2013;17(9):1091-1108.

[3] Meregalli C, Canta A, Carozzi VA, Chiorazzi A, Oggioni N, Gilardini A, et al. Bortezomib-induced painful neuropathy in rats: a behavioral, neurophysiological and pathological study in rats. Eur J Pain. 2010;14(4):343-350.

[4] Jerkins JH, Suciu A, Mazimba S, Calvo A. Bortezomib-induced severe congestive heart failure. Cardiol Res. 2010;1(1):20.

[5] Reece DE, Sullivan D, Lonial S, Mohrbacher AF, Chatta G, Shustik C, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of two doses of bortezomib in patients with relapsed multiple myeloma. Cancer Chemother Pharmacol. 2011;67(1):57-67.

[6] Hasinoff BB, Patel D, Wu X. Molecular mechanisms of the cardiotoxicity of the proteasomal-targeted drugs bortezomib and carfilzomib. Cardiovasc Toxicol. 2017;17(3):237-250.

[7] Nowis D, Mączewski M, Mackiewicz U, Kujawa M, Ratajska A, Wieckowski MR, et al. Cardiotoxicity of the anticancer therapeutic agent bortezomib. Am J Pathol. 2010;176(6):2658-2668.

[8] Voortman J, Giaccone G. Severe reversible cardiac failure after bortezomib treatment combined with chemotherapy in a non-small cell lung cancer patient: a case report. BMC cancer. 2006;6(1):1-4.

[9] Orciuolo E, Buda G, Cecconi N, Galimberti S, Versari D, Cervetti G, et al. Unexpected cardiotoxicity in haematological bortezomib treated patients. Br J Haematol. 2007;138(3):396-397.

[10] Ojha S, Al Taee H, Goyal S, Mahajan UB, Patil CR, Arya D, et al. Cardioprotective potentials of plant-derived small molecules against doxorubicin associated cardiotoxicity. Oxid Med Cell Longev. 2016;2016.

[11] Kok L, Wong Y, Wu T, Chan H, Kwok T, Fung K. Morin hydrate: a potential antioxidant in minimizing the free-radicals-mediated damage to cardiovascular cells by anti-tumor drugs. Life sci. 2000;67(1):91-99.

[12] Abushouk AI, Ismail A, Salem AMA, Afifi AM, Abdel-Daim MM. Cardioprotective mechanisms of phytochemicals against doxorubicin-induced cardiotoxicity. Biomed Pharmacother. 2017;90:935-946.

[13] Lau CW, Yao XQ, Chen ZY, Ko WH, Huang Y. Cardiovascular actions of berberine. Cardiovasc Drug Rev. 2001;19(3):234-244.

[14] Javad-Mousavi SA, Hemmati AA, Mehrzadi S, Hosseinzadeh A, Houshmand G, Nooshabadi MRR, et al. Protective effect of Berberis vulgaris fruit extract against Paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats. Biomed Pharmacother. 2016;81:329-336.

[15] Mehrzadi S, Fatemi I, Esmaeilizadeh M, Ghaznavi H, Kalantar H, Goudarzi M. Hepatoprotective effect of berberine against methotrexate induced liver toxicity in rats. Biomed Pharmacother. 2018;97:233-239.

[16] Xie J-D, Chen S-R, Chen H, Pan H-L. Bortezomib induces neuropathic pain through protein kinase C-mediated activation of presynaptic NMDA receptors in the spinal cord. Neuropharmacology. 2017;123:477-487.

[17] Moghaddam HK, Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Khaksari M, Norouzi P, Ahooie M, et al. Berberine ameliorate oxidative stress and astrogliosis in the hippocampus of STZ-induced diabetic rats. Mol Neurobiol. 2014;49(2):820-826.

[18] Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem. 1966;16(2):359-364.

[19] Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988;34(3):497-500.

[20] Aebi H. [13] Catalase in vitro. Methods in enzymology. 105: Elsevier; 1984. p. 121-126.

[21] Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. Biochem Biophys Res Commun. 1976;71(4):952-958.

[22] Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal Biochem. 1968;25:192-205.

[23] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193:265-275.

[24] Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin Biochem. 2004;37(4):277-285.

[25] Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem. 2005;38(12):1103-1111.

[26] Cagin YF, Erdogan MA, Sahin N, Parlakpinar H, Atayan Y, Polat A, et al. Protective effects of apocynin on cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. Arch Med Res. 2015;46(7):517-526.

[27] Caglayan C, Temel Y, Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S. Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and

DNA damage. Environ. Sci. Pollut. Res. 2018;25(21):20968-20984.
[28] Aybek H, Temel Y, Ahmed BM, Ağca CA, Çiftci M. Deciphering of the effect of chemotherapeutic agents on human glutathione s-transferase enzyme and MCF-7 cell line. Protein Pept. Lett. 2020;27(9):888-894.
[29] Hanedan B, Kirbas A, Kandemir FM, Ozkaraca M, Kilic K, Benzer F. Arginase activity and total oxidant/antioxidant capacity in cows with lung cystic echinococcosis. Med Weter. 2015;71(3):167-170.
[30] Aksu EH, Kandemir FM, Küçükler S. Naringin'in erkek ratlarda methotreaxte indüklü testis apoptosisi ve otofajisi üzerine oksidatif stresi azaltmak yoluyla koruyucu etkisi. FÜ Sağ Bil Derg. 2018;32(3):179-183.
[31] Özdemir S, Kucukler S, Çomaklı S, Kandemir FM. The protective effect of Morin against ifosfamide-induced acute liver injury in rats associated with the inhibition of DNA damage and apoptosis. Drug Chem Toxicol. 2020:1-10.
[32] Kucukler S, Caglayan C, Darendelioğlu E, Kandemir FM. Morin attenuates acrylamide-induced testicular toxicity in rats by regulating the NF-κB, Bax/Bcl-2 and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways. Life Sci. 2020;261:118301.
[33] Sangomla S, Saifi MA, Khurana A, Godugu C. Nanoceria ameliorates doxorubicin induced cardiotoxicity: possible mitigation via reduction of oxidative stress and inflammation. J Trace Elem Med Biol. 2018;47:53-62.
[34] Songbo M, Lang H, Xinyong C, Bin X, Ping Z, Liang S. Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity. Toxicol Lett. 2019;307:41-48.
[35] Aktas MS, Kandemir FM, Kirbas A, Hanedan B, Aydin MA. Evaluation of oxidative stress in sheep infected with Psoroptes ovis using total antioxidant capacity, total oxidant status, and malondialdehyde level. J Vet Res. 2017;61(2):197-201.
[36] Erişir M, Kandemir FM, Benzer F. Koç katımının kandaki malondialdehit ve bazı antioksidanlar üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg.5(2):49-54.
[37] Yardim A, Kandemir FM, Ozdemir S, Kucukler S, Comakli S, Gur C, et al. Quercetin provides protection against the peripheral nerve damage caused by vincristine in rats by suppressing caspase 3, NF-κB, ATF-6 pathways and activating Nrf2, Akt pathways. NeuroToxicology. 2020.
[38] Kandemir FM, Erişir M, Yüksel M. Comparison of lipid peroxidation and several antioxidants in blood of normally calved and dystocia affected cows and their newborn calves. Isr J Vet Med. 2016;71(2):19-23.
[39] Kandemir FM, Küçükler S, Çağlayan C. Beneficial effects of silymarin and naringin against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg. 2017;12(2):167-177.
[40] Kaymaz MB, Kandemir FM, Pamukcu E, Eröksüz Y, Özdemir N. Effects of aqueous artichoke (Cynara scolymus) leaf extract on hepatic damage generated by alpha-amanitine. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2017;23(1):155-160.
[41] Aktaş MS, Kandemir FM, Özkaraca M, Hanedan B, Kırbaş A. Protective effects of rutin on acute lung injury induced by oleic acid in rats. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2017;23(3):443-451.
[42] Kandemir FM, Caglayan C, Aksu EH, Yildirim S, Kucukler S, Gur C, et al. Protective effect of rutin on mercuric chloride-induced reproductive damage in male rats. Andrologia. 2020;52(3):e13524.
[43] Yardım A, Kucukler S, Özdemir S, Çomaklı S, Caglayan C, Kandemir FM, et al. Silymarin alleviates docetaxel-induced central and peripheral neurotoxicity by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. Gene. 2020:145239.
[44] Yardım A, Kandemir FM, Çomaklı S, Özdemir S, Caglayan C, Kucukler S, et al. Protective effects of curcumin against paclitaxel-induced spinal cord and sciatic nerve injuries in rats. Neurochem. Res. 2020:1-17.
[45] Aksu EH, Kandemir FM, Küçükler S, Mahamadu A. Improvement in colistin-induced reproductive damage, apoptosis, and autophagy in testes via reducing oxidative stress by chrysin. J Biochem Mol Toxicol. 2018;32(11):e22201.
[46] Küçükler S, Özdemir S, Çomakli S, Kandemir FM. Ratlarda izoniazid kaynaklı akciğer hasarına karşı krisinin etkileri. Kocatepe Vet Derg.13(2):161-171.
[47] Küçükler S, Özdemir S, Kandemir FM, Çağlayan C. Ratlarda kadmiyum kaynaklı mide toksisitesine karşı karvakrol'un etkileri. Tr Doğa Fen Derg. 9(1):12-18.
[48] Kucukler S, Darendelioğlu E, Caglayan C, Ayna A, Yıldırım S, Kandemir, FM. Zingerone attenuates vancomycin-induced hepatotoxicity in rats through regulation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. Life Sci. 2020;259: 118382.
[49] Temel Y, Koçyigit UM, Taysı MŞ, Gökalp F, Gürdere MB, Budak Y, et al. Purification of glutathione S-transferase enzyme from quail liver tissue and inhibition effects of (3aR, 4S, 7R, 7aS)-2-(4-((E)-3-(aryl) acryloyl) phenyl)-3a, 4, 7, 7a-tetrahydro-1H-4, 7-methanoisoindole-1, 3 (2H)-dione derivatives on the enzyme activity. J Biochem Mol Toxicol. 2018;32(3):e22034.
[50] Temel Y, Çağlayan C, Ahmed BM, Kandemir FM, Çiftci M. The effects of chrysin and naringin on cyclophosphamide-induced erythrocyte damage in rats: biochemical evaluation of some enzyme activities in vivo and in vitro. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 2020:1-10.
[51] Temel Y, Küfrevioğlu Öİ, Ciftci M. Investigation of the effects of purification and characterization of turkey (Meleagris gallopavo) liver mitochondrial thioredoxin reductase enzyme and some metal ions on enzyme activity. Turk. J. Chem. 2017;41(1):48-60.
[52] Temel Y, Taysi MŞ. The effect of mercury chloride and boric acid on rat erythrocyte enzymes. Biol. Trace Elem. Res. 2019;191(1):177-182.

[53] Abdel-Daim MM, Khalifa HA, Ahmed AA. Allicin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis. Cancer Chemother Pharmacol. 2017;80(4):745-753.
[54] Kucukler S, Benzer F, Yildirim S, Gur C, Kandemir FM, Bengu AS, et al. Protective effects of chrysin against oxidative stress and inflammation induced by lead acetate in rat kidneys: a biochemical and histopathological approach. Biol Trace Elem Res. 2020:1-14.
[55] Celik H, Kucukler S, Comakli S, Ozdemir S, Caglayan C, Yardim A, et al. Morin attenuates ifosfamide-induced neurotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, neuroinflammation and neuronal apoptosis. Neurotoxicology. 2020;76:126-137.
[56] Kandemir FM, Kucukler S, Caglayan C, Gur C, Batil AA, Gülçin İ. Therapeutic effects of silymarin and naringin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats: Biochemical evaluation of anti-inflammatory, antiapoptotic, and antiautophagic properties. J Food Biochem. 2017;41(5):e12398.
[57] Çelik H, Kucukler S, Çomaklı S, Caglayan C, Özdemir S, Yardım A, et al. Neuroprotective effect of chrysin on isoniazid-induced neurotoxicity via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. Neurotoxicology. 2020;81:197-208.
[58] Celik H, Kucukler S, Ozdemir S, Comakli S, Gur C, Kandemir FM, et al. Lycopene protects against central and peripheral neuropathy by inhibiting Oxaliplatin-induced ATF-6 pathway, apoptosis, inflammation and oxidative stress in brains and sciatic tissues of rats. NeuroToxicology. 2020.
[59] Çelik H, Kandemir FM, Caglayan C, Özdemir S, Çomaklı S, Kucukler S, et al. Neuroprotective effect of rutin against colistin-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat brain associated with the CREB/BDNF expressions. Mol. Biol. Rep. 2020;47(3):2023-2034.
[60] Xiong C, Wu YZ, Zhang Y, Wu ZX, Chen XY, Jiang P, et al. Protective effect of berberine on acute cardiomyopathy associated with doxorubicin treatment. Oncol Lett. 2018;15(4):5721-5729.
[61] Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. Clin Chem. 1998;44(6):1309-1315.
[62] Hasanein P, Riahi H. Preventive use of berberine in inhibition of lead-induced renal injury in rats. Environ Sci Pollut Res. 2018;25(5):4896-4903.
[63] Mohan P, Brutsaert DL, Paulus WJ, Sys SU. Myocardial contractile response to nitric oxide and cGMP. Circulation. 1996;93(6):1223-1229.
[64] Son K, Kim Y-M. In vivo cisplatin-exposed macrophages increase immunostimulant-induced nitric oxide synthesis for tumor cell killing. Cancer res. 1995;55(23):5524-5527.
[65] Bani D, Masini E, Bello MG, Bigazzi M, Sacchi TB. Relaxin activates the L-arginine-nitric oxide pathway in human breast cancer cells. Cancer res. 1995;55(22):5272-5275.
[66] El-Awady E-SE, Moustafa YM, Abo-Elmatty DM, Radwan A. Cisplatin-induced cardiotoxicity: Mechanisms and cardioprotective strategies. Eur J Pharmacol. 2011;650(1):335-341.
[67] Zhao X, Zhang J, Tong N, Liao X, Wang E, Li Z, et al. Berberine attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice. J Int Med Res. 2011;39(5):1720-1727.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 127-133, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 127-133, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.819741 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Investigation of Protecting Effect of Boric Acid against Mercury II Chloride Toxicity in Rat Brain Tissue

H.Turan Akkoyun[1*], A.Şükrü Bengu[2], Mahire Bayramoglu Akkoyun[3], Aykut Ulucan[2], M.Sait Izgi[4], Ömer Sahin[4], Suat Ekin[5], Şule Melek[6]

[1]Siirt University, Faculty of Veterinary Science, Department of Physiology, Siirt, Turkey
[2]Bingöl University, Department of Medical Services and Technics, Bingöl, Turkey
[3]Siirt University, Faculty of Veterinary Science, Department of Biochemistry, Siirt, Turkey
[4]Siirt University, Faculty of Engineering, Department of Chemical Engineering, Siirt, Turkey
[5]Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Van, Turkey
[6]Bingol Universıty, Faculty of Veterinary Science, Department of Surgery, Bingöl, Turkey
H.Turan AKKOYUN ORCID No: 0000-0002-4547-8003
A.Şükrü BENGÜ ORCID No: 0000-0002-7635-4855
Aykut ULUCAN ORCID No: 0000-0001-8844-8237
Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN ORCID No: 0000-0001-5150-5402
M.Sait İZGİ ORCID No: 0000-0003-3685-3219
Ömer ŞAHİN ORCID No: 0000-0003-4575-3762
Suat EKİN ORCID No: 0000-0002-6502-5028
Şule MELEK ORCID No: 0000-0002-0677-722X

**Corresponding Authors: turanakkoyun@siirt.edu.tr*

(Alınış: 02.11.2020, Kabul: 14.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Antioxidant Enzyme, Brain, Boric acid, $HgCl_2$, Rat

Abstract: In this study, the protective effects of boric acid (BA) in the prevention of brain damage caused by mercury II chloride ($HgCl_2$) in rats were investigated. In the experiment, 24 adult and Wistar albino male rats weighing roundly 200-300 g were used. Group I (Control, n=8): Isotonic saline (i.p), Group II ($HgCl_2$,n=8):(0.01g/kg)(oral), Group III ($HgCl_2$ + (BA) (n:8): $HgCl_2$(0.01g/kg) + BA (3.25mg/kg/day i.p.) group were administered. The rats in all groups were sacrificed at the end of the 10th day and their brain tissues were taken. Biochemical parameters including the enzyme activities of SOD, CAT and GSH-Px were measured. The enzyme activity of SOD was reduced in $HgCl_2$ treated group in comparison to the control group ($p<0.001$). Activity of the enzyme was increased after BA administration ($p<0.001$). CAT enzyme activity decreased in $HgCl_2$ and $HgCl_2$+BA administered groups with control ($p<0.001$). An increase in enzyme activity in BA group with $HgCl_2$ administered group was observed. GSH-Px enzyme activity decreased in $HgCl_2$ ($p<0.001$) and $HgCl_2$+BA ($p<0.05$) groups with control. However, an increase was found in BA administered group with $HgCl_2$ administered group ($p<0.001$). It is thought that antioxidant enzyme activities such as SOD, CAT and GSH-Px are significantly changed and BA may have a protective effect in the histopathological examination of brain tissue.

Civa II Klorürün Sıçan Beyin Dokusunda Oluşturduğu Toksisiteye Karşı Borik Asidin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi

Keywords
Antioksidan Enzim, Beyin, Borik asit (BA), Civa II klorür ($HgCl_2$), Rat

Öz: Bu çalışmada, sıçanlarda civa II klorür'ün meydana getireceği beyin hasarının engellenmesinde borik asit (BA)'in koruyucu etkileri araştırıldı. Deneyde 200-300 gr ağırlığında, 24 adet yetişkin, Wistar albino cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar, Grup I (Kontrol,n:8):İzotonik serum uygulandı (i.p), Grup II (civa II klorür ($HgCl_2$),n:8):Oral yol ile (0.01 g/kg), Grup III ($HgCl_2$+BA,n:8): Oral yol ile $HgCl_2$ (0.01 g/kg/gün) + BA (3.25mg/kg/gün) (i.p) konsantrasyonda uygulaması yapıldı. Tüm gruplardaki ratlar 10. günün sonunda sakrifiye edilerek beyin dokuları alındı. Biyokimyasal parametrelerden SOD, CAT ve GSH-Px antioksidan enzim aktiviteleri ölçüldü. Ayrıca histopatolojik olarak değerlendirildi. SOD enzim aktivitesi değerlendirildiğinde; Hg uygulanan grupta kontrole oranla azaldığı ($p<0.001$) görüldü. BA, uygulanan grupta ise aktivitenin $HgCl_2$

grubu ile kıyaslandığında arttığı ($p<0.001$) tespit edildi. CAT enzim aktivitesi değerlendirildiğinde; kontrole oranla $HgCl_2$ ve $HgCl_2$+BA uygulanan gruplarda aktivitede azalma ($p<0.001$) olduğu görüldü. $HgCl_2$ uygulanan grupla karşılaştırıldığında BA uygulanan grupta enzim aktivitesinde artış belirlendi. GSH-Px enzim aktivitesi değerlendirildiğinde ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında $HgCl_2$ ($p<0.001$) ve $HgCl_2$+BA ($p<0.05$) uygulanan gruplarda aktivitenin azaldığı görüldü. Ayrıca $HgCl_2$ uygulanan grup ile karşılaştırıldığında BA uygulanan grupta artış olduğu görüldü ($p<0.001$). SOD, CAT ve GSH-Px gibi antioksidan enzim aktivitelerinin anlamlı olarak değiştiği ve beyin dokusu histopatolojik incelemede BA'nın koruyucu etkisi olabileceği düşünülmektedir.

1. INTRODUCTION

Recently, the damage caused by heavy metals to the ecological system has become almost commonplace. Since the ancient times, with the processing of metal ores, metals began to spread to the atmosphere and hydrosphere as a natural result of human activities [1]. Metals are naturally occurring elements of the earth's crust. Over 90 elements are present in the periodic table, and others, except 20, are characterized as metal, and 59 of these metals are classified as “heavy metals”[2]. Some of the heavy metals include arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu), lead (Pb) and mercury (Hg) [3,4]. Hg is one of the most common environmental pollutants and is also used in industrial, pharmacological, agricultural and other areas [5,6]. Hg in the human body causes toxic effects on various vital organs[7]. Hg's toxicity in humans varies according to dose and exposure rate [8]. Hg has been reported to have serious effects on various organs by causing brain damage, liver dysfunction, kidney failure, gastrointestinal tract diseases and anomalies in central nervous system. [9-11]. Hg exposure promotes the generation of reactive oxygen species (ROS) [12]. Elevated levels of ROS causes oxidative stress leading to detrimental effects to diverse organs and tissues [13]. Antioxidant systems have been shown to play an significant role in Hg toxicity [14] [5].

Boric acid (BA) is a trace element that is important for plants, humans and animals due to its contribution to metabolic events [15,16]. BA, strengthens the antioxidant defense mechanism with an unknown mechanism [17]. BA is available in many consumer products including fabrics, wood, pesticides, many cosmetics and personal care products [18]. It has been reported that it plays an significant role in improving plasma lipid profiles and brain function [19,20]. The aim of this study was to examine the protective effects of BA in preventing the brain damage caused by mercury in rats.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1.Chemicals

Boric acid (99.5 % purity) is obtained from Sigma-Aldrich (Germany) and $HgCl_2$ (99% purity) was purchased from Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA. All other chemicals used were of analytical grade and were purchased from either Sigma or Merck (Darmstadt, Germany).

2.2. Experimental animals

A total of 24 adult male Wistar-albino rats (200-300 g) were used in the study. All animal experiments were carried out at the center of experimental animals by obtaining permission from Bingol University Animal Experiments Ethics Committee (BUHADEK, 21.02.2018 / Decision no: 2018/02). Rats were kept in cages in a controlled room, provided with a constant temperature of 20-22ºC as well as a 12-hour light-dark cycle (light from 07:00 to 19:00; dark from 19:00 to 07:00). Water and standard food were provided *ad libitum*. In this way, the rats were examined in their cages for a week and then experimental procedures had started.

2.3.Experimental Design

The rats were classified into three groups. Group I (Control, n:8): The rats in this group were given isotonic serum (i.p.), Group II ($HgCl_2$, n:8): rats in this group were given oral route $HgCl_2$ (0.01 g kg^{-1}), [21]**.** Group III ($HgCl_2$+BA, n:8): rats in this group were given oral route $HgCl_2$ (0.01 g kg^{-1}) + BA (3.25 mg kg^{-1}/day) (i.p) and brain tissues were obtained at the end of 10^{th} day for analysis [21-22]**.**

2.4. Preparation of tissue homogenate

Rats were anesthetized and sacrificed under anesthesia. Brain tissue was clean down 0.9 % NaCl and tissues were kept at -80 °C until analysis. Brain tissues (0.5 g) were homogenized in phosphate buffer. Following homogenization via homogenizer and glass-porcelain homogenizer for 8 minutes, samples were then centrifuged at 9500 rpm for 30 minutes [23]. All procedures were performed at 4 °C and then supernatants were collected for analysis. Supernatants were used to define the activity of the antioxidant enzyme.

2.5. Antioxidant enzymes estimation

SOD activity was determined according to Sun et al. (1988), at a wavelength of 505 nm [24]. CAT activity was measured according to Aebi (1984) at a wavelength of 240 nm [25]. The Activity of tissue GSH-Px was measured according to Paglia and Valentine (1967) at a wavelength of 340 nm[26]. The enzyme activities were expressed as EU mg^{-1}.

2.6. Histopathological Analysis of the Brain

10 weeks old 24 Wistar albino strain rats in 3 groups (n:8) were used in this study. Firstly, all rats were anesthetized with (i.p) of 10 mg kg^{-1} xylazine and 60 mg kg^{-1} ketamine and euthanasia was applied by decapitation under deep anesthesia [27]. After that, necropsy was applied properly to modified Virchow's technique in all rats and the brain tissues were taken immediately [28]. Brain tissue samples were put and fixed in 10% buffered formaldehyde solution and treated as routine protocol of dehydrated in ascending grades of ethanol, cleared in xylene and then embedded in paraffin [29]. Paraffin embedded tissue example sectioned at 5 µm thicknesses by rotary microtome (Leica, RM2125). The slides were stained with hematoxylin & eosin (H&E) for histopathological investigation [30]. Recent the slides were examined and photographed by using light microscope with imaging system (Leica, DM2500/DFC295) for detection of neuronal degeneration and loss in frontal cortex of brain.

2.7. Statistical Analysis

Data were analyzed with SPSS, Windows 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, ABD). Results were statistically analyzed with post hoc Least Significance Difference Test (LSD) and one-way ANOVA. Results were presented as mean ± standard deviation.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Biochemical findings

In the study, when the levels of rat brain antioxidant enzyme activity were evaluated, it was seen that SOD enzyme activity decreased in the $HgCl_2$ group compared to control group ($p<0.001$). In the $HgCl_2$+BA treated group, the enzyme activity was increased compared to $HgCl_2$ group ($p<0.001$) (Figure I).When the enzyme activity of CAT, which is one of the most important defense enzymes that converts hydrogen peroxide in water and oxygen to all living beings, is considered; it was observed that there was a decrease in activity ($p<0.001$) in groups with $HgCl_2$ and $HgCl_2$ + BA compared to control. When compared with $HgCl_2$ treated group, an increased enzyme activity was observed in the $HgCl_2$+BA treated group (Figure II). When the GSH-Px enzyme activity, which has an significant role in defense mechanism against oxidative stress is evaluated; it was observed that the activity was decreased in $HgCl_2$ ($p<0.001$) and $HgCl_2$ + BA ($p<0.05$) treated groups in comparision to control group. The activity of the enzyme was higher in $HgCl_2$+BA treated group in comparisipn to the $HgCl_2$ group ($p<0.001$) (Figure III). Based on these findings, it could be concluded that, BA is an important antioxidant in preventing the loss of enzyme activity due to heavy metal damage.

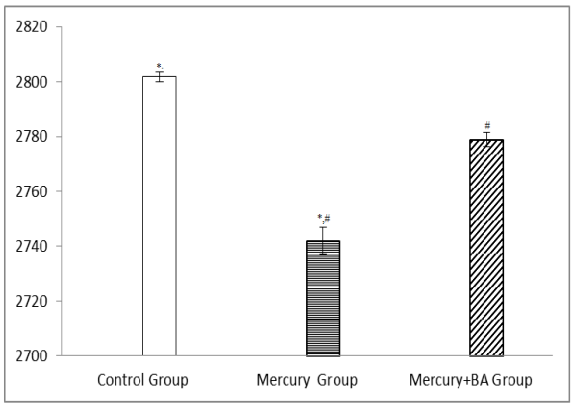


Figure 1. Superoxide dismutase (SOD) levels in brain tissue of groups (EU mg^{-1}) (*,# $p<0.001$)

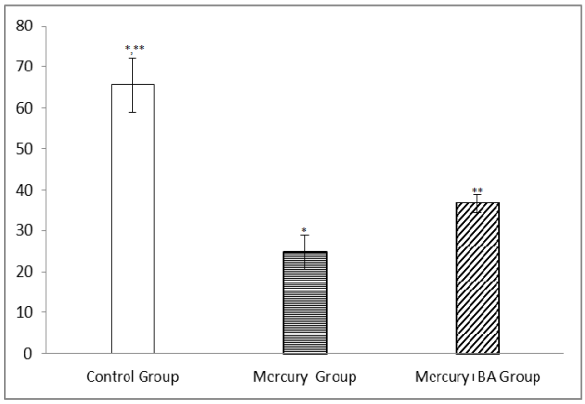


Figure 2. Catalase (CAT) levels in brain tissue of groups (EU mg^{-1}) (*,**$p<0.001$)

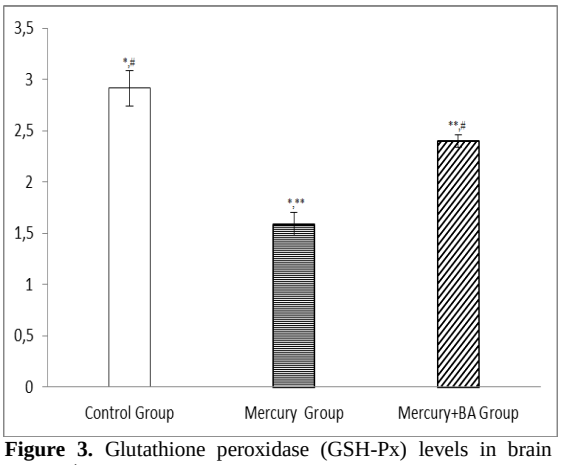


Figure 3. Glutathione peroxidase (GSH-Px) levels in brain tissue (EU mg^{-1}) (*,**$p<0.001$,#:$p<0.05$)

3.2. Histopathologic Analysis results

3.2.1. Frontal cortex of brain

No significant histopathologic lesions were observed in control group and the frontal cortexes of brains were showed normal histological structure (Figure 4–A, B). In the $HgCl_2$ administrated group in frontal cortexes of brains, perineural vacuolization and satellitosis, indication of neuronophagia, and congestion of blood vessels were found most frequently lesions. On the other hand, necrosis of some of pyramidal neurons with pyknotic nuclei, neuronal shrinkage and microgliosis were observed in the frontal cortexes of brains (Figure 4-C, D). In addition to this, in the frontal cortexes of brains

of $HgCl_2$+BA treated rats (Group-3) slight histopathological findings, which were less than $HgCl_2$ administrated rats, were observed in the sections There were congestion of some blood vessels and rarely neuronal shrinkage in the frontal cortexes of brains of $HgCl_2$+BA treated rats (Figure 4 – E, F).

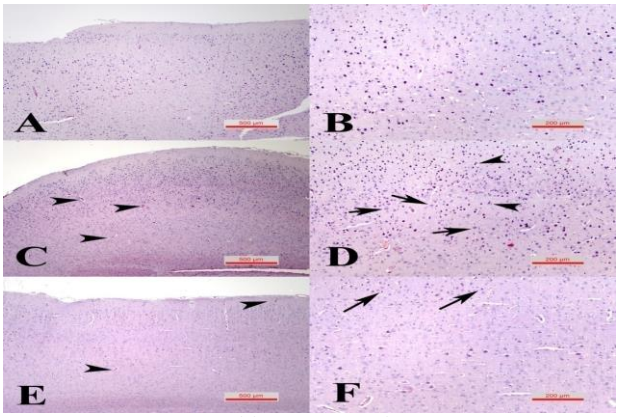


Figure 4. Histopathology of frontal cortex of brain with H&E staining. Normal histological structure of frontal cortex, x40 magnification (A); and x100 magnification (B) in control group (Group-1).Congestion of blood vessels (arrow heads) x40 magnification (C); perineural vacuolization and satellitosis (arrows); necrosis of pyramidal neurons with pyknotic nuclei and microgliosis (arrow heads) x100 magnification (D) in frontal cortex of $HgCl_2$ administered group (Group-2). Congestion of blood vessels (arrow heads) x40 magnification (E); neuronal shrinkage (arrows)x100 magnification (F) in frontal cortex of boric acid treatment group (Group-3).

The brain is a vital part of the organism that works as a system of coordination and regulation for body parts [31]. The accumulation of serious metals in the brain area may interfere with the synthesis of specific enzymes responsible for brain functions and, in turn, produce neurological disorders, including Alzheimer's disease and encephalopathy [32]**.** $HgCl_2$ has been regarded as a highly toxic metal by humans for many years [6]. Both biological and toxicological impact of $HgCl_2$ depends on form of $HgCl_2$. Inorganic $HgCl_2$ ingested in the diet is weakly immersed throughout the intestines and mostly excreted with stools [33]**.** People may be exposed to $HgCl_2$ by contaminated water and food [34]. Genotoxic effects of inorganic and organic forms of metal were defined in many *in vitro* and *in vivo* studies [35-37]. Organic forms are generally more toxic, while inorganic forms are more abundant in the environment [38]. One of the main mechanisms responsible for $HgCl_2$ toxicity is oxidative stress [39-41]**.** Oxidative stress can trigger a protective antioxidant system that avoids or ameliorates neuro toxicity in the brain [32]**.** The use of antioxidants in various disorders associated with oxidative stress is becoming widespread [31]. Antioxidants are very important in eliminating ROS, which causes oxidative stress in the body [42]. BA is a weakly acidic, white crystalline structure found in nature (minerals, seawater). BA has various uses as a protective and industrial agent [43]. It is stated that boron can regulate oxidant-antioxidant balance of various tissues [44]. It has been reported that BA is used as an anti-inflammatory agent and is involved in wound healing, prevention of oxidative stress, elimination of toxic effects of heavy metals and regulation of mitochondrial membrane potential [45]. Enzymatic and non-enzymatic antioxidants play a significant role in the prevention of injuries caused by ROS [46]. SOD is an enzyme that converts superoxide ions into H_2O_2. GSH-Px and catalase metabolize H_2O_2 into water. The protection of the balance between ROS and antioxidant enzymes is therefore very important and can serve as an important mechanism to prevent damage caused by oxidative stress [47]. In this study, SOD enzyme activity was decreased in HgCl2 group compared to control group ($p<0.001$). In the HgCl2+BA treated rats, the enzyme activity was increased compared to the $HgCl_2$ group ($p<0.001$). It was observed that there was a decrease in $HgCl_2$+ BA group compared to control but this decrease was not statistically important (Figure 1). Evaluation of CAT enzyme activity revealed that; $HgCl_2$ and $HgCl_2$ + BA groups showed decreased activity as compared to the control ($p<0.001$). A rise in enzyme activity was detected in the BA treated group compared to the $HgCl_2$ group (Figure 2).

The antioxidant and antiapoptotic effect of boric acid on hepatoxicity in chronic alcohol-fed rats were examined in a different study. It was revealed that SOD and CAT enzyme activity were increased in alcohol + BA treatment groups in comparison to alcohol treated group[45].

In another study, the effect of BA on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome was investigated. The results revealed that activity of SOD and CAT were increased in the alcohol + BA group compared to the alcohol administered group[46]. When GSH-Px enzyme activity was evaluated; When compared with the control group activity was decreased in $HgCl_2$ ($p<0.001$) and $HgCl_2$+ BA ($p<0.05$) administered groups. There was also an increase in the BA treated group compared to the $HgCl_2$ administered group ($p<0.001$) (Figure 2). Different studies indicated that GSH-Px enzyme activity increases with BA [45-48]**.** The results show that antioxidant effect in these tissues may be related to the increase in SOD, CAT, GSH-Px activity. In a study, it was found that low dose of BA may protect brain against the pathological effects of $AlCl_3$ in the rat brain. Moreover; it was also found that low BA dosage had a protective effect on the intense neuronal damage induced by $AlCl_3$ using stereological examination [22]. In addition to these, *in vivo* and *in vitro* studies have shown that compounds containing BA and BA have a protective role against many cancers [22,49]**.** Despite the presence of several studies, the study of the protective effect of BA on neuronal damage induced by heavy metals are inadequate [50]. Mercury readily penetrates the placental and the blood–brain barrier [51-53], In a research, it was demonstrated that *in vitro* cultured oligodendrocytes are sensitive to the toxic effects of mercury [54]. In a different study, it was determined that mercury and boric acid have an inhibition effect on some metabolic enzymes [55]. In addition, in another study examining the effects of various heavy metals on one of the important metabolic enzymes, it was reported that some heavy metals increase enzyme activity and some cause enzyme inhibition [56]. In our study neuronal degeneration found in group-2 and group-3 was

observed to be different severe degree in each, however no microscopic lesion was observed in group-1 (Figure 4). This suggests that in the BA administration, the prevention and treatment of neuronal damage in brain is partially effective. Limited neurodegenerative changes were observed microscopically in the group-3, and these changes may refer that boric acid did have partial influence on protection or treatment effects of cerebral neurons. In this study, we examined the effects of BA on cerebrocortical neurons damage in rat models. Future research require further explorations of the effects of boric acid at various dosages and long time periods.

4. CONCLUSION

As a result; significant rise in antioxidant enzyme levels such as SOD, CAT, GSH-Px and positive effects in histopathological evaluation suggest that BA may be a potential protective agent for the brain and our results may contribute to further studies.

5. ETHICAL CONSIDERATIONS

Study was approved by Animal Experiments Local Ethical Committee (BUHADEK,21.02.2018 /2018-02, Decision no: 02-04).

Conflıcts Of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

[1] Temel Y, Kocyigit U.M.Purification of glucose- 6- phosphate dehydrogenase from rat (Rattus norvegicus) erythrocytes and inhibition effects of some metal ions on enzyme activity. Journal of biochemical and molecular toxicology, 2017;31(9), e21927.

[2] Bülent S. "Metal sanayi atık çamurlarından ağır metal gideriminde biyoliç yönteminin kullanılması," Çukurova Üniversitesi,Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2005.

[3]. Stummann TC, Hareng L, Bremer S. "Embryotoxicity hazard assessment of cadmium and arsenic compounds using embryonic stem cells.," Toxicology.2008; 252:118–122.

[4] García-Niño WR, Pedraza-Chaverrí J."Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage.," Food Chem Toxicol.2014; 69: 182–201.

[5] Mahboob M, Shireen KF, Atkinson A, Khan AT. "Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in different organs of mice exposed to low level of mercury," Journal of Environmental Science and Health, Part . 2001; 36(5): 687–697.

[6] Sharma MK, Sharma A, Kumar A, Kumar M. "Spirulina fusiformis provides protection against mercuric chloride induced oxidative stress in Swiss albino mice," Food and chemical toxicology. 2007; 45(12): 2412-2419.

[7] Xu F, Farkas S, Kortbeek S, Zhang FX, Chen L, Zamponi GW, Syed NI. "Mercury-induced toxicity of rat cortical neurons is mediated through N-methyl-D-Aspartate receptors," Molecular. Brain.2012; 146: 213–223, 2012.

[8] Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg LT. Handbook on the Toxicology of Metals, 3rd editio. New York, NY, USA: Elsevier., 2007.

[9] Zhang FS, Nriagu JO, Itoh H. "Mercury removal from water using activated carbons derived from organic sewage sludge," Water Res., no. 39, pp. 389–395, 2005.

[10] Yavuz H, Denizli A, Güngüneş H, Safarikova M, Safarik I. "Biosorption of mercury on magnetically modified yeast cells," Sep. Purif. Technol., no. 52, pp. 253–260, 2006.

[11] Inbaraj BS, Wang JS, Lu JF, Siao FY, and Chen BH. "Adsorption of toxic mercury(II) by an extracellular biopolymer poly(γ-glutamic acid)," Bioresour. Technol., no. 100, pp. 200–207, 2009.

[12] Perottoni J, Lobato LP, Silveira A, Rocha JBT, Emanuelli T. "Effects of mercury and selenite on δ-aminolevulinate dehydratase activity and on selected oxidative stress parameters in rats," Environ. Res., no. 95, pp. 166–173, 2004.

[13] Méndez-Armenta M, Nava-Ruiz C, Fernández-Valverde F, Sánchez-García A, Rios C. "Histochemical changes in muscle of rats exposed subchronically to low doses of heavy metals," Environ. Toxicol. Pharmacol., no. 32, pp. 107–112, 2011.

[14] Eraslan G, Saygi S, Essiz D, Aksoy A, Gul H, Macit E. "Evaluation of aspect of some oxidative stress parameters using vitamin E, proanthocyanidin and N-acetylcysteine against exposure to cyfluthrin in mice," Pestic. Biochem. Physiol., no. 88, pp. 43–49, 2007.

[15] Altieri S. *et al.*, "Neutron autoradiography imaging of selective boron uptake in human metastatic tumours," Appl. Radiat. Isot., no. 66, pp. 1850–1855, 2008.

[16] Gallardo-Williams MT, Maronpot RR, Wine RN, Brunssen SH, Chapin RE. "Inhibition of the enzymatic activity of prostate-specific antigen by boric acid and 3-nitrophenyl boronic acid," Prostate, no. 54, pp. 44–49, 2003.

[17] Pawa S. and Ali S. "Boron ameliorates fulminant hepatic failure by counteracting the changes associated with the oxidative stress," Chem. Biol. Interact., no. 160, pp. 89–98, 2006.

[18] Moore JA. "An assessment of boric acid and borax using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents," Reprod. Toxicol., no. 11, pp.

123–60, 1997.

[19] Devirian TA and Volpe SL. "The Physiological Effects of Dietary Boron," Crit. Rev. Food Sci. Nu*tr.*, pp. 219–31, 2003.

[20] Barranco WT, Hudak PF, and Eckhert CD. "Evaluation of ecological and in vitro effects of boron on prostate cancer risk (United States)," Cancer Causes Control, no. 18, pp. 71–77, 2007.

[21] Wang Q, Yang X, Zhang B, Yang X, and Wang K. "Cinnabar is Different from Mercuric Chloride in Mercury Absorption and Influence on the Brain Serotonin Level," Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., no. 112, pp. 412–417, 2013.

[22] Çolak S, Geyikoğlu F, Keles ON, Türkez H, Topal A, and Unal B. "The neuroprotective role of boric acid on aluminum chloride-induced neurotoxicity," Toxicol. Ind. Health, no. 27, pp. 700–10, 2011.

[23] Xia E, Rao G, Van Remmen H, Heydari AR., and A. Richardson, "Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction," J. Nutr., no. 125, pp. 195–201, 1995.

[24] Sun Y, Oberley LW, and Li Y. "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase," Clin. Chem., vol. 3, no. 34, pp. 497–500, 1988.

[25] Aebi H. "Catalase in Vitro," Methods Enzymol., no. 105, pp. 121–126, 1984.

[26] Paglia DE and Valentine WN. "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase," J. Lab. Clin. Med., no. 70, pp. 158–169, 1967.

[27] Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA. Lumb and Jones Veterinary Anesthesia and Analgesia. Blackwell Publishing, 2007.

[28] Kar A, Kar T, Kanungo S, Guru L, Rath J, and Dehuri P. "Risk factors, organ weight deviation and associated anomalies in neural tube defects: A prospective fetal and perinatal autopsy series," Indian J. Pathol. Microbiol., no. 58, p. 285, 2015.

[29] Bancroft M. and Gamble JD. Theory and Practice of Histological Techniques., 6th Editio. Churchill Livingstone, China.: Elsevier, 2008.

[30] Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, and Zeller R. "Hematoxylin and eosin staining of tissueand cell sections," Cold Spring Harb. Protoc., no. 5, p. 4986, 2008.

[31] Adnaik S, Gavarkar RS, Mohite PS."Evaluation of Antioxidant Effect of Citrullus Vulgaris Against Cadmium-Induced Neurotoxicity In Mice Brain," Int. J. Pharm. Sci. R*es.*, no. 6, p. 4316, 2015.

[32] Muthukumran KPP, Hazeena Begum V. "Antioxidant status of ginger against mercury induced toxicity in the brain of rat," Biochem. An Indian J., no. 5, pp. 29–34, 2011.

[33] Atkinson A. *et al.*, "Assessment of a two-generation reproductive and fertility study of mercuric chloride in rats," Food Chem. Toxicol., no. 39, pp. 73–84, 2001.

[34] Magos L and Clarkson TW. "Overview of the clinical toxicity of mercury," Annals of Clinical Biochemistry. pp. 257–268, 2006.

[35] Grotto D. *et al.*, "Low levels of methylmercury induce DNA damage in rats: Protective effects of selenium," Arch. Toxicol., no. 83, pp. 249–254, 2009.

[36] Grover P, Banu BS, Devi KD, and Begum S. "In vivo genotoxic effects of mercuric chloride in rat peripheral blood leucocytes using comet assay," Toxicology, no. 167, pp. 191–197, 2001.

[37] Schmid K. *et al.*, "Mercuric dichloride induces DNA damage in human salivary gland tissue cells and lymphocytes," Arch. Toxicol., no. 81, pp. 759–767, 2007.

[38] Gochfeld M. "Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption," Ecotoxicol. Environ. Saf., no. 56, pp. 174–179, 2003.

[39] Beyersmann D and Hartwig A. "Carcinogenic metal compounds: Recent insight into molecular and cellular mechanisms," Archives of Toxicology. pp. 493–512, 2008.

[40] Chuu JJ, Huang ZN, Yu HH, Chang LH and Lin-Shiau SY. "Attenuation by methyl mercury and mercuric sulfide of pentobarbital induced hypnotic tolerance in mice through inhibition of ATPase activities and nitric oxide production in cerebral cortex," Arch. Toxicol., no. 82, pp. 343–353, 2008.

[41] Mori K, Yasutake N, Hirayama A. "Comparative study of activities in reactive oxygen species production/defense system in mitochondria of rat brain and liver, and their susceptibility to methylmercury toxicity.," Arch Toxicol., no. 81, pp. 769–776, 2007.

[42] Soni M, Prakash C, Dabur R, and Kumar V. "Protective Effect of Hydroxytyrosol Against Oxidative Stress Mediated by Arsenic-Induced Neurotoxicity in Rats," Appl. Biochem. Biotechnol., pp. 1–13, 2018.

[43] Salihoglu M. *et al.*, "Ototoxicity of boric acid powder in a rat animal model," Braz. J. Otorhinolaryngol., no. 84, pp. 332–337, 2018.

[44] Demirer S, Kara MI, Erciyas K, Ozdemir H, Ozer H, and Ay S. "Effects of boric acid on experimental periodontitis and alveolar bone loss in rats," Arch. Oral Biol., no. 57, pp. 60–65, 2012.

[45] Sogut I, Paltun SO, Tuncdemir M, Ersoz M and Hurdag C. "The antioxidant and antiapoptotic effect of boric acid on hepatoxicity in chronic alcohol-fed rats," Can. J. Physiol. Pharmacol., no. 96, pp. 404–411, 2018.

[46] Sogut I. *et al.*, "Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome," Exp. Ther. Med., no. 9, pp. 1023–1027, 2015.

[47] Çetin E, Kanbur M, Çetin N, Eraslan G and Atasever A. "Hepatoprotective effect of ghrelin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats," Regul. Pept., no. 171, pp. 1–5, 2011.

[48] Oto G. *et al.*, "Cytoprotective effects of boric acid and coenzyme Q10 therapy on induced pulmonary fibrosis in response to intratracheal administration of bleomycin in rats," Fresenius Environ. Bull., no. 22, pp. 2428–2434, 2013.

[49] Scorei R, Ciubar R, Ciofrangeanu CM, Mitran V, Cimpean A and Iordachescu D."Comparative effects of boric acid and calcium fructoborate on breast cancer cells," Biol. Trace Elem. Res., no. 122, pp. 197–205, 2008.

[50] Uzzell BP and Oler J. "Chronic low-level mercury exposure and neuropsychological functioning," J. Clin. Exp. Neuropsychol., no. 8, pp. 581–93, 1986.

[51] Pamphlett P and Waley R. "Uptake of inorganic mercury by the human brain," Acta Neuropathol., no. 92, pp. 525–7, 1996.

[52] Newland MC and Reile P A. "Blood and brain mercury levels after chronic gestational exposure to methylmercury in rats," Toxicol. Sci., no. 50, pp. 106–16, 1999.

[53] Warfvinge K. "Mercury distribution in the mouse brain after mercury vapour exposure.," Int J Exp Pathol., no. 76, p. 29, 1995.

[54] Issa Y, Watts DC, Duxbury AJ, Brunton PA, Watson MB, and Waters CM. "Mercuric chloride: Toxicity and apoptosis in a human oligodendroglial cell line MO3.13," Biomaterials, no. 24, pp. 981–987, 2003.

[55] Temel Y, Taysi MŞ. The Effect of Mercury Chloride and Boric Acid on Rat Erythrocyte Enzymes. Biological trace element research, 191(1), 177-182,2019.

[56] Temel Y, Küfrevioğlu Öİ, Ciftci M. Investigation of the effects of purification and characterization of turkey (Meleagris gallopavo) liver mitochondrial thioredoxin reductase enzyme and some metal ions on enzyme activity. Turkish Journal of Chemistry, 41(1), 48-60,2017.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 134-145, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 134-145, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.831144 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Balıkesir Florasının Peyzaj Açısından Değerlendirilme Olanakları

Rıdvan POLAT[1*]

[1] Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Bingöl, Türkiye
Rıdvan POLAT ORCID No: 0000-0003-0261-3671

**Sorumlu yazar: rpolat@bingol.edu.tr*

(Alınış: 25.11.2020, Kabul: 16.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Balıkesir, Flora, Peyzaj düzenleme, Peyzaj bitkileri

Öz: Balıkesir ili bitki çeşitliliği bakımından önemli bir merkez konumundadır. Edremit körfezi ülkemizin önemli turizm merkezlerinin olduğu bölgede peyzaj – bitki kullanımı oldukça yaygındır. Bu çalışmada, Balıkesir coğrafyasında yayılış gösteren bitkilerin peyzaj alanında kullanım potansiyelleri incelenmiştir. Çalışmalar sonucunda yörede yayılış gösteren 67 familyaya ait 166 cins ve 229 doğal bitki taksonunun potansiyel peyzaj bitkisi özelliklerini taşıdığı tespit edilmiştir. En fazla takson içeren familyalar; Lamiaceae (29 takson), Asteraceae (15 takson), Rosaceae (11 takson) ve Iridaceae (11 takson) şeklindedir. En fazla taksona sahip cinsler ise; 6 taksonla *Crocus*, 4'er taksonla *Euphorbia* ve *Salvia* olup bu cinsleri 3' er taksonla *Cistus*, *Rosa*, *Veronica* ve *Teucrium* takip etmektedir. Hayat formlarına göre peyzaj bitkilerinin % 66'sı (153 takson) otsu taksonlardan oluşmaktadır. Bitkilerin genellikle süs-estetik, yer örtücü ve çit olarak kullanım potansiyeli taşıdıkları tespit edilmiştir.

Evaluation Possibilities of Balıkesir Flora in Terms of Landscape

Keywords
Balikesir, Flora, Landscaping, Landscape plants

Abstract: Balıkesir province is an important center in terms of plant diversity. In the region where there is an important tourism area such as Edremit Bay, the use of landscape and plants is quite common. In this study, the use potentials of plants that spread in Balıkesir geography in the landscape area were examined. As a result of the studies, it was determined that 166 genera and 229 natural plant taxa belonging to 67 families in the region have potential landscape plant characteristics. Families with the most taxa; Lamiaceae (29 taxa), Asteraceae (15 taxa), Rosaceae and Iridaceae (11 taxa). The genera with the most taxa are; *Crocus* with 6 taxa, *Euphorbia* and *Salvia* with 4 taxa each, followed by *Cistus*, *Rosa*, *Veronica* and *Teucrium* with 3 taxa each. According to life forms, 66% (153 taxa) of landscape plants are herbaceous forms. It has been determined that plants generally have the potential to be used as ornamental-aesthetic, ground cover and hedges.

1. GİRİŞ

Türkiye; Dünya'daki bitki çeşitliliği bakımından oldukça önemli bir konumda bulunmaktadır. Bugüne kadar Türkiye florası ile ilgili çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. Türkiye Florası'nın 12.000 civarı taksondan oluştuğu bilinmektedir. Bu taksonlardan 3649'u Türkiye'ye özgü olup endemizm oranı yaklaşık %32'dir [1]. Endemizm oranı oldukça dikkat çekicidir, diğer Avrupa ülkelerine kıyasla oldukça yüksektir ki bu oran komşu ülke Yunanistan'da % 14.9, Fransa'da ise % 2.9'dur [2]. Endemizm oranının yüksek oluşunun sebeplerine bakıldığında, 3 fitocoğrafik flora bölgenin kesiştiği yerde bulunması, topoğrafyasının kısa mesafelerde değişmesi, jeolojik yapısı, farklı toprak tiplerini birlikte bulundurması, çeşitli iklim tiplerinin etkisi altında oluşu ve jeolojik devirlerde geçirdiği değişimler ön plana çıkar.

Bitki çeşitliğinde görülen büyük zenginliğine rağmen ülkemizde peyzaj uygulamalarında ithal (egzotik) bitkilerin kullanım oranı oldukça yüksek oranlardadır. Bu durum ayrıca, doğal bitki örtüsü üzerinde baskı oluşturmakta ve ekolojik dengeyi tehdit etmektedir [3]. Doğal bitki taksonları bulundukları bölgenin ekolojik şartlarına adapte olmalarının kolaylığı, bitki örtüsündeki bozulmaların onarılmasına ya da minimum düzeye

indirilmesinde katkı sağlayabilir [4]. Ayrıca doğal ortamlarında yetişen bu bitkilerin peyzajda kullanımının çok sayıda faydası vardır. Bu bitkilerin alandaki ekstrem iklim koşullarına dayanıklı olması, toprak verimliliğine katkısı ve erozyonu azaltması, gübre ve sulama ihtiyacının çok az olması ve temin edilmesinin daha kolay olması vb. nedenler peyzaj çalışmalarında doğal bitkilerin tercih edilmesinin avantajları arasında sıralanabilir. Bu bitkilerin peyzaj uygulamalarında kullanılması ekonomik ve estetik fayda sağlanmasının yanında ekoloji ile uyumlu olması nedeni ile başarı daha yüksek olacaktır [5,6,7,8].

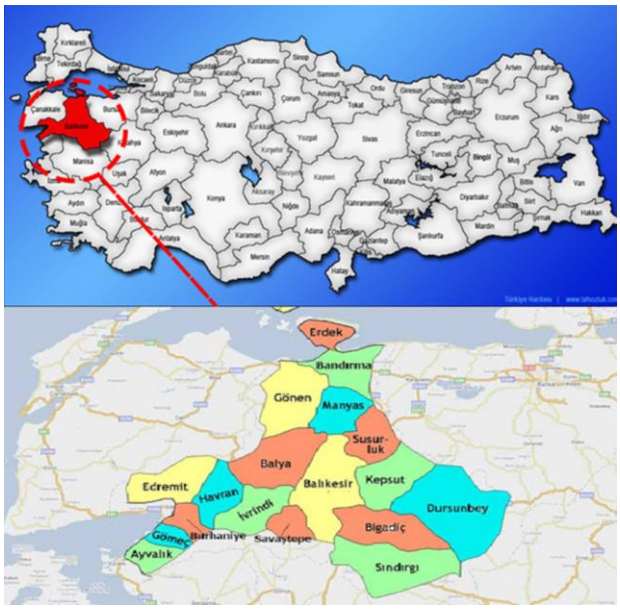
Peyzaj ve süs bitkileri dinamik özellik gösteren canlı materyaller olup formu, rengi, dokusu ile öne çıkan estetik, işlevsel ve ekonomik amaçlarla üretilen otsu ve odunsu dekoratif bitkilerdir. Fonksiyonel ve estetik yararları olan bitkiler yaşantımızda çok önemli bir yere sahiptirler [9,10,11]. Türkiye'de doğal olarak yetişen ve peyzaj çalışmalarında kullanma potansiyeli olan çok sayıda doğal bitki çeşidi bulunmaktadır. Bu doğal kaynaklardan verimli ve sürekli olarak faydalanabilmek için onların iyi tanınması ve potansiyellerinin belirlenmesi faydalanmada atılacak ilk adımdır. Bitkisel kaynaklardan faydalanmada öncelikle flora elemanlarının tanınması, floristik listelerin oluşturulması ve kullanılabilir özelliklerinin saptanması gerekmektedir. Marmara ve Ege bölgeleri arasında yer alan Balıkesir, coğrafi konum itibariyle Ege Denizi'ne ve Marmara Denizi'ne kıyıları olan ülkemizin önemli turizm merkezlerinden biridir. Balıkesir ili ayrıca; Kazdağı, Madra dağı ve Ulus Dağı gibi önemli dağları içerdiğinden bitki çeşitliliği bakımından da önemli bir konumda bulunmaktadır. Topografik bakımdan farklılıklar gösteren alan, sahip olduğu floristik çeşitlilik ve bitkilerin çiçeklenme dönemlerindeki farklılıklar nedeniyle peyzaj bitkileri bakımından oldukça önemli bir potansiyele sahiptir.

Peyzaj çalışmalarının çok önemli bir bileşeni olan bitkiler, yaşanan ve yaşayabilen mekânların oluşturulmasında kullanılmaktadır. Bitkiler yeşil alanların ana yapı elemanları olarak fonksiyonel, estetik ve ekolojik yönden önemli bir çok görevi yerine getirirler. Ülke florasında doğal olarak yayılış gösteren bitki taksonlarının peyzaj çalışmalarında kullanımı bu alandaki çeşitliliği de artıracaktır.

Bu çalışmada ki temel amaç Balıkesir yöresinde doğal olarak yayılış gösteren bitkilerin peyzaj çalışmalarında kullanım potansiyelini araştırmaktır. Peyzaj planlamalarında bitki materyali seçimi oldukça önemli olduğundan teşhisi yapılan bitkilerin peyzajda kullanım potansiyelleri belirtilerek listeleme yapılacaktır.

2. MATERYAL VE METOT

Çalışma alanı olarak belirlenen Balıkesir (Şekil 1) Akdeniz ile Avrupa-Sibirya fitocoğrafik bölgelerinin geçiş sonunda bulunmasından dolayı, çeşitli vejetasyon tiplerine ve zengin bitki örtüsüne sahiptir. İlde genel anlamda Akdeniz fitocoğrafik bölgesi elementleri hakimdir. Balıkesir'de yapılan çeşitli florisitik çalışmalar [12,13,14], ilin zengin bir floraya sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Balıkesir'in zengin floraya sahip olması, çok değişik vurgu, renk ve form da potansiyel peyzaj bitki çeşitliliğini de beraberinde getirmektedir. Bölge Akdeniz iklimi ve bu iklim tipinin en karakteristik bitkilerinden biri olan zeytinin (*Olea europaea* L. subsp. *europaea*) Türkiye'de yayılış gösterdiği önemli alanlardandır [15].



Şekil 1. Çalışma alanının genel görüntüsü

Çalışma temel olarak yörede yapılan arazi gezileri ve alan gözlemlerine dayanmaktadır. Bu kapsamda Balıkesir ilinin farklı lokalitelerinde çok sayıda arazi gezisi ve farklı dönemlerde yapılan bitki gözlemleri ile peyzaj potansiyeli taşıyan taksonlar belirlenmiştir. Arazi çalışmaları 2016-2019 yılları arasında ve bitki türlerinin kolay teşhis edilebilmesi açsından Şubat - Ekim ayları arasındaki dönemlerde yapılmıştır.

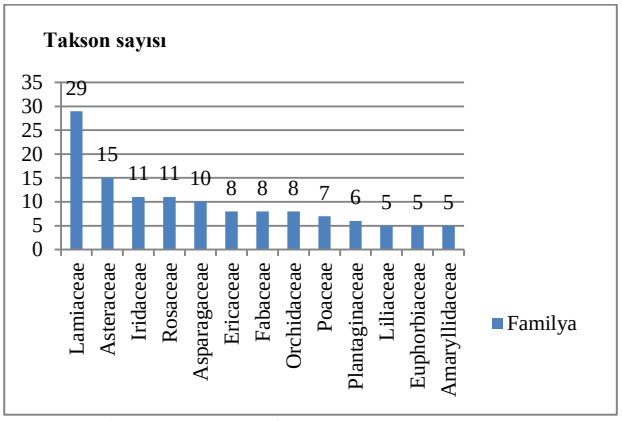
Alandaki bitkilerin teşhisi daha çok arazi çalışması esnasında yapılmıştır. Teşhis edilemeyen türlerden ise örnekler alınarak daha sonra teşhis edilmek üzere muhafaza edilmiştir. Bitkilerin teşhislerinde doğal bitkiler üzerine yapılmış çeşitli floristik eserlerden faydalanılmıştır [16-21]. Taksonların güncel bilimsel isimleri ve otör isimleri The Plant List'e göre düzenlenmiştir [22].

Genel verilerin değerlendirme aşamasında bitki türlerinin potansiyel olarak peyzajda kullanım şekilleri (estetik ve görsellik, çit oluşturma, yüzey kaplama, gölgeleme, vurgu, doğallık vb.), çiçeklenme dönemleri, çiçek/meyve renkleri üzerinde durulmuştur. Çalışmalar esnasında tespit edilen ve peyzaj kullanımında ön plana çıkabilecek bazı bitki taksonlarının alanda görülme şekilleri fotoğraflanmıştır.

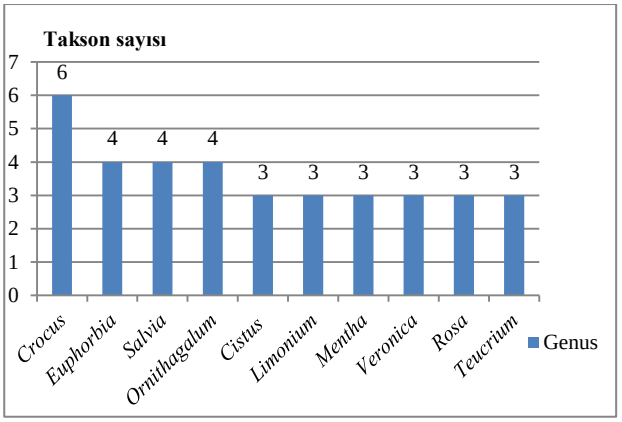
3. BULGULAR

Araştırmalar sonucunda 67 familyaya ait 166 cins ve 229 taksonun peyzaj bitkisi potansiyeli taşıdığı tespit edilmiştir (Tablo. 1). En fazla takson içeren familyalar;

Lamiaceae (29 takson), Asteraceae (15 takson), Iridaceae (11 takson), Rosaceae (11 takson), Asparagaceae (10 takson) ve 8 taksonla Orchidaceae, Ericaceae ve Poaceae gelmektedir (Şekil 2). En fazla taksona sahip cinsler ise; 6 taksonla *Crocus*, *Euphorbia* 4 takson, *Salvia* 4 takson olup bunu ve 3' er taksonla *Cistus*, *Rosa*, *Veronica*, ve *Teucrium* takip etmektedir (Şekil 3).

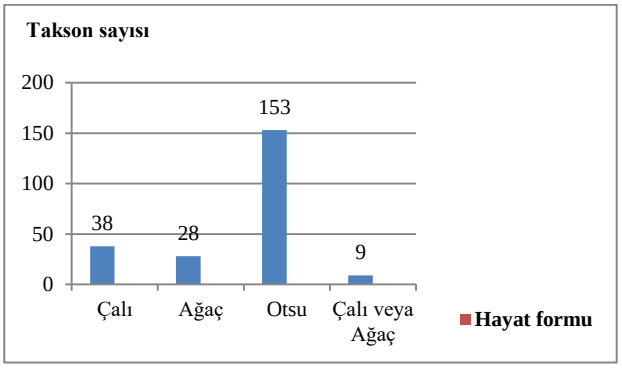


Şekil 2. En fazla taksona sahip familyalar



Şekil 3. En fazla takson içeren cinsler

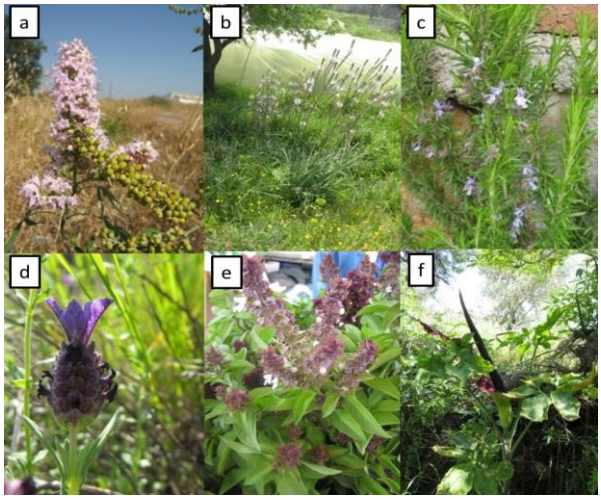
Alanda tespit edilen bitkiler hayat formu üzerinden değerlendirildiğinde 153 taksonun otsu, 38 taksonun çalı, 28 taksonun ağaç ve 9 taksonun ise çalı veya ağaççık formunda oldukları belirlenmiştir (Şekil 4).



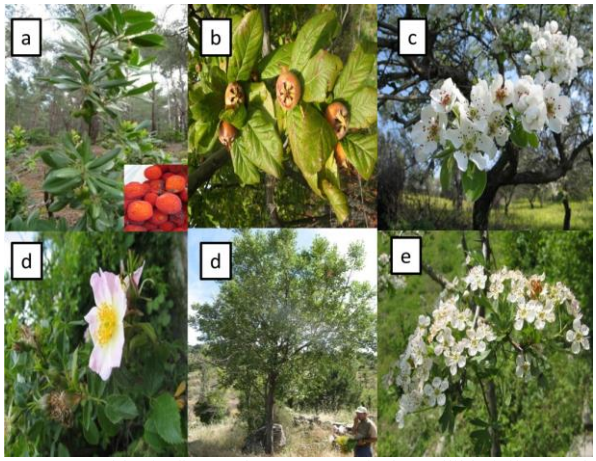
Şekil 4. Peyzajda kullanım potansiyeli taşıyan bitkilerin hayat formlarına göre dağılımı.

Peyzaj çalışmalarında genellikle bitkilerin vurgu, renk, form ve estetik gibi özellikleri göz önünde bulundurulur. Balıkesir florasında renk, form ve estetik özellikleri ön plana çıkan ve peyzajda değerlendirme potansiyeli taşıyan çok sayıda bitki taksonu bulunmaktadır (Şekil 5).

Çalışma alanında yaygın yayılış gösteren ağaç - ağaççık ve çalı formunda, çiçek - meyve renkleri ve estetik olarak ön plana çıkan bazı taksonların (*Arbutus* spp., *Crataegus* spp., *Pyrus* sp., *Rosa* spp., *Rubus* spp., *Ruscus* spp., vb.) oldukça önemli peyzaj potansiyeli taşıdığı görülmektedir (Şekil 6). *Arbutus unedo* ve *Arbutus andrache* 'nin (Kocayemiş) ağaççık ya da çalı formunda, her dem yeşil olması, çiçek ve olgun meyvelerinin aynı zamanda görülmesi peyzaj bitkisi olarak da değerlendirme potansiyelini arttırmaktadır.



Şekil 5. Balıkesir florasında peyzaj potansiyeli taşıyan bazı taksonlar: a) *Vitex agnus - castus* b) *Asphodelus aestivus* c) *Rosmarinus officinalis* d) *Lavandula stoechas* e) *Ocimum basilicum* f) *Dracunculus vulgaris*



Şekil 6. Balıkesir florasında meyve – çiçek özellikleri ile ön plana çıkan bazı potansiyel taksonlar: a) *Arbutus unedo* b) *Mespilus germanica* c) *Pyrus communis* d) *Rosa canina* e) *Celtis australis* F) *Crataegus monogyna*

Bununla beraber yörede yayılış gösteren bazı taksonların süslemenin yanında çit ve yer örtücü olarak kullanılma potansiyeli taşıdıkları gözlemlenmiştir. Yörede yapılan çalışmalarda tespit edilen bitkilerden yaklaşık olarak 31 taksonun süs/estetik kullanımının yanında aynı zamanda çit olarak kullanılma potansiyeli tespit edilmiştir (Tablo 1). Çit olarak kullanma potansiyeli ön plana çıkan bazı bitki taksonları şunlardır; *Spartium junceum, Phillyrea latifolia, Jasminum fruticans, Tamarix smyrnesis, Juniperus oxycedrus* subsp *oxycedrus., Cupressus sempervirens* (Şekil 7).

Şekil 7. Balıkesir florasında çit olarak kullanım potansiyeli taşıyan türler: a) *Spartium junceum* b) *Phillyrea latifolia* c) *Jasminum fruticans* d) *Tamarix smyrnesis* e) *Juniperus oxycedrus* f) Cupressus sempervirens

Araştırma alanında yapılan çalışmalar Balıkesir florasında yayılış gösteren bazı taksonların (14 takson) peyzaj çalışmalarında yer örtücü olarak kullanım potansiyellerini göstermiştir. *Capparis spinosa, Hypecoum procumbens, Oxalis pes-caprae, Potentilla recta, Setaria viridis, Thymus longicaulis, Thymus zygioides, Trifolium* spp., *Veronica arvensis* ve *Viola odorata* bu taksonlardan bazılarıdır.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Balıkesir, Akdeniz ile Avrupa-Sibirya fitocoğrafik bölgelerinin geçiş sonunda bulunmasından dolayı, çeşitli vejetasyon tiplerine ve zengin bitki örtüsüne sahiptir. İlde genel anlamda Akdeniz fitocoğrafik bölgesi elementleri hakimdir. Ülkemizin önemli turizm alanlarından biri olan çalışma alanında yer almaktadır. Çalışma alanında yer alan turistlik otel, yazlık site ve konut çevrelerinde çok sayıda egzotik bitki taksonunun peyzaj amacı ile kullanılmaktadır. Genel duruma bakıldığında egzotik bitkilerin peyzajda tercih edilme yoğunluğu dikkat çekecek düzeyde yüksektir.

İnsan aktivitesinin olduğu alan içine giren bitki türleri kent alanlarında kendini çoğaltmaya, ve zaman içinde yayılmaya başlamaktadır. Kent flora ve vejetasyonunda meydana gelen bu değişimler, doğal türlerin zaman içinde yok olması ve doğal olmayan (egzotik) taksonların doğallaşması eğilimi ile sonuçlanır [23]. *Ficus carica, Cotinus coggygria, Salvia fruticosa, Nerium oleander, Laurus nobilis, Rosa canina, Cotoneaster horizontalis* ve *Hedera helix* vb. bitki taksonları Balıkesir ilinde peyzaj çalışmalarında sıkça tercih edilen doğallaşmış bitki taksonlarına örnek olarak verilebilir.

Yöredeki turizm alanlarında yapılan peyzaj çalışmalarında ağırlıklı olarak egzotik bitkilerin kullanılması bazı alanlarda bölgenin doğal floral dokusuyla tezatlık oluşturmaktadır. Literatür çalışmaları incelendiğinde; peyzaj çalışmalarında daha fazla ekolojik ve ekonomik faydanın kazanımı için tasarımlarda doğal bitkilerin kullanılmasına yönelik yapılan çalışmaların yaygınlaştırılması gerektiği görülmektedir. Doğal bitki taksonlarına yönelik veri alt yapılarının oluşturulması, üretim yöntemlerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır [24 - 26].

Balıkesir ilinin kıyı şeridinde turizm sezonlarına bağlı olarak mevsimsel olarak değişkenlik gösteren büyük bir nüfus hareketliliği görülmektedir. Bu alanda çok sayıda turistik otel, yazlık site ve konut yer almaktadır. Alanda nüfus hareketliliği ve yapılaşma yoğunluğu yeşil alanlar üzerinde büyük bir baskı oluşturmaktadır. Peyzaj çalışmalarının bölgenin doğal floral yapısı, bitkisel tasarım ve estetik kaygılar göz önünde bulundurularak yapılması, yerleşim alanlarının geleceği ve kentsel estetik için büyük bir önem taşımaktadır.

Alanda yapılan çalışmalar potansiyel peyzaj bitkileri bakımından Balıkesir florasındaki zenginliği ortaya çıkarmıştır. Çalışmalar sonucunda, görsel-form ve estetik başta olmak üzere çit, yer örtücü vb. özellikler bakımından peyzaj alanında rahatlıkla faydalanabilecek çok sayıda doğal bitki taksonunun yörede yayılış gösterdiği görülmüştür. Kentsel peyzaj alanlarında şehrin dokusuna uygun doğal taksonların tercih edilmesi ekolojik uyum problemlerinin çözümünün yanında önemli ekonomik avantajlar da sağlayacaktır. Ayrıca yaratıcı tasarımlarla, mevcut doğal floral kaynaklardan daha iyi yararlanılması sağlanabilir.

KAYNAKLAR

[1] Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (eds). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. 2012.

[2] Bağçıvan G, Daşkın R. Orhaneli İlçesinin Vasküler Bitki Çeşitliliği (Bursa, Türkiye). KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi, 23 (2): 416-434, 2020.

[3] Deniz B, Şirin U. Samson Dağı doğal bitki örtüsünün otsu karakterdeki bazı örneklerinden peyzaj mimarlığı uygulamalarında yararlanma olanaklarının irdelenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2 (2) , 5-12. 2005.

[4] Tuttu G, Aytaş İ, Dilaver Z. Useopportunities of somenaturalherbaceousplants of Cankiriprovince in landscapeapplications. International Journal of Scientific and Technological Research, Vol. 5, No.3, 136-147, 2019.

[5] Özhatay E.C. Türkiye'nin peyzajda kullanılabilecek bazı doğal bitkileri. Basılmamış yüksek lisans tezi. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul. 2009.

[6] Acar C. Trabzon ve yöresinde yetişen doğal bazı yerörtücü bitki türlerinin peyzaj mimarlığında değerlendirilmeleri üzerine bir araştırma. Basılmamış doktora tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Peyzaj Mimarlığı, Trabzon. 1997.

[7] Selvi S, Satıl F. Altınoluk Beldesindeki (Balıkesir-Edremit) Park ve Bahçelerde Yetiştirilen Egzotik Bitkiler Üzerine Bir Araştırma, Kazdağları III.

Ulusal Sempozyumu, 24-26 Mayıs 2012, Edremit Balıkesir, s:35-45. 2012.
[8] Selvi S. Kalkan S. Altınoluk (Edremit/Balıkesir) Park ve Bahçelerinde Yayılış Gösteren Zehirli Süs Bitkileri Üzerine Bir Araştırma, II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu 23-25, Eylül 2014 Yalova, s. 159. 2014.
[9] Ay S. Süs Bitkileri İhracatı Sorunları ve Çözüm Önerileri: Yalova Ölçeğinde Bir Araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi, 14(3), 423-443. 3. 2009.
[10] Erduran F, Çelik A, Özel Cengiz A.E. Çanakkale ve Kazdağları florasında yetişen bazı odunsu bitkilerin peyzaj mimarlığında kullanım olanakları. IV. Süs Bitkileri Kongresi, Bildiriler Kitabı 20 – 22 Ekim 2010, Erdemli / Mersin, s. 463-470.
[11] Baktır İ. Türkiye'de Süs Bitkilerinin Dünü, Bugünü ve Yarını. V. Süs Bitkileri Kongresi, Bildiriler Kitabı, Cilt-1, s.13-16, Yalova. 2013.
[12] Sanön, B., Özen, F. Balıkesir Üniversitesi Çağış Kampüsü ve çevresinin flora ve vejetasyonu. Ot Sistematik Botanik Dergisi.8/2: 47-67, 2001.
[13] Dirmenci, T. Gölcük (Dursunbey-Balıkesir) florası üzerine bir çalışma. Ot Sistematik Botanik Dergisi. 13/1: 97-124, 2006.
[14] Güner, Ö., Akçiçek, E. Flora of Ulus Mountain(Balikesir/Turkey). Biological Diversity and Conservation. 6/1: 101-113. 2013.
[15] Tağıl Ş. Edremit Körfezı'nin Kuzey Sahil Bölgesinde Peyzaj Paterni ve Arazi Örtüsünün Zamansal ve Mekânsal Değişimi. Balıkesir Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 17(31):1-16, 201.
[16] Davis, P H. Flora of Turkey Volume1- 9. Edinburg University Press, Edinburg, 1967
[17] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. ve Babaç, M.T. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayınları, İstanbul. 2012.
[18] Yücel E. Çiçekler ve yerörtücüler, Türmatsan Organize Matbaacılık San. Ltd. Şti. Eskişehir, 2012a, 352s.
[19] Yücel E. Ağaçlar ve çalılar I. Türmatsan Organize Matbaacılık San. Ltd. Şti. Eskişehir, 2012b, 277s.
[20] Akkemik Ü. (Editör). Türkiye'nin doğal-egzotik ağaç ve çalıları I, Gymnospermler-Angiospermler (A-G). Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara, 2014a, 736s.
[21] Akkemik Ü. (Editör). Türkiye'nin doğal-egzotik ağaç ve çalıları II, Angiospermler (H-Z). Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara, 2014b, 680s.
[22] Anonymous. The plant list. A working list of a plant species. [Online]. Available: May 2020, http://www.theplantlist.org.
[23] Sukkop H (ed), Urban Ecology: Plants and Plant Communities in Urban Environments, SPB Publishing, The Hague, 2004, 45-74.
[24] Erduran, F., Çelik, A., Özel Cengiz, A.E. Çanakkale ve Kazdağları florasında yetişen bazı odunsu bitkilerin peyzaj mimarlığında kullanım olanakları. IV. Süs Bitkileri Kongresi, Bildiriler Kitabı 20 – 22 Ekim 2010, Erdemli / Mersin, 2010, s. 463-470.
[25] Erken K. Spartiumjunceum L., Chamaecytisushirsutus (L.) Link. ve Genistalydia Boiss var. lydiataksonlarının çoğaltım yöntemleri ve süs bitkisi özelliklerinin belirlenmesi. Basılmamış Doktora Tezi Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011.
[26] Gülbağ, F. Bazı Campanula L. türlerinin kültüre alınması ve süs bitkisi özelliklerinin belirlenmesi. Basılmamış doktora tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, İzmir, 2016, s.234.

Tablo 1. Balıkesir Florasında potansiyel peyzaj bitkileri listesi.

No	Bilimsel Adı	Familyası	Yöresel İsimleri	Çiçeklenme Dönemi	Peyzajda Kullanım Potansiyeli (Süs/Estetik, Çit, Yer örtücü, Koku, vb.??)	Formu
1.	*Acanthus hirsutus* Boiss.	Acanthaceae	Ayı pençesi	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
2.	*Acer campestre* L.	Sapindaceae	Akçaağaç	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
3.	*Acer platanoides* L.	Sapindaceae	Çınar yapraklı akçaağaç	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
4.	*Achillea nobilis* L.	Asteraceae	Civanperçemi	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
5.	*Alchemilla hirsutiflora* (Buser) Rothm.*	Rosaceae	Aslan pençesi	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
6.	*Allium neapolitanum* Cirillo	Amaryllidaceae	Sarımsak çiçeği	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
7.	*Allium roseum* L.	Amaryllidaceae	Sarımsak çiçeği	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
8.	*Alisma lanceolatum* With.	Alismataceae	Su otu	Mayıs-Eylül	Süs/Estetik	Otsu
9.	*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.	Betulaceae	Kızılağaç	Nisan	Süs/Estetik	Ağaç
10.	*Althaea officinalis* L.	Malvaceae	Hatmi	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
11.	*Ammi visnaga* (L.) Lam.	Apiaceae	Diş otu	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
12.	*Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich.	Orchidaceae	Salep	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
13.	*Anagallis arvensis* L.	Primulaceae	Fare kulağı	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
14.	*Anemone blanda* L.	Ranunculaceae	Dağ lalesi	Şubat-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
15.	*Anemone coronaria* L.	Ranunculaceae	Dağ lalesi	Şubat-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
16.	*Arbutus andrachne* L.	Ericaceae	Davulgu, Dağ yemişi	Mart-Kasım	Süs/Estetik	Çalı
17.	*Arbutus unedo* L.	Ericaceae	Davulgu, Dağ yemişi	Mart-Kasım	Süs/Estetik	Çalı
18.	*Artemisia scoparia* Waldst. & Kitam.	Asteraceae	Kolonya otu	Haziran-Eylül	Süs/Estetik	Otsu
19.	*Artemisia absinthium* L.	Asteraceae	Kolonya otu	Haziran-Eylül	Süs/Estetik	Otsu
20.	*Arundo donax* L.	Poaceae	Kargı	Ekim	Süs/Estetik	Otsu
21.	*Asphodelus aestivus* Brot.	Xanthorrhoeaceae	Çirişlik otu	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
22.	*Asyneuma limonifolium* (L.) Janch	Campanulaceae	Tavşan ekmeği	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
23.	*Aubrieta deltoidea* (L.) DC.	Brassicaceae		Nisan-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
24.	*Bellis annua* L.	Asteraceae	Koyun gözü	Mart-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
25.	*Bellis perennis L.*	Asteraceae	Koyun gözü	Mart-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
26.	*Calendula arvensis* M.Bieb.	Asteraceae	Aynısefa	Mart-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
27.	*Calicotome villosa* (Poir.) Link	Fabaceae	Keçi boğan	Mart-Haziran	Süs/Estetik/Çit	Çalı
28.	*Campanula lyrata* Lam.	Campanulaceae	Çan çiçeği	Nisan-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
29.	*Capparis spinosa* L.	Capparaceae	Kapari	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu-Çalı
30.	*Carex divisa* Huds.	Poaceae	Ayakotu	Bilinmiyor	Süs/Estetik	Otsu
31.	*Celtis australis* L.	Cannabaceae	Çitlembik	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
32.	*Centaurium erythraea* Rafn	Gentianaceae	Kırmızı kantaron	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
33.	*Centranthus ruber (L.) DC.*	Caprifoliaceae	Mahmuz çiçeği	Nisan-Eylül	Süs/Estetik	Otsu
34.	*Cercis siliquastrum* L.	Fabaceae	Erguvan	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç

35.	*Cerinthe minor* L.	Boraginaceae	Cücegözü	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
36.	*Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze	Lamiaceae		Temmuz-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
37.	*Cistus creticus* L.	Cistaceae	Laden, Pamukla	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı
38.	*Cistus laurifolius* L.	Cistaceae	Laden, Pamukla	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı
39.	*Cistus salviifolius* L.	Cistaceae	Laden, Pamukla	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı
40.	*Colchicum bivonae* Guss.	Colchicaceae	Çiğdem	Ekim-Kasım	Süs/Estetik	Otsu
41.	*Consolida orientalis* (J.Gay) Schrödinger	Ranunculaceae	Mor çiçek	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
42.	*Cota tinctoria* (L.) J.Gay	Asteraceae	Papatya	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
43.	*Crataegus orientalis* Pall. ex M.Bieb.	Rosaceae	Alıç	Mayıs-Mayıs	Süs/Estetik	Çalı veya Ağaç
44.	*Crepis sancta* (L.) Bornm.	Asteraceae	Yaban kıskısı	Şubat-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
45.	*Crocus biflorus* Mill.	Iridaceae	Çiğdem	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
46.	*Crocus cancellatus* Herb	Iridaceae	Çiğdem	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
47.	*Crocus chrysanthus* (Herb.) Herb.	Iridaceae	Çiğdem	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
48.	*Crocus flavus* Weston	Iridaceae	Çiğdem	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
49.	*Crocus pallasii* Goldb.	Iridaceae	Çiğdem	Ekim-Kasım	Süs/Estetik	Otsu
50.	*Crocus pulchellus* Herb.	Iridaceae	Çiğdem	Ekim-Kasım	Süs/Estetik	Otsu
51.	*Cyanus segetum* Hill	Asteraceae	Peygamber çiçeği	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
52.	*Cyclamen hederifolium* Aiton	Primulaceae	Siklamen	Ağustos-Kasım	Süs/Estetik	Otsu
53.	*Cyperus capitatus* Vand.	Cyperaceae		Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
54.	*Dactylorhiza romana* (Sebast.) Soó	Orchidaceae	Orkide	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
55.	*Daphne oleoides Schreb.*	Thymelaeaceae	Defne	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Çalı
56.	*Datisca cannabina* L.	Datiscaceae	Kenevir	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
57.	*Daucus carota* L.	Apiaceae	Yabani havuç	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Çalı
58.	*Dianthus cruentus* Griseb.	Caryophyllaceae	Karanfil	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
59.	*Digitalis ferruginea* L.	Plantaginaceae	Yüksükotu	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
60.	*Dipsacus laciniatus* L.	Caprifoliaceae		Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
61.	*Doronicum orientale* Hoffm.	Asteraceae	Kaplanotu	Mart-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
62.	*Dracunculus vulgaris* Schott	Araceae	Yılan bıçağı	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
63.	*Echinops ritro* L.	Asteraceae		Haziran-Eylül	Süs/Estetik	Otsu
64.	*Echium russicum* J.F. Gmel.	Boraginaceae	Kırmızı sirken	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
65.	*Ephedra major* Host	Ephedraceae	Deniz üzümü		Süs/Estetik/Çit	Çalı
66.	*Epilobium angustifolium* L.	Onagraceae	Yakı otu	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
67.	*Epilobium parviflorum* Schreb.	Onagraceae	Yakı otu	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
68.	*Erica arborea* L.	Ericaceae	Püren otu	Mart - Haziran	Süs/Estetik/Çit	Çalı
69.	*Erica manipuliflora* Salisb.	Ericaceae	Püren otu	Temmuz-Ekim	Süs/Estetik/Çit	Çalı
70.	*Euonymus latifolius* (L.) Mill.	Celastraceae	İğ ağacı	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik	Çalı veya Ağaç
71.	*Euphorbia aleppica* L.	Euphorbiaceae	Sütleğen	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu

72.	*Euphorbia anacampseros* Boiss.	Euphorbiaceae	Sütleğen	Mart-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
73.	*Euphorbia nicaeensis* All.	Euphorbiaceae	Sütleğen	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
74.	*Euphorbia seguieriana* Neck.	Euphorbiaceae	Sütleğen	Mart-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
75.	*Fagus orientalis* Lipsky	Fagaceae	Kayın	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
76.	*Ferula communis* L.	Apiaceae	Çakşır	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
77.	*Fritillaria bithynica* Baker	Liliaceae	Ters lale	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
78.	*Fraxinus angustifolia* Vahl	Oleaceae	Dişbudak	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
79.	*Fraxinus ornus* L.	Oleaceae	Dişbudak	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
80.	*Gagea pratensis* (Pers.) Dumort.	Liliaceae	Sarı yıldız	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
81.	*Galanthus gracilis* Celak.	Amaryllidaceae	Kardelen	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
82.	*Genista anatolica* Boiss.	Fabaceae	Kandaş Dikeni	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Çalı
83.	*Genista carinalis* Griseb.	Fabaceae	Kandaş	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Çalı
84.	*Gladiolus anatolicus* (Boiss.) Stapf*	Iridaceae	Kılıç otu	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
85.	*Glaucium corniculatum* (L.) Curtis	Papaveraceae	Gelincik	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
86.	Glaucium flavum Crantz	Papaveraceae	Gelincik	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
87.	*Glebionis segetum* (L.) Fourr.	Asteraceae	Kasımpatı	Ekim-Kasım	Süs/Estetik	Otsu
88.	*Hedera helix* L.	Araliaceae	Sarmaşık	Eylül-Ekim	Süs/Estetik	Odunsu
89.	*Helichrysum stoechas* (L.) Moench	Asteraceae	Ölmez çiçek	Mart-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
90.	*Hesperis balansae* E. Fourn.	Brassicaceae	Akşam yıldızı	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
91.	*Himantoglossum affine* (Boiss.) Schltr.	Orchidaceae	Keşkeşçiçeği	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
92.	*Hyacinthella lineata* (Steud. ex Schult. & Schult.f.) Chouard*	Asparagaceae	Dağ sümbülü	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
93.	*Hypecoum procumbens* L.	Papaveraceae	Hıdırelez	Mart-Haziran	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
94.	*Hypericum cerastioides* (Spach) N.Robson	Hypericaceae	Kantaron	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
95.	*Hypericum olympicum* L.	Hypericaceae	Kantaron	Mayıs-temmuz	Süs/Estetik	Otsu
96.	*Iris suaveolens* Boiss. & Reut.	Iridaceae	Süsen	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
97.	*Iris unguicularis* Poir.	Iridaceae	Süsen	Şubat-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
98.	*Jasminum fruticans* L.	Oleaceae	Tavşan kemiği	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik/Çit	Çalı
99.	*Juncus acutus* L.	Juncaceae	Hasır otu	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Otsu
100.	*Juncus heldreichianus* T.Marsson ex Parl.	Juncaceae	Hasır otu	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Otsu
101.	*Juniperus excelsa* M.Bieb.	Cupressaceae	Ardıç		Süs/Estetik	Ağaç
102.	*Juniperus oxycedrus* L.	Cupressaceae	Ardıç		Süs/Estetik/Çit	Ağaç
103.	*Lamium amplexicaule* L.	Lamiaceae	Ballıbaba	Mart-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
104.	*Lamium garganicum* subsp. *striatum (Sm.) Hayek*	Lamiaceae	Ballıbaba	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
105.	*Laurus nobilis* L.	Lauraceae	Defne	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı veya Ağaç
106.	*Lavandula stoechas* L.	Lamiaceae	Karabaş otu, Lavanta	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı
107.	*Lilium candidum* L.	Liliaceae	Ak zambak	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu

108.	*Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze	Plumbaginaceae	Sahil Karanfili	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
109.	*Limonium sinuatum* (L.) Mill.	Plumbaginaceae	Limon Otu	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
110.	*Limonium virgatum* (Willd.) Fourr.	Plumbaginaceae	Limon otu	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Çalı
111.	*Lupinus angustifolius* L.	Fabaceae	Acı bakla	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
112.	*Lycium europaeum* L.	Solanaceae	Teke dikeni	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Çalı
113.	*Lysimachia punctata* L.	Primulaceae	Sarıkız	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
114.	*Lysimachia vulgaris* L.	Primulaceae	Sarıkız	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
115.	*Lythrum hyssopifolia L.*	Lythraceae	Aklar otu	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
116.	*Malcolmia flexuosa* (Sm.) Sm.	Brassicaceae	Deniz şebboyu	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
117.	*Marrubium peregrinum* L.	Lamiaceae	Bozotu	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
118.	*Matthiola incana* (L.) R.Br.	Brassicaceae	Şebboy	Nisan-Haziran	Süs/Koku	Otsu
119.	*Matricaria chamomilla* L.	Asteraceae	Mayıs papatyası	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
120.	*Melia azedarach* L.	Meliaceae	Tesbih ağacı		Süs/Estetik	Ağaç
121.	*Melissa officinalis* L.	Lamiaceae	Limon otu	Haziran-Temmuz	Süs/Koku	Otsu
122.	*Mandragora officinalis* Mill.	Solanaceae	Adam otu	Şubat-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
123.	*Mentha longifolia* (L.) L.	Lamiaceae	Nane	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
124.	*Mentha pulegium* L.	Lamiaceae	Nane	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
125.	*Mentha spicata* L.	Lamiaceae	Nane	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
126.	*Micromeria myrtifolia* Boiss. & Hohen.	Lamiaceae	Boğumlu çay	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
127.	*Moraea sisyrinchium* (L.) Ker Gawl.	Iridaceae	Süsen	Şubat-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
128.	*Morus alba* L.	Moraceae	Dut	Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
129.	*Morus nigra* L.	Moraceae	Karadut	Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
130.	*Myrtus communis* L.	Myrtaceae	Mersin	Haziran-Eylül	Süs/Estetik/Çit	Çalı
131.	*Muscari neglectum* Guss. ex Ten.	Asparagaceae	Arap sümbülü	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
132.	*Muscari latifolium* J.Kirk*	Asparagaceae	Arap sümbülü	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
133.	*Narcissus tazetta* L.	Amaryllidaceae	Nergiz	Kasım-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
134.	*Nepeta nuda* L.	Lamiaceae	Ballıbaba	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
135.	*Nerium oleander* L.	Apocynaceae	Zakkum	Mart- Ağustos	Süs/Estetik/Çit	Çalı
136.	*Nicotiana glauca* Graham	Solanaceae	Yabani tütün	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik/Çit	Çalı
137.	*Olea europaea* L.	Oleaceae	Zeytin	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
138.	*Ononis spinosa* L.	Fabaceae	Kayışkıran	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
139.	*Ophrys fusca* Link	Orchidaceae	Orkide	Şubat-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
140.	*Ophrys sphegodes* Mill.	Orchidaceae	Orkide	Şubat-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
141.	*Orchis anatolica* Boiss.	Orchidaceae	Salep	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
142.	*Orchis sancta* L.	Orchidaceae	Salep	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
143.	*Origanum onites* L.	Lamiaceae	Kekik	Nisan-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
144.	*Origanum sipyleum* L.	Lamiaceae	Kekik	Nisan-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu

145.	*Ornithogalum narbonense* L.	Asparagaceae	Karga soğanı	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
146.	*Ornithogalum nutans* L.	Asparagaceae	Karga soğanı	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
147.	*Ornithogalum sigmoideum* Freyn & Sint.	Asparagaceae	Karga soğanı	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
148.	*Ornithogalum umbellatum* L.	Asparagaceae	Karga soğanı	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
149.	*Oxalis pes-caprae* L.	Oxalidaceae	Ekşi yonca	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Yer örtücü	Otsu
150.	*Paeonia arietina* G.Anderson	Paeoniaceae	Şakayık	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
151.	*Paliurus spina-christi* Mill.	Rhamnaceae	Karaçalı	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Çalı
152.	*Paspalum distichum* L.	Poaceae	Yalan darısı	Mayıs-Ekim	Süs/Estetik	Otsu
153.	*Phalaris canariensis* L.	Poaceae	Kanyaş	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
154.	*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.	Poaceae	Kamış	Ağustos-Ekim	Süs/Estetik	Otsu
155.	*Phlomis pungens* Willd	Lamiaceae	Ayı kulağı	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
156.	*Phillyrea latifolia* L.	Oleaceae	Pinar	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı veya Ağaç
157.	*Plantago lanceolata* L	Plantaginaceae	Sinir otu	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
158.	*Plantago major* L.	Plantaginaceae	Sinir otu	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
159.	*Platanus orientalis* L.	Platanaceae	Çınar	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
160.	*Pistacia atlantica* Desf.	Anacardiaceae	Menengiç	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
161.	*Pistacia lentiscus* L.	Anacardiaceae	Menengiç	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Ağaç
162.	*Populus alba* L.	Salicaceae	Akça kavak	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Ağaç
163.	*Populus tremula* L.	Salicaceae	Titrek kavak	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Ağaç
164.	*Potentilla recta* L.	Rosaceae	Parmak otu	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
165.	*Prasium majus* L.	Lamiaceae	Çalıbaba	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı
166.	*Prospero autumnale* (L.) Speta	Asparagaceae	Sümbül	Temmuz-Ekim	Süs/Estetik	Otsu
167.	*Prunella vulgaris* L.	Lamiaceae	Yara otu	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
168.	*Pyrus amygdaliformis* Vill.	Rosaceae	Armut	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
169.	*Pyrus communis* L.	Rosaceae	Armut	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Ağaç
170.	*Quercus ithaburensis* Decne.	Fagaceae	Meşe	Ağustos-Eylül	Süs/Estetik	Ağaç
171.	*Quercus ilex* L.	Fagaceae	Meşe	Ağustos	Süs/Estetik	Çalı veya Ağaç
172.	*Rhododendron luteum* Sweet	Ericaceae	Ağı otu	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Ağaç
173.	*Rhus coriaria* L.	Anacardiaceae	Sumak	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Çalı
174.	*Ricinus communis L.*	Euphorbiaceae	Hint yağı	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
175.	*Romulea tempskyana F*reyn	Iridaceae	Moryıldız	Şubat-Mart	Süs/Estetik	Otsu
176.	*Rosa canina* L.	Rosaceae	Kuşburnu	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik/Çit	Çalı
177.	*Rosa foetida* Herrm.	Rosaceae	Kuşburnu	Mart-Temmuz	Süs/Estetik/Çit	Çalı
178.	*Rosa pulverulenta M.Bieb.*	Rosaceae	Kuşburnu	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik/Çit	Çalı
179.	*Rosmarinus officinalis* L.	Lamiaceae	Biberiye	Mart-Nisan	Süs/Estetik/Çit	Çalı
180.	*Rubus sanctus* Schreb.	Rosaceae	Böğürtlen	Mart-Temmuz	Süs/Estetik/Çit	Çalı
181.	*Ruscus aculeatus* L	Asparagaceae	Tavşan memesi	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı

182.	*Ruscus hypoglossum* L.	Asparagaceae	Tavşan memesi	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Çit	Çalı
183.	*Salix caprea* L.	Salicaceae	Söğüt	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik	Çalı
184.	*Salix triandra* L.	Salicaceae	Söğüt	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik	Çalı veya Ağaç
185.	*Salvia fruticosa* Mill.	Lamiaceae	Adaçayı	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Çalı
186.	*Salvia sclarea* L.	Lamiaceae	Adaçayı	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
187.	*Salvia tomentosa* Mill.	Lamiaceae	Adaçayı	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Çalı
188.	*Salvia viridis* L.	Lamiaceae	Adaçayı	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
189.	*Sambucus nigra* L.	Adoxaceae	Mürver	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Çalı veya Ağaççık
190.	*Saponaria officinalis* L.	Caryophyllaceae	Sabun otu	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
191.	*Schoenoplectus lacustris* (L.) Palla	Cyperaceae	Semer otu	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
192.	*Scutellaria orientalis* L.	Lamiaceae	Kaside	Mayıs-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
193.	*Senecio leucanthemifolius subsp.* vernalis (Waldst. & Kit.) Greuter	Asteraceae	Kanarya otu	Mart-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
194.	*Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq.	Orchidaceae	Sağırkulağı	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
195.	*Setaria viridis* (L.) P.Beauv.	Poaceae	Kirp darı	Temmuz-Eylül	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
196.	*Silene compacta* Fisch.	Caryophyllaceae		Nisan-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
197.	*Sorbus torminalis* (L.) Crantz	Rosaceae	Üvez elması	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik	Ağaç
198.	*Sorbus umbellata* (Desf.) Fritsch	Rosaceae	Üvez elması	Mayıs-Haziran	Süs/Estetik	Ağaç
199.	*Sorghum halepense* (L.) Pers.	Poaceae	Süpürge darısı	Mayıs-Ekim	Süs/Estetik	Otsu
200.	*Spartium junceum* L.	Fabaceae	Katır tırnağı	Nisan-Haziran	Süs/Estetik/Çit	Çalı
201.	*Sternbergia lutea* (L.) Ker Gawl. ex Spreng.	Amaryllidaceae	Kurbağa çiçeği	Eylül-Kasım	Süs/Estetik	Otsu
202.	*Stuckenia pectinata* (L.) Börner	Potamogetonaceae	Su tarağı	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Otsu
203.	*Styrax officinalis* L.	Styracaceae	Leylak	Nisan-Haziran	Süs/Estetik	Çalı veya Ağaç
204.	*Tamarix parviflora* DC.	Tamaricaceae	Ilgın	Mart-Haziran	Süs/Estetik/Çit	Çalı
205.	*Tamarix smyrnensis* Bunge	Tamaricaceae	Ilgın	Mart-Haziran	Süs/Estetik/Çit	Çalı
206.	*Teucrium chamaedrys* L.	Lamiaceae	Kısa mahmut	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
207.	*Teucrium lamiifolium* d'Urv.	Lamiaceae	Kısa mahmut	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
208.	*Teucrium polium* L.	Lamiaceae	Kısa mahmut	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik/Çit	Otsu
209.	*Thymbra spicata* L.	Lamiaceae	Zahter	Haziran-temmuz	Süs/Estetik	Çalı
210.	*Thymus longicaulis* C.Presl	Lamiaceae	Kekik	Nisan-Ağustos	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
211.	*Thymus zygioides* Griseb.	Lamiaceae	Kekik	Nisan-Haziran	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
212.	*Tilia rubra* DC.	Malvaceae	Ihlamur	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Ağaç
213.	*Tilia tomentosa* Moench	Malvaceae	Ihlamur	Haziran-Temmuz	Süs/Estetik	Ağaç
214.	*Tordylium apulum* L.	Apiaceae	Geyik otu	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
215.	*Trifolium* spp.	Fabaceae	Üçgül	Şubat-Temmuz	Süs/Estetik	Otsu
216.	*Tulipa sylvestris L.*	Liliaceae	Lale	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
217.	*Tulipa orphanidea* Boiss. ex Heldr.	Liliaceae	Lale	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu

218.	*Typha domingensis* Pers.	Typhaceae	Sazlık	Haziran-Eylül	Süs/Estetik	Otsu
219.	*Ulmus minor* Mill.	Ulmaceae	Karaağaç	Mart-Nisan	Süs/Estetik	Ağaç
220.	*Vaccinium myrtillus* L.	Ericaceae	Yaban mersini	Mayıs-Temmuz	Süs/Estetik	Çalı
221.	*Valeriana dioscoridis* Sm.	Caprifoliaceae	Kedi otu	Şubat-Nisan	Süs/Estetik	Otsu
222.	*Verbena officinalis* L.	Verbenaceae	Mine çiçeği	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik	Otsu
223.	*Veronica arvensis* L.	Plantaginaceae	Maviş ot	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
224.	*Veronica chamaedrys* L.	Plantaginaceae	Maviş ot	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
225.	*Veronica cymbalaria* Bodard	Plantaginaceae	Maviş ot	Mart-Mayıs	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
226.	*Vinca herbacea* Waldst. & Kit.	Apocynaceae	Menekşe	Mart-Mayıs	Süs/Estetik	Otsu
227.	*Viola odorata* L.	Violaceae	Menekşe	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
228.	*Viola suavis* M.Bieb.	Violaceae	Menekşe	Nisan-Mayıs	Süs/Estetik/Yer Örtücü	Otsu
229.	*Vitex agnus-castus* L.	Lamiaceae	Hayıt	Haziran-Ağustos	Süs/Estetik/Çit	Çalı veya Ağaççık

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 146-156, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 146-156, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.726031 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

A Proposal for the Conservation and Integration of Historic Diyarbakır City Walls: the Urfa Gate, Towers and City Walls

Nursen IŞIK[1*], Fatma Meral HALİFEOĞLU[2], Süleyman İPEK[3]

[1] Dicle Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Mimarlık Bölümü, Diyarbakır, Türkiye
[2] Dicle Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Mimarlık Bölümü, Diyarbakır, Türkiye
[3] Bingöl Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Mimarlık Bölümü, Bingöl, Türkiye
Nursen IŞIK ORCID No: 0000-0002-6125-1896
Fatma Meral HALİFEOĞLU ORCID No: 0000-0003-2032-3774
Süleyman İPEK ORCID No: 0000-0001-8891-949X

**Sorumlu yazar: isikcn@gmail.com*

(Alınış: 23.04.2020, Kabul: 16.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Keywords
City walls, Conservation, Diyarbakır, Heritage, Structural damage, Urfa Gate

Abstract: Fortification, conservation, and restoration of the structures and buildings that can be considered as cultural heritage are very crucial. Diyarbakır, one of the cities included in the UNESCO Cultural Heritage List thanks to its historic city walls and Hevsel gardens, has been a host of many of these types of structures and buildings. The current study covers the observational examination of the Urfa Gate, towers, and city walls of the historic Diyarbakır City Walls. This study aims to determine the structural damages that occurred in these parts of city walls and then, constitute a path in order to conserve and integrate these historic structures. Besides, the study also contains the remedy and suggestion proposals sections for such kinds of damages coming into existence on these types of structures. Thanks to the observational examinations, remarkable structural damages on the load-carrying systems of the gate transitions and towers were revealed. Moreover, irregularities and soil coverings on the ground floors of the towers, material lost on the city walls and towers, slumping were sighted during the examinations. As a prosal for these problems, the fortification and integration suggestions have been listed in order to holistically conserve and sustain the city walls, gate transitions, and towers.

Tarihi Diyarbakır Surları: Urfa Kapı, Burçları ve Sur Duvarları Örneği için Koruma ve Tamamlama Önerisi

Anahtar Kelimeler
Surlar, Koruma, Diyarbakır, Miras, Yapısal hasar, Urfa Kapı

Öz: Kültürel miras olarak kabul edilebilecek yapıların ve binaların güçlendirmesi, korunması ve restorasyonu önem arz etmektedir. Tarihi şehir surları ve Hevsel Bahçeleri'nden ötürü UNESCO Kültür Mirası Listesine dahil edilen şehirlerden biri olan Diyarbakır bu tür yapı ve binaların bir çoğuna ev sahipliği yapmaktadır. Bu çalışma, tarihi Diyarbakır Surları'nın: Urfa Kapı, burçları ve sur duvarlarının, gözlemsel incelenmesini kapsamaktadır. Bu çalışmayla, surların bahsedilen bölgesinde meydana gelen yapısal hasarları belirlemek ve buna istinaden de bu tarz tarihi yapıların korunması ve tamamlanması için bir yol oluşturmak amaçlandı. Ayrıca, çalışma bu tür yapılarda oluşan bu tarz hasarlar için çözüm ve öneri bölümlerini de içermektedir. Gözlemsel incelemeler, kapı geçişlerinin ve kulelerin yük taşıma sistemlerinde dikkate değer yapısal hasarları ortaya çıkardı. Dahası burçların zemin katlarında bozukluklar ve toprak yığınları, ayrıca sur duvarları ve burçlarda malzeme kayıpları ve çökmeler de incelemeler esnasında görüldü. Bu sorunlar için surlar, kapı geçişleri ve burçlarda bütünsel koruma ve sürdürülebilirliği desteklemek için güçlendirmeye yönelik ve tamamlayıcı müdahale önerileri listelenmektedir.

1. INTRODUCTION

Diyarbakır located in southeast Turkey as indicated in Figure 1, and at the intersection of vital roads, has been included in the UNESCO Cultural Heritage List because of its historic city walls and Hevsel gardens [3]. This city has been continuously inhabited throughout many stages of history owing to its significant location. Many historic structures and buildings are populated in this city,

especially in the Suriçi region surrounded by city walls containing 4 main gates and 82 towers. These gates are known as the Dağ Gate, Yeni Gate, Urfa Gate, and Mardin Gate positioned in the north, east, west, and south, respectively. The schematic and photographic illustrations of the locations and plans of the main gates have been presented in Figure 2. Unfortunately, some of the outer walls and towers in the northern region of the city walls have collapsed.

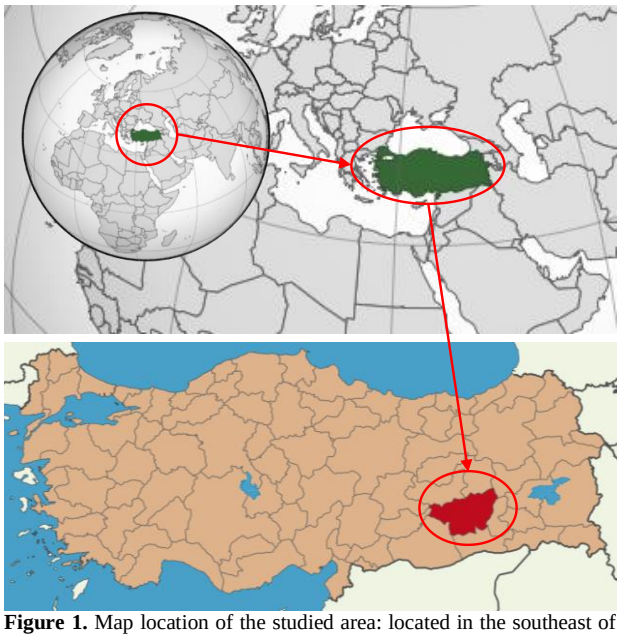


Figure 1. Map location of the studied area: located in the southeast of Turkey [1,2]

In the 4th century, the construction of the Diyarbakır City Walls has begun [4,5]. Various general and spatial interventions have been carried out in many historic structures and buildings in the Suriçi region, especially in the Diyarbakır City Walls [6]. As a consequence of these interventions, the load-carrying systems of these historic structures have been damaged and the deterioration is visible [7]. Despite periodic restoration attempts, the load-carrying systems of some places still have serious problems [6]. The main causes of these problems rely on faulty restoration attempts, increasing traffic density, loss of materials, troubles on the grounds and foundations, and faulty construction plannings [8]. Especially, the expanding deformations, partial and/or total, on the city walls threaten the load-carrying systems of the city walls.

Several restoration projects and implementations for the conservation of the structures and buildings under the danger of extinction have been conducted. But, it can be definitely stated that these studies failed to pay adequate attention to the problems of the load-carrying systems [7]. Moreover, several faulty restorations and conservation attempts have been applied to the load-carrying systems of the city walls. Unfortunately, interventions have been performed before identifying and describing the problems caused over time. Particularly, in respect to the load-carrying system, observational assessment of damage in terms of the type, level, and current status is vitally important to ascertain the extent of the damage and determine appropriate potential strengthening interventions. Categorizing potential interventions in accordance with the type of structures and their functions and amount of damage would constitute a vital contribution to fortification analysis and the development of proper amelioration proposals.

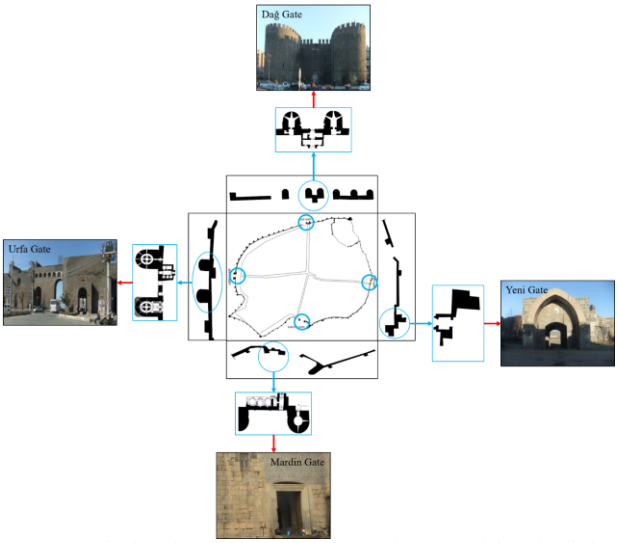


Figure 2. The locations and plans of four main gates of the Diyarbakır City Walls [4]

The damage assessment, methods, can be listed as the following [9]:

- Making relief drawings of the structure,
- Comparing the drawings to the current status of the structure,
- Identifying the damages and interventions (additions, destructions, etc.),
- Identifying and highlighting the damaged parts and locations in the structure,
- Identifying the required measurements,
- Performing destructive and non-destructive tests at the locations of interest.

Periodic damage observations due to natural disasters, such as earthquakes, corrosion of the structure, or environmental factors (wetting, melting, swelling, fracture, or ruptures), are conducted at the test site and in laboratory settings. The aim of these observations is to gain new insight into the undamaged structure for a final assessment [10]. Conducting an observational assessment, evaluate the level of the damage of the structures after documenting their current status, may also be useful for determining new damage. An observational analysis is vital in terms of the specific fortification and intervention measures that should be implemented in structures where damage has already been detected.

In this paper, observational analysis at the towers as well as the Urfa Gate fortification wall which is one of the main gates of the Diyarbakır City Walls was conducted. Before performing the observational assessments, the architectural properties and construction techniques of the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers interventions were examined. The work schedule was

developed based on the current status of the structures. The types of observational assessments were tabulated. One of the objectives of this study was promoting the sustainability of the structures by rebuilding near-authentic masonry structures to support the local and national economy. It was also intended to make suggestions regarding how the traditional masonry structures of Suriçi can be improved, which would serve as a reference source for future studies in the different regions. Having completed observational analysis and identified problems on the load-carrying systems of the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers, interventions for the fortification and integration works were suggested.

2. THE DIYARBAKIR CITY WALLS

2.1. Architectural and Structural Properties of the City Walls

The Diyarbakır City Walls surround two different regions known as interior and exterior castles. As demonstrated in Figure 3, the interior castle surrounds the very first settlement in the city whereas the exterior castle encircles the traditional urban centre. It can be easily seen from Figure 3 that the interior castle is located on the northeast side of the traditional urban centre and the exterior castle, on the other hand, constitutes from the towers and the outer walls.

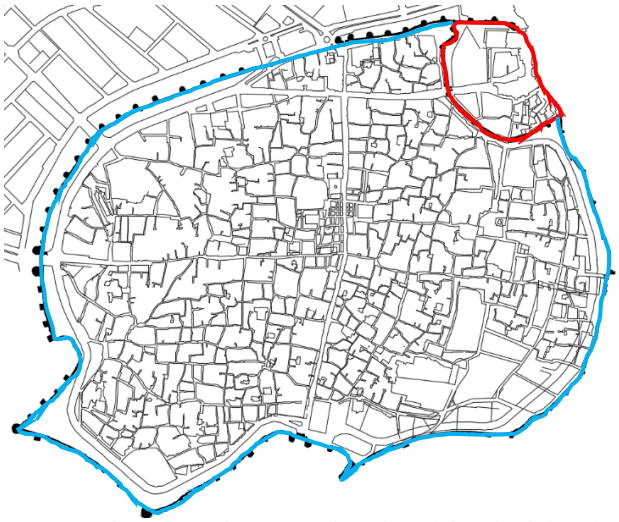


Figure 3. Plan order and tower configuration of the Diyarbakır City Walls (red line surrounding the interior castle, blue line surrounding the exterior castle)

The length of the interior castle walls is about 598 m while that of the exterior castle walls is about 4460 m. A total of 620 m of walls has been deformed and/or destroyed in time [4]. The towers in circular shape with thicker walls are located on the west side of the city walls. The most known and the most important towers are Keçi Tower, Yedi Kardeş Tower, Evli Beden Tower, and Nur Tower. Furthermore, the towers exhibit a difference in accordance with the number of the floor that they have; such as the towers with a single floor or two, three, and four floors. In general, the ground floors were utilized for storage purposes whereas the upper floors were employed for military purposes. In this context, it can be concluded that the dimensions and forms of the city walls in Diyarbakır were designed to supply the usage needs of the epoch in which they were constructed [8].

Ever since the epoch they were constructed, the most salient element of the urban environment of Diyarbakır has been the city walls [7]. Hence, in the past, these walls not only played a key role in safeguarding the lives and goods of city residents but also protected against the outside world whenever required. Apart from the structural view of the city walls; the architectural value, decorations, materials, and dimensions and also, the alignment of the towers can be considered the very finest and worthy examples of construction art. Therefore, the building material, as well as their dimensions, promotes not only the defensive purpose of the city walls but also their symbolic function. Besides, Diyarbakır was the city connecting the roads of the north and south as well as was the binding point of the western world with the Far East, namely, it was the city at the crossroads of the major trade routes. Thus, the city walls and their towers have been regarded as among the most effective and substantial defensive structures all around the world and regarding the structural features, the Diyarbakır castle has been one of the most important castles in the world [8].

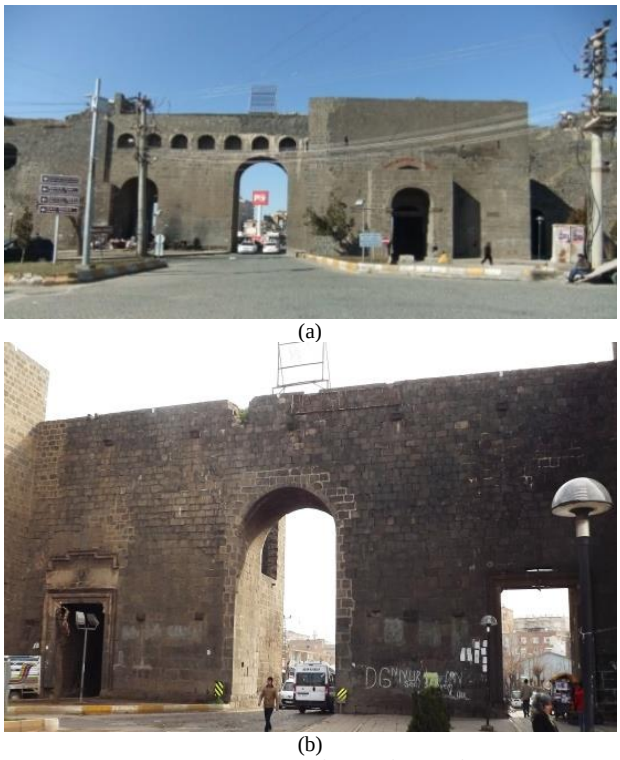
The Diyarbakır City Walls were erected on the rocky ground that is approximately 100 m above the Dicle River in the 4th century [11]. The Dağ Gate, Urfa Gate, and Mardin Gate were used to open the doors of the historic urban site surrounded by the city walls towards the north, west, and south, respectively, as can be seen in Figure 2, whereas the Yeni Gate was utilized to get a connection through the Dicle Valley and towards the east. The access to places outside of the traditional urban centre has been provided by these gates that have been located on the trading axis. In 1942, the Çift Gate (also known as Hindi Baba Gate) was opened after the restoration works conducted that year whereas, in 1944, the arched Middle Gate of Urfa Gate was opened [12].

The city walls were built by using the basalt stone which can be handily found in the Diyarbakır region. This building material can be found in the porous or nonporous form in nature. The floor, wall, and/or arches were built using basalt in porous form whereas the column, column head, and/or pool constructions were produced by handling the basalt in nonporous form. Although both basalt forms have been used in the construction of the Diyarbakır City Walls, particularly the carrier systems were built utilizing the basalt stones in the nonporous form. The masonry construction technique was utilized in the construction of the city walls [7]. In addition, several carrier elements like vaults, domes, and arches were employed in the construction. Some towers have a wall thickness of about 4.4 m at the ground level, however, the thickness decreases as the wall increase to the first and second floor whereas the outer walls have a wall thickness reaching 5.0 m. While the towers and outer walls have the uniform exterior surfaces laid up in an orderly

fashion, they have the inner surfaces laid up with rubble stones. The binding medium employed in the laying up of the stone was a lime-based mortar and above a certain height in the outer walls and towers, the hacking marks have been seen [7,8].

2.2. Architectural and Structural Properties of the Urfa Gate

The Urfa Gate, one of the four main gates, connects the traditional urban centre to the west. Indeed, there are three gates, designated as G1, G2, and G3, positioned between the two towers at the Urfa Gate. These gates provide the people with the opportunity to travel between the inner side of the city walls and outside of the city. In other words, these gates link the old city with new urban sites. The photographic views, taken from the inner and outer aspects of the city walls, of these three gates, have been shown in Figures 4a and 4b, respectively. Researches revealed that these gates were constructed in ancient times, however, the inscription found on the north gate dates back to the years of 1183-1194, namely, the Artuklu Period [13]. As demonstrated in Figure 5, two of these three gates were closed during the period of Islamic rule [7], that is to say, only the gate named G1 was in use. But after the restoration work of all three gates in 1944, they have been again brought into service.



(a)

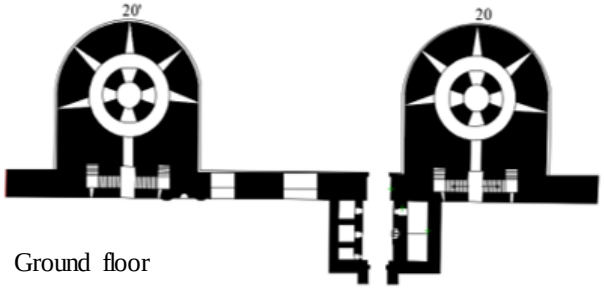
(b)

Figure 4. The photographic views of the Urfa Gate from: (a) the inner and (b) outer aspects of the city walls

During restoring the gates, the height of the arched section of the middle gate was increased to be suitable for traffic service. In this way, however, some original materials and marks on the middle gate were lost [5,13,15]. Besides, as seen from Figure 4a, all gates have the arched top section at the inner surface while only the middle gate has the arched top section at the outer surface as shown in Figure 4b. The vehicles can, today, enter and exit through the middle gate named G2, yet, the south gate designated as G3 is only in use for the pedestrians. This section of the city walls has a total length of 33.73 m and a thickness of 4.04 m. The north gate constitutes a corridor that extends towards the inside of the city having spaces on both sides and the width of the external walls of this gate was about 3.99 m. The corridor in this gate consists of one row in the south and three rows in the north, which are supposed to be allotted for the officers employing in the checkpoints duty at the gate as indicated in Figure 6a. The height and width of the arched middle gate named G2 are, respectively, 11.24 and 5.58 m. Increasing the arch of the gate caused a weakening of this section of the wall. The south gate designated as G3 has a length and width of 3.63 and 3.83 m, respectively.

Figure 5. Urfa Gates and towers in the early 20th century (two gates, G2 and G3, closed) [14]

These three gates were positioned between two towers in cylindrical forms. Gabriel [5] developed an enumeration system to give a number for the towers of the Diyarbakır City Walls. The labels for these two towers are 20 and 20' with respect to this enumeration system developed by Gabriel [5]. The entrance to the 3-story towers having the external view of U shape is done via an arched gate in the inside of the city walls. On the ground floor, there is a square entry corridor, and opposing this corridor, there is a circular-shaped gallery hall having stairs positioned on both sides used to access the upper story. There is a corridor around the core having four legs in its center. The wall thickness on the first-story is thicker than that on the ground floor and there are five deep-gridded frame units. The second story has also the same plan, but the number of deep-gridded frame units is seven and also, there are niches on the gates in the interior facade of the city walls as can be seen in Figures 6a and 6b.



(a)

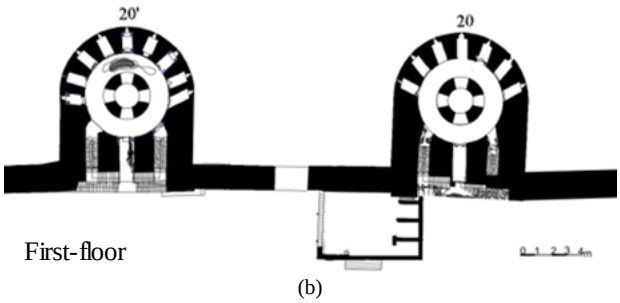


Figure 6. Floor plans for the Urfa Gate and towers: (a) ground floor and (b) first-floor levels

3. RESULTS AND DISCUSSION

Observational assessments of the Urfa Gate, thus enabling the identification of damage to the load-carrying system were conducted. These damages were recorded by taking photos and assessed the current status of the observable damage. Afterward, the results were tabulated and presented in Table 1 in order to easily evaluate the damage to the load-carrying elements.

Table 1. The damages recorded on the Diyarbakır City Walls, Urfa Gate, transitions, and towers

Building name		
Gate transitions	North gate	
	Middle gate	
	South gate	
City walls		
Tower 20	Dome	
	Floor	
	Wall	
	Stairs	
Tower 20'	Dome	
	Floor	
	Wall	
	Stairs	

Location of the Urfa Gate in the Suriçi

Mark description

Decomposition of walls	Slump in flooring
Cover replacement	Belt damage
Joint discharge	Axis shift
User damage	Faulty restoration
Moisture damage	Natural conditions damage
Material loss	Connector mortar loss

The ground floors of the two towers labeled 20 and 20' on either side of the Urfa Gate are irregular and covered with sand. There are partial or major deformations on the top layers of both towers, such that all of the load-carrying elements are exposed to external environmental conditions; this would lead to further damage in due course. The poor load transmission across the load-carrying elements makes all of the structures vulnerable, particularly the towers.

In addition, Işık et al. [16] used some non-destructive testing methods to investigate the structural damage on these city walls. Their results revealed that both ultrasonic pulse velocity and time were affected by seasonal changes. They also stated that the basalt stones having the cracks require to be urgently renewed since it was observed decreasing in the ultrasonic pulse velocity of the basalt stone. The suggestions given in the next section and the discussion presented herein are also achieved from evaluating the results presented in the study of Işık et al. [16].

Figure 7. The photographic view of the top of Tower 20

The visually observed damages on Tower 20 can be listed as follows:

- Looseness and abrasion in the majority of the steps on the stairs,
- Cracks and fissures in the grid niches of the tower,
- Destruction in all dendanes[1] on the top of the tower as shown in Figure 7,
- A significant amount of mortar loss at the upper end of the wall, on the south side of the tower,
- Loss of stone material at the lower end of the tower, and
- Humidity-caused damage to the stone rows near the ground.

The visually observed damages on Tower 20' can be listed as follows:

- Partial losses of material and mortar from the ground floor corridor, which was built with vaulted brick,
- Earth-filled ground floor,
- Vertical fissures on the south facade of the wall, which faces the exterior of the city wall,
- Slumps emerging from the vaults on the western side,
- Deep structural cracks that continue from the dome up to the grids on the west and south sides of the first floor as indicated in Figure 8, and
- Some slumped grid niches, which were then filled with earth, on the U-shaped first floor, and slit formations on the top layer dependent on these slumps as exhibited in Figure 9.

(a)

(b)

Figure 8. The photographic views of the cracks on Tower 20': (a) the first-floor cracks and (b) structural cracks

Figure 9. Slit formation on Tower 20' due to the slumps

The visually observed damages on gate transitions can be listed as follows:

- The poor conditioned upper section of the gates, which is interconnected via successive lines of arched arcades[2] (porticos), and adversely affected porticos by vibrations caused by motor vehicles and natural conditions as can be seen in Figure 10,

[1] Dendane: places where the soldiers are stowed on the bodies and signs on the planks.

[2] Arkat, arkata, arcade: Place Arches, porticoes system consists of arch.

Figure 10. A photographic view of porticos on the Urfa Gate

- 11 arched arcades/niches on the outer walls as shown in Figure 11; covering of 4 of the niches on the north gate with earth and rubble as demonstrated in Figure 12,

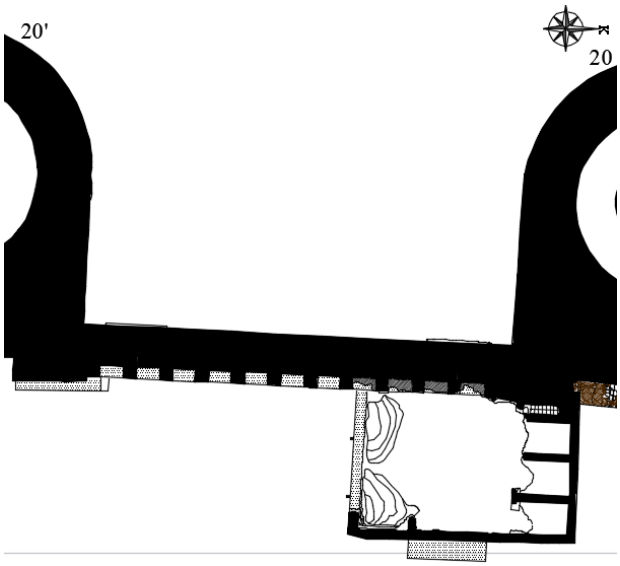
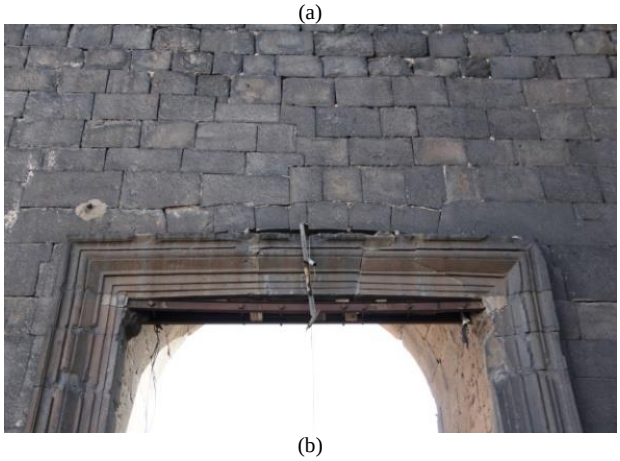


Figure 11. The niche plan at the elevation of 11.99 m

Figure 12. A photographic view of the soil and rubble-filled niches

- Broken stones close to the ground on the outer walls of the gate transitions due to pressure and mortar discharge as well as some partial fissures,
- Capillary cracks on the lintel of the north gate and soot on the walls owing to fires,
- Total demolishing of the south wall of the North Gate and fissures due to exposure of the east wall,
- Covering of the first floor of the north gate with soil and random deformations on it,
- Capillary cracks, loss of the stone, and mortar discharge at the western end of the middle gate (G2) transition, which faces the exterior of the city walls,
- Weakening at the wall section of the site ensue from prolonging the original gap in the arched middle gate (G2), through which there is intense vehicle traffic, in 1944 and random fissures and cracks caused by this weakening,
- The material loss at the bottom sections of the south gate due to structural breakdown and pressure from the stone material (shown in Figure 13a) and cracks on the gate lintel (shown in Figure 13b),

(a)



(b)

Figure 13. The south gate (designated as G3): (a) the material loss at the bottom and (b) cracks on the gate lintel

In the end, the damages on the east and west ends of the gate transitions were photographed for future records. These damages were highlighted in drawings of the facades as demonstrated in Figures 14a, 14b, 14c, and 14d.

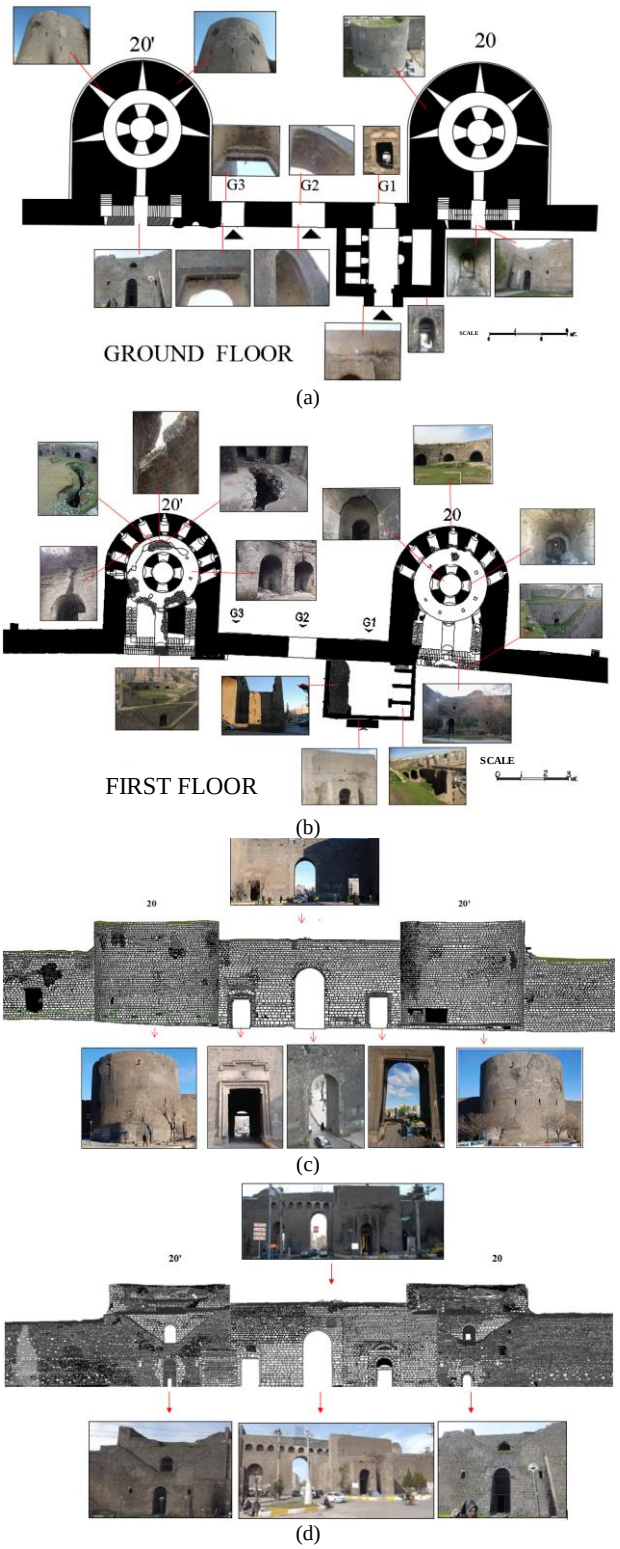


Figure 14. Photographic view and schematically representation of the fissures and cracks on the Urfa Gate, transition, and towers from: (a) ground floor level, (b) first-floor level, (c) outside the city walls, and (d) inside the city walls

4. SUGGESTIONS

Suggestions for fortifying the vertical load-carrying elements of the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers can be listed as follows:

1. By using a mixture that matches with authentic mortar it is suggested to fill all of the structural voids in all of the carrying walls of towers.
2. Partial joint fissions that move from upward to downward on the curved western face of Tower 20 should be extensively analyzed in tandem with problems in the inner tissue. Stones in the cracked area should be numbered and dismantled from downward to upward in the shape of V. By strengthening the interconnectivity of stones they should be laid accordingly.
3. In Tower 20 section, any dimensional differences of the material that stem from previous restoration works should be corrected. Continuity should be guaranteed in the material and loss of resistance should be prevented.
4. On the west facade-wall of Tower 20, holistic fission moving from upward to downward was observed. To prevent that fissure, excavation piles that create load in interior space must be cleared. If deemed necessary, the structure should be suspended after a second revision. Fortification works should be performed via partial dismantling and steel stitching method.
5. In Tower 20 top layer and flooring collapse led to a holistic loss and on the surface of the north outer-facade it triggered large swellings that pose threats. The surface should be extensively analyzed by field experts. If needed sectional dismantling should be conducted and in tandem with horizontal carrying elements in the interior space it is suggested to make reformation.
6. By using a mixture that matches with authentic mortar it is suggested to fill all of the structural voids to the end of elevating wall resistance.
7. Loss of stone material predominant in the lower ends of Arched Middle Gate should be completed with basalt stone that matches with the original material. In the bonding works of surfaces, these locations should be fortified by using mortar fillings that match with the original material.
8. In the arched middle gate the areas where static movement continued there were some irregularities in load transmission which led to structural gaps. To remedy this problem, it is suggested to fill structural voids upon consulting the field experts in selected points with equally authentic material.
9. Resistance loss that emerged in the interior transition corridor of the south gate due to loss of material should be corrected by using a near-authentic material, applicable technique, and workmanship.

Suggestions for fortifying the horizontal load-carrying elements of the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers can be listed as follows:

1. To prevent fission in the tower, wall any slumps and partially destroyed floorings and domes should be reconstructed.
2. Cracks detected in the north gate lintel should be conserved by field experts.
3. Resistance should be ensured in the brick material that existed in the arched arcades in the upper portion of outer walls and binding mortar.
4. As regards the concrete-covered surface on the lintel facing the city wall in the north and south gate, field experts should be in charge of clearing the procedure.

5. As regards pebble cracks observed partially on the entirety of outer walls, field experts should be commissioned to implement conservation procedures.
6. After the holistic fortification and entire restoration of the structure is completed, temporary metal suspenders that hang for security purposes on the transitions of north and south gate should be dismantled by field experts in the best way to protect the structure against any damages.
7. Fission and joint discharges threaten the safety of transition in arched middle gate hence arch resistance should be fortified and structural voids should be filled by using a material that matches the original mortar.
8. Earth fill and deposits that trigger load increase in Tower 20 and Tower 20' should be cleared by human power so as not to damage the structure.
9. In Tower 20' the dome that is significantly damaged should be suspended. It should be completed by using equally authentic material and techniques. If required, to prevent any tensile-stress and potential openings, it should be fortified via a steel ring or another method approved by experts.
10. The loss of materials in the brick vault and arches should be completed by an equally authentic material and technique. In particular, it is essential to follow the brick dimension and walling pattern used on city walls.
11. Fillings detected in the grid rooms located in the gallery floors of towers should be emptied. Losses of brick material and mortar should be completed by using equally authentic material and technique.
12. Dislocated or baseless step stones should be fortified in the stairs to reach the upper floor.

In addition to the suggested fortification works, further interventions are required to implement the extensive restitution and restoration projects. Together, these will constitute a holistic, effective, and sustainable conservation strategy for preserving the outer walls and towers of the Urfa Gate, which are considered cultural assets. In addition to our observational and instrumental assessments of the Urfa Gate, state authorities must authorize relief, restitution, and restoration projects. Detailed damage analyses will help experts to identify the restoration interventions required. Scientific councils should be formed to promote the exchange of scientific and academic views. Further interventions that are consistent with state-of-the-art restoration works should be introduced. Besides, Işık [7] proposed an analyzing model for the preparation of the fortification and integration. This model schematically describes the proposals for the vertical and horizontal carriers as well as the ground and foundation. In addition, the complementary recommendations were also identified, and an appropriate flow was submitted. Regarding this flow, the following concepts for the complementary recommendations can be given.

Clearing: earthwork and excavated piles on the outer walls and in the interior space, as well as the fillings observed in the interior parts of the arched arcades, should be cleared to minimize the structural load. The earth fill and material excavated from the north gate should be removed manually under the supervision of experts to prevent structural damage. Authentic iron gate wings should be cleared by authorized experts, and the gates should be conserved and restored. Paint, cement mortar, dust, and soot should be cleared from all of the outer surfaces.

Fortification: in addition to replacing any corroded materials, fortification work should begin on the stone and brick walls of all of the interior and exterior surfaces of the outer walls, gate transitions, and towers of the Urfa Gate. The materials and dimensions of the building elements should be selected in accordance with the views of the scientific council, which should be informed by detailed analysis.

Integration: materials lost from the outer walls that hosted the gate transitions should be replaced with authentic materials using appropriate techniques.

Rebuilding: the stairs for accessing the upper floor of the North Gate should be rebuilt as part of the extensive restoration project. The damaged lintel facing the city wall from the North Gate, which had weight-carrying properties, has been lost and should be rebuilt using authentic materials and techniques. The dendanes, which have been almost completely destroyed, should be rebuilt. Gates and transitions should be built in the locations where the original tower gates no longer stand.

Renovation: corroded gridirons should be renovated and covered with protective paint. The ground covering at the entrances of the towers should be dismantled and renovated.

5. CONCLUSIONS

Diyarbakır has maintained its existence through the reflections from the historic and cultural heritage of several civilizations as one of the salient historic centers of the Southeastern Anatolia Region. Among all of these assets, the most noteworthy one is Diyarbakır City Walls that encompass the historic city center and the Suriçi region inside the walls. The Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers that connect Diyarbakır city walls with the west have coped with damages in due course (neglect of the authorities, neglect of the locals, improper restoration, etc.) and heavy traffic also added to the rise in already-prevalent damages.

In most cases historic masonry structures in which construction technique, periodic properties, material analyses, and structural problems are not analyzed in detail, authentic values may be forgotten. Therefore, with the help of a knowledgeable and professional expert team observational and instrumental tests should be conducted to unveil the type, degree, and impact level of the damage. In accordance with the analyses, applicable solutions for fortification and integration works should be developed to enable the conservation and sustainability of the structure. In the Urfa Gate towers,

the most critical damages assessed in the observational analysis are the partial collapse of top layers and slump and crack formations due to loss of material and mortar.

Observed damages in the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers that occurred due to a myriad of causes were also recorded in the photographic images. By drawing the plan and facades of Urfa Gate, outer walls, gate transitions and towers their damage condition was highlighted in drawings. Damages that were verified through architectural drawings and observational analyses in Urfa Gate, gate transitions, outer walls, and towers were symbolically expressed in Table 1.

In 1944 arched middle gate was elevated and it triggered a weakening of the wall section therefore damages observed in gate transitions and outer walls multiplied. Damages and crack formed in the arched "arcades" of 11.99 m the layer of gate transition's eastern façade that faces the Suriçi region reached critical dimensions.

It is aimed that with the suggested fortification and integration interventions provided for the Urfa Gate, gate transitions, outer walls, and towers of which load-carrying system problems were identified should be assessed via analyses that entail conservation and sustainability concepts in order to ensure structural unity and sustainability. At the end of observational assessments of Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers, the general fortification suggestions have been developed for the identified damages. Nonetheless, in addition to structural works that would comply with general fortification suggestions, it is required to introduce new integration interventions and arrangements. These are;

- Gates should be closed to vehicle traffic. Intense traffic which is pervasive for the majority of day hours would lead to an increase in structural damages. On that account, it is suggested to seek alternative roads that cross outside of the Urfa Gate and traffic flow should be reformulated.
- As is the case for all the other sections of city walls landscape arrangement in Tower 20 and Tower 20' should also be analyzed by experts. Trees and green field adjacent to towers could harm the foundation of structures. In historic structures, it is essential to conduct an exclusive survey for landscape arrangements and choices of the tree. If possible it is suggested to make new arrangements in this particular area.
- As is the case in the entirety of the city walls there are drainages around the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers. Underground waters and environmental waters, as well as rainfalls, should be kept at a distance from city walls hence with a proper landscaping action it is suggested to form a holistic drainage project.
- Diyarbakır City walls and Hevsel Gardens were included in the list of UNESCO Cultural Heritage in 2012. Conservation of this cultural heritage that also gained a universal acclamation, relevant fortification, and restoration works call for more scientific studies, projects, applications, and briefings. Institutions that are authorized to make decisions regarding city walls should attach the utmost importance to this concern. To that end, an international-scale auditing board should be established.
- In the fortification and integration intervention works projected for the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers the latest earthquake regulation in effect should be followed.
- Fortification and integration interventions projected for the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers should comply with "ICOMOS 2013" and criteria from "The Venice Charter".
- Certification and intervention works should be applied specifically to each structure by conducting lab analyses of authentic materials such as stone, brick, adobe, and mortar extracted in the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers.
- By detecting the ground and foundation structure in the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers renovation and improvement methods should be applied whenever required on the ground.
- All of the damaged carrier elements in the Urfa Gate, outer walls, gate transitions, and towers should be fortified by applying an equally-authentic material and technique that would follow the methods compatible with the authenticity of the structure.

REFERENCES

[1] Wikipedia the Free Encyclopedia. Turkey; 2020 [Cited 2020 April 15]. Available from: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=7818230

[2] Wikipedia the Free Encyclopedia. Diyarbakır; 2020 [Cited 2020 April 15]. Available from: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=7123114

[3] UNESCO. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization - World Heritage in Turkey; 2016 [Cited 2020 February 10]. Available from: http://www.unesco.org.tr/Content_Files/Content/Yayinlar/wht_2016.pdf

[4] Halifeoğlu FM. Castle Architecture in Anatolia; Fortifications of Diyarbakır. Frontiers of Architectural Research. 2013;2:209-21.

[5] Gabriel A. Voyages Archeologiques Dans La Turquie Orientale. Institut Français D'arceologie de Stamboul E.De Boccard, Paris, France, 1940

[6] Halifeoğlu FM, Gökçay G. Restoration and refunction problems of Diyarbakır traditional houses. Journal of Cultural Heritage. 2013;14(3):34-7.

[7] Işık N. Geleneksel yığma yapılarda taşıyıcı sistem hasarları ve nedenlerinin tespiti ile güçlendirme ve tamamlayıcı müdahale önerileri; Diyarbakır; Suriçi örneği [dissertation]. Diyarbakır: Dicle University; 2017.

[8] Halifeoğlu FM. The architectural properties and construction techniques of Diyarbakir city walls. In: Proceedings of International Symposium of the City Walls of Diyarbakır. Diyarbakır: Diyarbakır Culture and Art Publications; 2012. P. 105-21.

[9] Aköz F. Damage assessment test and measurement methods of masonry structures. Workshop on Increasing Earthquake Safety in Masonry Structures, 2005.
[10] Özçep F, Karabulut S, Özgüven B, Sanlı O. Nondestructive testing methods and ultrasonic velocity measurements. Geophysical Newsletter. 2012;69-71.
[11] Parla C. As the Turkish city of Diyarbakir Islam [dissertation]. Ankara: Hacettepe University; 1990.
[12] Beysanoğlu S. Anıtları ve kitabeleri ile Diyarbakır tarihi (History of Diyarbakır with Monuments and Inscriptions). Ankara, 1990.
[13] Parla C. Diyarbakır Walls and the history of the city. Journal of the Faculty Architecture of METU. 2005;22(1):57-84.
[14] Diyarbakır Old Photos. WoW Turkey Photo Archive; 2020 [Cited 2020 February 10]. Available from: http://wowturkey.com/forum/viewtopic.php?p=2988786
[15] Bayraktar A, Hökelekli E, Halifeoğlu FM, Mosallam A, Karadeniz H. Vertical strong ground motion effects on seismic damage propagations of historical masonry rectangular minarets. Engineering Failure Analysis. 2018;91:115-28.
[16] Işık N, Halifeoğlu FM, İpek S. Nondestructive testing techniques to evaluate the structural damage of historical city walls. Construction and Building Materials. 2020;119228.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 157-169, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 157-169, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.823003 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Alchemilla persica'nın Farklı Polaritelerdeki Ekstraktlarının Antisitotoksik, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Bülent KAYA[1*]

[1] Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl, Türkiye
Bülent KAYA ORCID No: 0000-0002-1216-6441

**Bülent KAYA: b_kaya_tr@yahoo.com*

(Alınış: 07.11.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Alchemilla persica, Antisitotoksik, Antioksidan, Antimikrobiyal, Bitki Ekstraktları

Öz: *Alchemilla persica*, hekzan, diklorometan, etil asetat, metanol ve su gibi artan polariteye sahip çözücülerde farklı polaritelere sahip bitki özleri elde edildi. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde toplam fenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve likopen içeriği etil asetat, fenolik asit içeriği hegzan ekstraktında; *β*–karoten içeriği metanol ekstraktında diğer ekstraktlara göre yüksek olarak belirlenmiştir. Toplam antioksidan aktivite, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelatlama kapasitesi, toplam indirgeme gücü, hidrojen peroksit giderme, hidroksil radikal uzaklaştırma aktiviteleri farklı konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde agar disk difüzyon tekniği kullanıldı. Antimikrobiyal testlerde, *Alchemilla persica*'nın diklorometan ekstraktı, en yüksek aktiviteye sahip ekstrakt olarak belirlendi. Etil asetat ekstresinin antimikrobiyal özelliği, diklorometan ekstraktına hemen hemen benzerdi. Bu ekstraktları antimikrobiyal değerlendirmede metanol ve su ekstreleri izledi. *Alchemilla persica*'nın farklı özütleriyle yapılan antioksidan çalışmaları sonucunda, α-tokoferol, BHA, BHT ve Trolox gibi standart antioksidanlardan daha etkili olduğu bulunmuştur. Bitki ekstraktlarından su ve metanol ekstraktları anti-sitotoksik etki için çalışılmış ve bu ekstraktlar farklı konsantrasyonlarda hücre büyümesini engellemiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar bu *Alchemilla persica* türüne ait ekstrelerin antioksidan, antimikrobiyal ve antisitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Determination of Anticytotoxic, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Alchemilla persica* Extracts in Different Polarities

Keywords
Alchemilla persica, Anticytotoxic, Antioxidant, Antimicrobial, Plant Extracts

Abstract: Plant extracts with different polarities were obtained by transferring *Alchemilla persica* into different solvents with an increasing polarity such as hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol, and water. In determining the antioxidant activity, total phenol content, total flavonoid content, and lycopene content in ethyl acetate, the phenolic acid content in hexane extract; *β*-carotene content in methanol extract was determined to be higher than other extracts. Total antioxidant activity, DPPH free radical removal activity, metal chelating capacity, total reduction power, hydrogen peroxide removal, hydroxyl radical removal activities were identified in different concentrations. Agar disc diffusion was used in the determination of the antimicrobial activity. Dichloromethane extract of *Alchemilla persica* appeared as the extract with the highest activity. The antimicrobial property of the ethyl acetate extract was almost similar to dichloromethane extract. Methanol and water extracts followed these extracts in antimicrobial evaluation. As a result of antioxidant studies with different extracts of *Alchemilla persica*, was found to be more efficient than standard antioxidants such as α-tocopherol, BHA, BHT, and Trolox. Water and methanol extracts from plant extracts worked for the anticytotoxic effect, and these extracts prevented cell growth at different concentrations. The results obtained in the study were determined that the extracts of *Alchemilla* persica have antioxidant, antimicrobial, and anticytotoxic effects.

1. INTRODUCTION

Alchemilla L. species belongs to the Rosaceae family. Rosaceae family is a large and significant family of dicotyledons that includes herbaceous and arboreal plants. This family contains up to 3370 taxa within 122 taxonomies. Several species are grown in parks and gardens as ornamental plants. Most of the *Alchemilla* L. species are observed in the Northern Anatolia Region in Turkey. It was argued that these could be close relatives of the species that grow in Crimea, Caucasia, and Iran [1].

It was observed that vegetable and fruit rich diets prevent diseases such as chronic coronary risks, cardiovascular diseases, arthritis, chronic inflammation, and cancer in epidemiologic and empirical studies [2 – 6].

The physiological functions of vegetables and fruits are related to their phenolic content. Chromatic vegetables and fruits contain phenol sources and carotenoids, including plenty of flavonoids and anthocyanin in their structures [7 – 11]. More than 4000 species of flavonoids that belong to polyphenol plant taxonomy were discovered [11]. Flavonoids and anthocyanidins responsible for the color blue in orange and red vegetables and fruits could be classified as flavanols (catechins), flavones, and flavonols [11]. Lipid peroxidation in biological systems; biological structures and especially membranes contain high rates of unsaturated lipid. These lipids incur oxidation either due to a radical initiator or in the existence of oxygen. Lipid peroxides cause cellular damage, change the metabolism, and reduce the blood flow in tissues due to the use of chemical substances they contain. They also affect amino acids and proteins via free radicals, which could modify unsaturated amino acids that contain sulfur (tryptophan, tyrosine, phenylalanine, histidine, methionine, and cysteine) and proteins that contain these amino acids. Their effects on nucleic acids and DNA could be summarized as base modification in nucleic acids, the formation of mutations due to the breaking of fibrils in DNA, and necrosis. They could cause changes in cell surface receptors and synovial fluid viscosity by adding hyaluronic acid in carbohydrates and reducing the amounts and activities of cofactors that contain nicotinamide and flavin [12].

Phytonutrients are quite significant for health since they fulfill certain physiological functions. When these nutrients are consumed frequently and regularly, they have considerable protective effects on human health. In vitro studies demonstrated that phytochemicals in nutrients have powerful antioxidant potential, reduce the risk of diseases, and protect the body against cancer and cardiovascular diseases. Vitamins, ascorbic acid, α-tocopherol, and β-carotene are among the antioxidants that are found in nutrients. Studies demonstrated that vitamins C and E and carotene antioxidants are more effective than flavonoids, isoflavone, anthocyanin, catechin, and isocatechin [13]. Industrial food producers add high-intensity synthetic antioxidants to products to increase their shelf lives, to protect nutritional value, and to reduce the formation of detrimental substances [14].

The effects of synthetic antioxidants, BHA, and NHT were tested on animals. It was determined that these synthetic antioxidants accumulated in the animals' bodies tested and damaged their livers, having carcinogenic effects [14].

Certain countries have banned the use of synthetic antioxidants. It is considered that many others would prohibit the use of synthetic antioxidants in food products in the future. Studies are conducted to replace synthetic antioxidants with natural substances [15].

There are studies conducted on the effects of natural products obtained from plants on antibacterial and antioxidant agent development to replace synthetic chemicals, and today these studies represent a field called 'functional nutrients' [16].

The widespread and unregulated use of antimicrobial substances, especially in developing nations, causes a selection favouring resistant strains [17]. Thus, antibiotic resistance increased considerably during recent years, and the increase in therapeutic problems is becoming a significant health issue [18, 19].

Studies to discover new antimicrobial agents are obligatory in the fight against infections since pathogen bacteria develop resistance against several commonly used antibiotics and overcome the resistance problem. Due to the side-effects that existing antimicrobial agents cause [20]. Scholars are recently interested in biologically active compounds isolated from plant species and can destroy pathogenic microorganisms. In recent years, medicinal plants' antimicrobial properties have been increasingly reported in different parts of the globe [21, 22].

This study aims to determine the antioxidant and antimicrobial properties specie *Alchemilla persica* of *Alchemilla* L., becoming prevalent in Turkey. Only a few studies in the literature determine whether it could be used in functional nutrient studies.

2. MATERIAL AND METHOD

2.1. Materials

2.1.1. Supply of the *Alchemilla persica*

The plant used were procured from Kırıkkale University ADO Herbarium.
Alchemilla persica samples utilized in this study were collected on the highway that connects Trabzon and Gümüşhane, from Trabzon to the Zigana Pass, and from the road that leads to Gümüşyayla ski area, where it is deployed liberally. The registration numbers and the herbarium that the samples were stored are displayed in Table 1.

Table 1. Gatherer registration number, and the herbarium that the samples were stored.

Plant name	Gatherer Registration No.	Herbarium
A. persica	Yusuf 1508	ADO

2.1.2. Chemical substances used

All chemicals and reagents utilized are procured in analytic or HPLC class purity. Catechin (+), Gallic acid, Folin-Ciocalteu reagent, 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, ferrozine, trichloroacetic acid (TCA), linoleic acid, α-tocopherol, catechin, quercetin, sodium carbonate, sodium phosphate, sodium nitrite, sodium nitrate, sodium molybdate, ammonium molybdate, aluminum chloride, DMSO, hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol, ethanol, acetone, ferrous chloride, ferrous cyanide, hydrogen peroxide, 1.10-phenanthroline were purchased from Sigma Aldrich (USA). Mueller Hinton Agar, Dextrose Agar, butylated hydroxy anisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) were procured from Merck (Darmstadt, Germany). RPMI 1640 medium, Fetal bovine serum was purchased from Biological Industries, Israel. WST-1 cell proliferation assay kit was purchased from Clontech, USA.

2.1.3. Laboratory equipment used

Microbiologic security cabinet (Bilser), UV-VIS Spectrophotometer(Shimadzu/ Jasco V650), UV-Spectrophotometer sink (3 cubic centimeter quartz sink), magnetic stirrer (Ika), heated water bath (Wise Clean), automatic pipettes (Brand), circular shaker (Gerhardt), ultrasonic bath (Wise Clean WUC-D06H), deep-freeze (-86 °C, Hettich/ Nuair), rotary evaporator (Ika RV06-ML), pH-meter (Hanna Instrument), precision balance (Precisa, Denver), incubator (Elektro-Mag 0-300ºC), vortex (Ika MS3 Basic), water purifier (GFL 2004), dispenser (Isopenser), centrifuge (Hettich Universal 320), refrigerator (4°C, Arçelik), autoclave (Hirayama), disinfector (Memmert 100-800) were utilized.

2.2. Methods

2.2.1. Extraction technique

The dry plant sample was pulverized in the mortar. Then the powder was subjected to the extraction process from a nonpolar solvent to the polar solvent. For this purpose, it was mixed in a shaking mixer for 24 hours at 150 rpm in initially hexane fraction and in dichloromethane, ethyl acetate, methanol, and distilled water, respectively. Finally, the extracted liquid was filtered, and the solvent was evaporated in a low-pressure rotary evaporator, and the extract was obtained. The extract was then transferred to a vacuumed desiccator and thoroughly dried and was protected from humidity. The plant residue remaining in the filtrate was transferred into the hexane fraction for the second and then the third time, and the same processes were repeated. These processes were conducted again to obtain the other solvent extracts similarly. Thus, five different fractions were obtained for the plant strain [23].

2.2.2. Antioxidant activity determination techniques

2.2.2.1. Total phenolic substance assay

The extracts' total phenol amount was determined using the Folin-Ciocaltaeu method [24]. Gallic acid and all working samples were prepared in 70% methanol. 0.5 mL sample, 2.5 mL Folin-Ciocaltaeu reagent, and 7.5 mL sodium carbonate solution were mixed in a flask and kept at room temperature for 2 hours. After 2 hours, the absorbance of the solutions was read using a UV spectrophotometer at 760 nm, and total phenol amounts were calculated from the calibration curve plotted with gallic acid, where it would equal the gallic acid per mg [24].

2.2.2.2. Determination of total flavonoid content

To determine the total flavonoid amount, 250 µl of plant extract was transferred into 1.25 mL distilled water. 75 µl 5 % $NaNO_2$ solution was added to this mixture and stirred. After 5 minutes, 10% $AlCl_3.H_2O$ solution was added to this mixture and stirred. On the following 6th minute, 500 µl 1 M NaOH was added, and then 275µl distilled water was added, and the whole mixture was stirred well but gently. Total flavonoid content was calculated in mg per kg plant extract by reading the pink color that appeared at 415 nm based on the previously prepared (+)-catechin standard calibration graph as a (+)-catechin match [25].

2.2.2.3. Total phenolic acid content (TPA)

Freshly prepared plant extract (1.0 mL) was added to the reagent (2.0 mL), which was prepared by dissolving 0.5 M hydrochloric acid (2.0 mL), 10 g sodium nitrite, and 10 g sodium molybdate in 100 m water. Then 2 mL 8.5% sodium hydroxide was added. Then the mixture was filled with distilled water until the volume reached 10 mL. Absorbance was read at 505 nm. For blind tests, 10 mL of water was used for each extract. To determine the total phenolic acid content standard calibration curve was plotted using sinapic acid. Total phenolic acid content was calculated using sinapic acid equivalent in the calibration curve [26].

2.2.2.4. Determination of total B-Carotene and lycopene content

To determine the carotenoid content by a spectrophotometric approach using Barros et al.'s [25] method, 100 mg plant extract was transferred into 10 mL acetone-hexane (4:6) mixture and stirred well for 1 minute and filtered using Whitman No: 4 filter paper. The absorbance values of the filtrate were measured at 543, 505, and 663 nm wavelengths. β-Carotene and lycopene content was evaluated using standard graphs, and carotenoid amounts per kg plant were calculated in mg [25].

β-Carotene and lycopene content was calculated using the formulas 1 and 2:

$$\textbf{β-carotene (mg/100 mL)} = 0{,}216A_{663} - 0{,}304A_{505} + 0{,}452A_{453} \quad (1)$$

$$\textbf{Lycopene (mg/100 mL)} = -0{,}0458A_{663} + 0{,}372A_{505} - 0{,}0806A_{453} \quad (2)$$

Where A_{663}, 663 nm; A_{505}, 505 nm; and A_{453}, 453 nm; indicate absorbance values read in corresponding wavelengths. The results were calculated as mg carotenoid amount per g extract.

2.2.2.5. Removal of the effects of DPPH radical

2.7 mL methanolic solution, including the DPPH radical that was prepared as $6x10^{-5}$ mol per liter, was added into the phenolic extract (0.3 mL) in different polarities and obtained from the plant. This mixture was stirred vigorously and then stored in a dark area for 60 minutes. The reduction of DPPH radical is determined by the Assessment of its absorption at 517 nm. The Removal of the activity of this radical was conducted using the method provided by several researchers [27]. Removal of the DPPH color was indicated by the spectrophotometric method, and DPPH radical removal activity for the extracts was calculated. DPPH radical removal activity was calculated using the formula below:

% Inhibition = $(1-A_{Sample}/A_{Control}) \times 100$ (3)

where $A_{control}$ is the absorbance of the control or the blind, and A_{sample} is the absorbance measured when the extract was present.

2.2.2.6. Determination of the reductive force property

2.5 mL of plant extracts diluted with various concentrations were mixed with 200 mmol/L sodium phosphate buffer with pH:6.6 and 2.5 mL 1% potassium ferrous cyanide and incubated for 20 minutes 50 degrees C. 2.5 mL 10% trichloroacetic acid solution was added. This mixture was centrifuged for 8 minutes at 1000 rpm. After the centrifuge, the upper phase was removed, and 5 mL deionized water and 1 mL 0.1% ferrous chloride was added to the upper phase, and the reading was conducted at 700 nm on the spectrophotometer. High absorbance indicated high reductive property. The calculations were conducted against BHA and α-tocopherol standards [28].

2.2.2.7. Hydrogen peroxide removal activity assay

Hydrogen peroxide removal activities of the solutions prepared by plant extracts utilized in the study and water that contains various concentrations of synthetic antioxidant substances were assayed using the method developed by Ruch et al. [29]. Hydrogen peroxide (H_2O_2) (40 mM, 0.6 mL) prepared in 100 mM pH 7.4 phosphate buffer was added to 0.4 mL plant extract solutions. As soon as H_2O_2 was added, the mixture's absorbance at 230 nm was read against the blind. H_2O_2 removal activity was calculated using the formula below:

H_2O_2 Removal Activity = $(1-A_{Sample}/A_{Control}) \times 100$ (4)

where $A_{Control}$ is the absorbance of the control or the blind, and A_{Sample} is the absorbance measured when the extract was present.

2.2.2.8. Determination of the hydroxyl radical removal property

Hydroxyl radical removal property was analyzed using Fenton reaction as determined by the method developed by Özyürek et al.[30]. Based on this method, and the reaction mixture was prepared by adding 60 µl 1 mM $FeCl_2$; 90µl one mM 1.10-phenanthroline; 2.4 mL 0.2 M phosphate buffer (pH: 7.8); 150 µl 0.17 M H_2O_2; and 1.5 mL extracts in different concentrations. H_2O_2 was added to this mixture to initiate the reaction. At the end of the 5 minutes of incubation at room temperature, the measurements were taken at 560 nm using the spectrophotometer, and the hydroxyl radical removal activity was calculated using the equation below [30]:

Hydroxyl Radical Removal = $(A_1-A_2/A_0) \times 100$ (5)

where A_o is the absorbance of the control (without the extract); A_1 is the absorbance value measured when the extract was present, and A_2 is the absorbance value measured when the 1.10-phenanthroline was not present.

2.2.2.9 Determination of the metal-chelating activity

Metal chelating activity was analyzed via iron chelation property. It was conducted using the method developed by Dinis et al. [31]. Determining this property in different plant extracts was initiated by adding 1.6 mL deionized water and 0.05 mL 2 mM $FeCl_2$ to each 0.5 mL extract. After 30 seconds 0.1 mL 5 mM ferrozine was added. When ferrozine reacts with two-atomicity iron, it becomes highly soluble in water. The mixture was then stored for 10 minutes at room temperature, and then the absorbance of the mixture of Fe^{+}ferrozine complex was measured at 562 nm. Thus, the iron-chelating activity of the extract was calculated using the formula below [31]:

Chelating Activity = $(1-A_{Sample}/A_{Control}) \times 100$ (6)

where $A_{kontrol}$ is the absorbance of the control or the blind, and A_{numune} is the absorbance measured when the extract was present.

2.2.2.10. Determination of the total antioxidant capacity

The samples' antioxidant activities were evaluated based on the phosphor-molybdenum method developed by Prieto et al. [32] and expressed as ascorbic acid equivalent. In brief, the extract dissolved in 0.4 mL methanol and 4 mL reagent solution (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate, and 4 mM ammonium molybdate) were mixed. For the blind, methanol was used to replace the plant extract. The reaction mixture was stirred with vortex and kept for 90 minutes in a water bath at 95 ^{0}C. Absorbance was measured at 695 nm wavelength. Antioxidant activity was calculated as ascorbic acid equivalent (AAE µg / mL extract) [32].

2.3. Antimicrobial Activity Determination Methods

2.3.1. Selection of test microorganisms

Test microorganisms used in the study were procured from the Refik Saydam Public Hygiene center. Gram (+), gram (-) microorganisms (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae)* and yeasts (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae)* were used.

2.3.2. Agar disc diffusion method

Antimicrobial activity tests were conducted in compliance with the method reported by Berghe and Vlietinck [33]. Plant extracts were dissolved in 100% dimethyl sulfoxide (DMSO) to obtain 100 mg/mL. The extracts that were filtered using 0.22 µm nylon membrane filters, which filter in HPLC purity, were used. 200µl of the culture suspension of the microorganisms (which contains approximately 10^6 colonies according to McFarland 0.5 equation) that would be used in the test were spread over Mueller Hinton agar and Sabouraud dextrose agar, respectively. Later on, 50 µl from each extract kept in a sterile environment after filtered through the 0.22 µm nylon filter was saturated into discs with a 3 mm thickness and 6 mm diameter. Discs saturated with 50 µl DMSO was used as the negative control. Streptomycin was used as the reference antimicrobial agent. Petri dishes were then incubated for 1 hour at 4 degrees and then 24 hours at 37 degrees. Antibacterial activity was determined by the measurement of the zones around the extract saturated discs [33].

2.4. Determination of the Antiproliferative Effect

2.4.1. Cell culture

Human prostate cells (PC-3) were used in this study. Cells were purchased from the American Type Culture Collection (ATCC, USA). The cells were cultured in RPMI 1640 medium (Biological Industries, Israel) containing 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% penicillin-streptomycin solution (Biological Industries, Israel). Cells were grown at 37°C in a humidified incubator with 5% CO_2 and subcultured every two or three days.

2.4.2. Cell proliferation assay

WST-1 cell proliferation assay kit (Clontech, USA) was used for analyzing cell proliferation and viability. Cells were grown in T-25 flasks and harvested. Cells were counted by using a Thoma hemocytometer. $5x10^3$ cells/well in 100 µl medium were seeded in 96 well plates. After 24 h, various concentrations of the extracts of *A. persica* were added to wells in 100 µl medium. Cells were treated with 500 and 250 µg/mL concentrations of the extracts. After 48 h, 5 µl of WST-1 reagent was added to each well, and after four h incubation, absorbance was measured at 450 nm by SpectraMax Plus 384 Microplate Reader (Molecular Devices, USA). Reference absorbance was taken as 630 nm.

2.5. Statistical Analyses

All measurements were repeated three times; the analyses were conducted using students't-test software and $p \leq 0.05$ values were accepted as significant.

3. RESULTS

3.1. Extraction Yields

Table 2 demonstrates the hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol, and water extract yields obtained by extraction from *Alchemilla persica* strain plants.

Table 2. Solvent extracts of *Alchemilla persica*.

Extraction solvent	Yield (%)
Hexane	0.93
Dichloromethane	0.27
Ethyl acetate	1.50
Methanol	0.34
Water	0.25

3.2. Antioxidant Activity Findings

3.2.1. Total phenolic substance amount assay

Solution absorbance values were calculated after the reading by UV spectrophotometer at 760 nm, where total phenol amounts to be equivalent to mg gallic acid on the calibration curve plotted using gallic acid ($y=0.0024x+0.0313$ $R^2= 0.9981$)

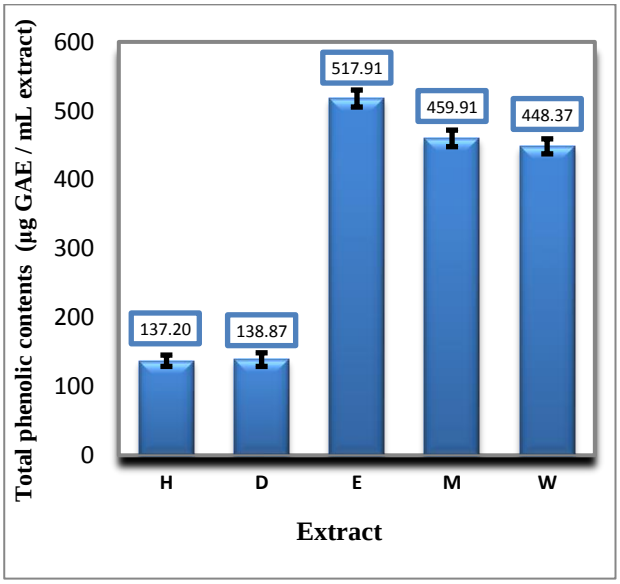


Figure 1. Total phenolic substance content in various solvent extracts for ***Alchemilla persica*** (H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract) could be ordered as ethyl acetate extract > methanol extract > water extract >dichloromethane extract > hexane extract. ($p \leq 0.05$)

The results of the study on the total phenolic substance were calculated as µg GAE / mL extract. According to the results of the study, the highest was found in Ethyl acetate extract (517.79 ± 12.35 µg GAE / mL extract), followed by methanol extract (459.91 ± 12.01 µg GAE / mL extract) and water extracts (448.37 ± 10.89 µg GAE / mL extract). Following these extracts, the amount of phenolic substance found in the dichloromethane extract was found to be 138.20. Hexane extract (137.20 ± 8.24 µg GAE / mL extract) showed the lowest phenolic substance content. Study findings are shown graphically in Figure 1.

3.2.2. Determination of total flavonoid content

The absorbance of the solutions was read with a UV spectrophotometer at 415 nm. ,and total flavonoid amounts were calculated based on (+) Catechin standard calibration curve in µg / mL. (+) Catechin standard calibration graph (y= 0.0014x+0.0334 R^2= 0.9917) is provided.
Figure 2 shows the total flavonoid content study results for *Alchemilla persica* extracts. The total amount of flavonoid substance contained in ethyl acetate extract (176.85 ± 2.50) was higher than other solvent extracts. Methanol extract (124.71 ± 2.35), water extract (94.5 ± 2.50) and dichloromethane extract (82.00 ± 2.00) followed respectively. Hexane extract (57.21 ± 1.20) was seen to show the lowest total flavonoid content.

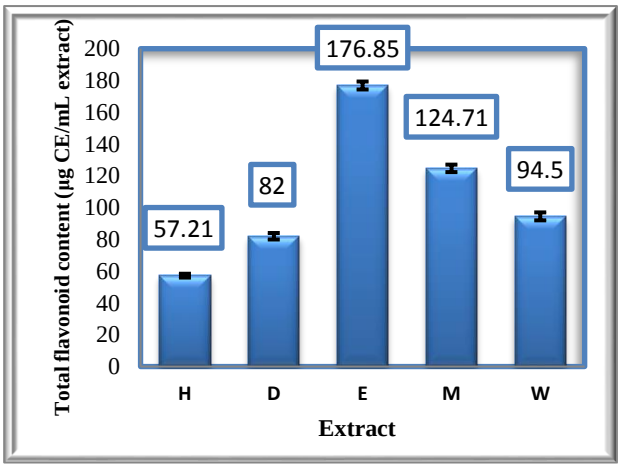


Figure 2. Total flavonoid content in various solvent extracts for ***Alchemilla persica*** (H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract). ($p \leq 0.05$)

3.2.3. Total phenolic acid content (TPA)

The extract prepared was read at 505 nm wavelength for phenolic acid content of the samples. Total phenolic acid content was calculated based on the standard calibration curve for sinapic acid (y=0.0002x+0.071 R^2=0.9884).

Figure 3 demonstrates the total phenolic content findings for *Alchemilla persica* extracts. Results were determined as the amount of µg per 100 ml. The total phenolic acid substance amount found in hexane extract (5583.65 ± 50.33 µg/100 mL extract) was higher when compared to other solvent extracts. It was observed that methanol (854.50 ± 10.54 µg/100 mL extract) and water extracts (1139.87 ± 10.21 µg/100 mL extract) demonstrated the lowest total phenolic acid content. Dichloromethane (1267.23 ± 20,21 µg/100 mL extract) and ethyl acetate extracts (1451.45 ± 1.71 µg/100 mL extract) displayed similar results.

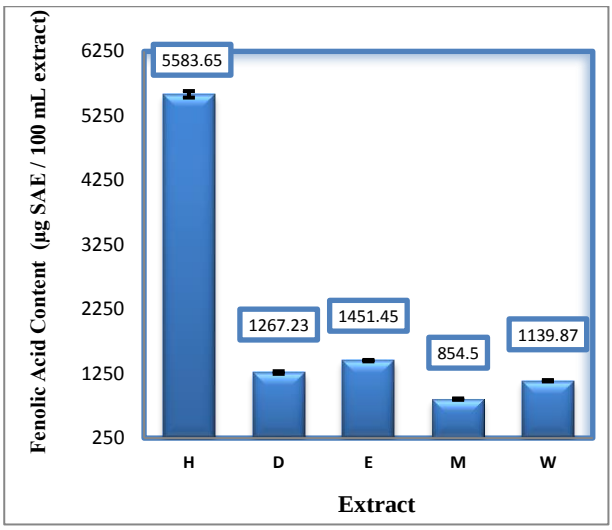


Figure 3. Total phenolic acid content in various solvent extracts for ***Alchemilla persica*** (H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract). ($p \leq 0.05$)

3.2.4. Determination of total β-Carotene and lycopene content

Absorbance values for the filtrate were measured at 453, 505, and 663 nm wavelengths. β-carotene and lycopene content was calculated using standard graphs. The carotenoid amount in 100 mL plant was calculated in milligrams [25]. Results were calculated in mg per 100 mL extract carotenoid (Figure 4) and lycopene (Figure 5).

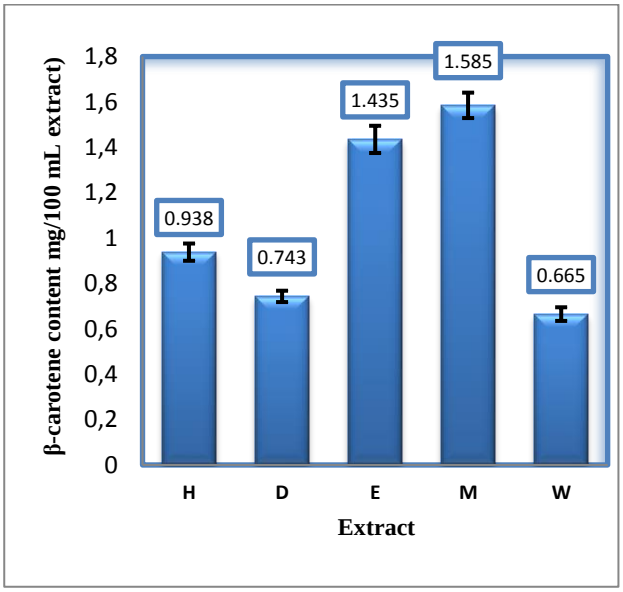


Figure 4. *β*-carotene content for various ***Alchemilla persica*** solvent extracts. (H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract), ($p \leq 0.05$).

Results, methanol extract (1.585 ± 0.056 mg/100 mL extract)> ethyl acetate extract (1.435 ± 0.06 mg/100 mL extract)> hexane extract (0.938 ± 0.04 mg/100 mL extract)> dichloromethane extract (0.743 ± 0.02 mg/100mL extract) > water extract (0.665 ± 0.03 mg/100 mL extract) in the order found.

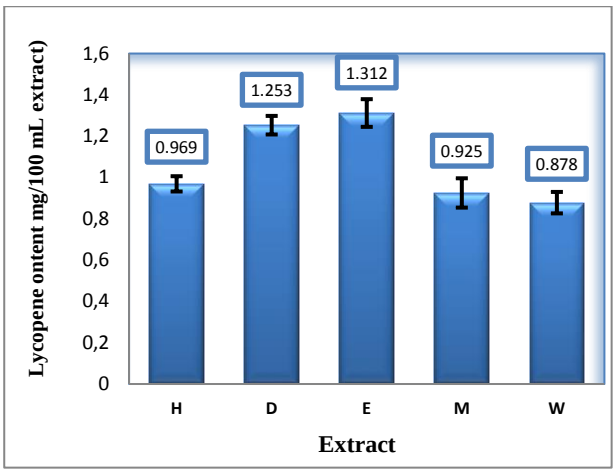


Figure 5. Lycopene content for various ***Alchemilla persica*** solvent extracts. (H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract) ($p \leq 0.05$)

When ranking for the values determined in figure 5, the order of lycopene content was determined as ethyl acetate extract (1.312 ± 0.07 mg/100 mL extract) > dichloromethane extract (1.253 ± 0.05 mg/100 mL extract) > hexane extract (0.969 ± 0.04 mg/100 mL extract) > methanol extract (0.925 ± 0.07 mg/100 mL extract) > water extract (0.878 ± 0.052 mg/100 mL extract).

3.2.5. Removal of the effect of DPPH radical

For the Removal of the radical activity, the extract obtained from the plant was mixed with the radical, and spectrophotometric readings were conducted. Percentage inhibition graphs were plotted for DPPH free radical removal activities of the extracts were plotted against the concentrations.

Percentage DPPH removal activities of standards in various solvent extracts for ***A. persica*** in 0.05 mg/mL concentration could be ordered as methanol extract > water extract > ethyl acetate extract > dichloromethane extract > hexane extract. Corresponding figures for 0.05 mg/mL concentration were 87.46 ± 1.48 > 87.01 ± 0.51 > 86.49 ± 0.41 > 45.41 ± 0.29 > 44.32 ± 0.25 respectively. Percentage DPPH removal activities in 0.1 mg/mL concentration could be ordered as methanol extract > water extract > ethyl acetate extract > hexane extract > dichloromethane extract. Corresponding figures for 0.1 mg/mL concentration were 87.5 ± 0.73 > 87.25 ± 1.19> 87.21 ± 0.68 > 48.47 ± 0.25 > 46.78 ± 1.24 respectively. Percentage DPPH removal activities in 0.15 mg/mL concentration could be ordered as ethyl acetate extract > methanol extract > water extract > dichloromethane extract > hexane extract. Corresponding figures for 0.15 mg/mL concentration were 87.65 ± 1.23 > 87.62 ± 2.01 = 87.62 ± 1.41 > 53.8 ± 0.24 > 48.75 ± 1.25 respectively. Percentage DPPH removal activities in 0.2 mg/mL concentration could be ordered as water extract > methanol extract > ethyl acetate extract > hexane extract > dichloromethane extract. Corresponding figures for 0.2 mg/mL concentration were 88.08 ± 1.42 > 87.98 ± 0.24 > 87.69 ± 0.65 > 78.31 ± 0.91 > 54.04 ± 0.71 respectively.

Percentage DPPH removal activities in the study conducted using several standards in 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.15 mg/mL and 0.2 mg/mL concentrations could be ordered as α-tocopherol >BHA >BHT. Corresponding figures for 0.05 mg/mL concentration were 85.19 ± 0.05 > 83.81 ± 0.08 > 75.91 ± 0.03; for 0.15 mg/mL concentration, 85.52 ± 0.09> 85.33 ± 0.11 > 82.22 ± 0.15; for 0.2 mg/mL concentration, 85.72 ± 1.32 > 85.66 ± 1.14 > 83.58 ± 1.05, respectively. Percentage DPPH removal activities in the study conducted using several standards in 0.1 mg/mL concentration could be ordered as BHA > α-tocopherol > BHT. Corresponding figures for 0.1 mg/mL concentration were 85.18 ± 0.22 > 83.44 ± 0.18> 79.42 ± 0.29 respectively.

It was observed in studies conducted with both various solvent extracts and standard substances that in increasing concentrations, DPPH removal activity has increased as well. Findings on DPPH removal activity are presented in Figure 6 graphically.

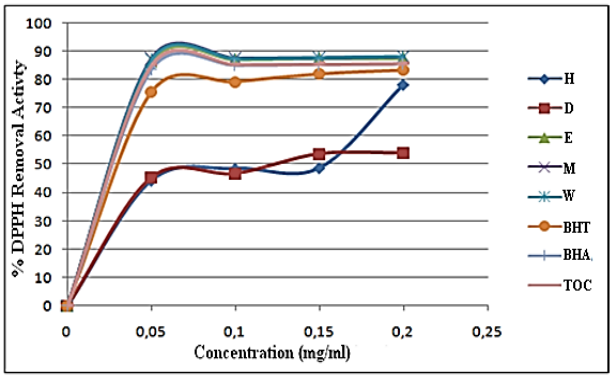


Figure 6. Percentage DPPH removal activities of ***A. persica*** solvent extracts and standard antioxidants in different concentrations
***** H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract TOC: α-tocopherol BHA: Butylated Hydroxy Anisole BHT: Butylated Hydroxy Toluene

3.2.6. Assessment of the Reducing power

Solutions read at 700 nm on the spectrophotometer demonstrated high absorbance values and high reductive properties. The comparisons were conducted against BHA, BHT, and α-tocopherol standards.

Reductive force activities of the standards used in the study conducted using *A. persica* solvent extracts for several standards in 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL concentrations could be ordered as ethyl acetate extract > water extract > methanol extract > dichloromethane extract > hexane extract. Corresponding figures for 0.05 mg/mL concentration were 2.08 ± 0.76 > 1.86 ± 0.73 > 1.67 ± 0.17 > 0.31 ± 0.02 > 0.28 ± 0.03; for 0.1 mg/mL concentration, 2.97 ± 0.58 > 2.70 ± 1.18 > 2.67 ± 1.14 > 0.45 ± 0.08 > 0.27 ± 0.07, respectively. Reductive force activities in 0.15 mg/mL, 0.2 mg/mL concentrations could be ordered as ethyl acetate extract > methanol extract > water extract > dichloromethane extract > hexane extract. Corresponding figures for 0.15 mg/mL concentration were 3.21 ± 0.75 > 2.99 ± 0.61 > 2.74 ± 0.69 > 0.55 ± 0.04 > 0.28 ± 0.03; for 0.2 mg/mL concentration, 3.33 ± 0.51 > 3.15 ± 0.42 > 3.1 ± 2.01 > 0.68 ± 0.04 > 0.28 ± 0.03, respectively.

In the study conducted using various standards, reductive force activity could be ordered as BHA > α-tocopherol > BHT. Corresponding figures for 0.05 mg/mL concentration were 0.79 ± 0.07 > 0.38 ± 0.05 > 0.25 ± 0.01; for 0.1 mg/mL concentration, 1.43 ± 0.59 > 0.62 ± 0.05 > 0.30 ± 0.07; for 0.15 mg/mL concentration, 2.07 ± 0.06 > 0.94 ± 0.01 > 0.36 ± 0.07; for 0.2 mg/mL concentration, 2.44 ± 0.28 > 0.99 ± 0.11 > 0.39 ± 0.03, respectively.

It was determined that the reductive force properties of ethyl acetate, methanol, and water extracts were higher when compared to dichloromethane and hexane extracts. In studies conducted with both various solvent extracts and standard substances, it was observed that reductive force activity increased with the increasing concentrations. Findings are displayed graphically in Figure 7.

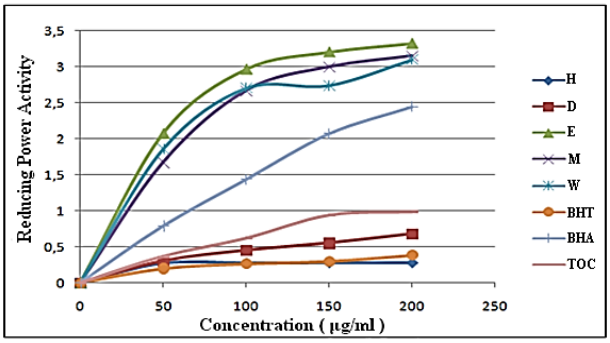


Figure 7. Reductive force activities of ***A. persica*** solvent extracts and standard antioxidants in different concentrations
***** H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract TOC: α-tocopherol, BHA: Butylated Hydroxy Anisole, BHT: Butylated Hydroxy Toluene

3.2.7. Hydrogen peroxide removal activity assay

The absorbance of the solutions obtained from plant extracts was read at 230 nm against the blind. The percentage of H_2O_2 removal activity for each sample was calculated.

Percentage H_2O_2 removal activities of the standards used in the study conducted using ***A. persica*** solvent extracts in 0.5 mg/mL concentration could be ordered as hexane extract > water extract > methanol extract > dichloromethane extract >ethyl acetate extract. Corresponding figures for 0.5 mg/mL concentration were 52.92 ± 2.40 > 41.78 ± 0.95 > 36.05 ± 2.12 > 34.07 ± 1.01 > 32.13 ± 2.13, respectively. Percentage H_2O_2 removal activities in 0.1 mg/mL concentration could be ordered as hexane extract > methanol extract > water extract > ethyl acetate extract > dichloromethane extract. Corresponding figures for 0.1 mg/mL concentration were 53.73 ± 2.04 > 45.62 ± 1.03 > 42.42 ± 2.05 > 39.17 ± 0.60 > 34.15 ± 1.06, respectively. Percentage H_2O_2 removal activities in 0.15 mg/mL and 0.2 mg/mL concentrations could be ordered as hexane extract > dichloromethane extract > methanol extract > water extract > ethyl acetate extract. Corresponding figures for 0.15 mg/mL concentration were 53.73 ± 2.04 > 45.62± 1.03 > 42.42 ± 2.05 > 39.17± 0.60 > 34.15± 1.06, for 0.2 mg/mL concentration were 58.89 ± 0.89 > 57.43 ± 0.34 > 56.25 ± 1.26 > 43.73± 0.77 > 42.53 ± 0.24, respectively.

In the studies conducted, it was observed that the percentage of H_2O_2 removal activity increased as the extract concentrations increased. The findings of the study are presented graphically in Figure 8.

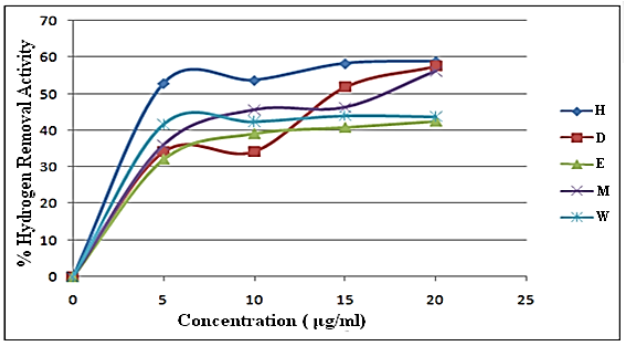


Figure 8. Percentage H_2O_2 activities of ***A. persica*** solvent extracts H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract

3.2.8. Assessment of the hydroxyl radical removal property

Hydroxyl radical removal activity was calculated based on the equation displayed below, following 5 minutes of incubation of the prepared mixture under room temperature and the measurement conducted at 560 nm with the spectrophotometer. Percentage OH radical removal activity for each sample was calculated and presented.

OH removal activities of the standards used in the study conducted using ***A. persica*** solvent extracts in 0.05 mg/mL concentration could be ordered as ethyl acetate extract > methanol extract > water extract > dichloromethane extract >hexane extract. Corresponding figures for 0.05 mg/mL concentration were 2.58 ± 0.50 > 1.75 ± 0.40 > 0.87 ± 0.23 > 0.44 ± 0.06 > 0.24± 0.06, respectively. OH removal activities in 0.1 mg/mL concentration could be ordered as ethyl acetate extract > methanol extract > dichloromethane extract > water extract > hexane extract. Corresponding figures for 0.1 mg/mL concentration were 2.63 ± 0.13 > 2.52 ± 0.74 > 2.45 ± 0.58 > 0.88 ± 0.04 > 0.64 ± 0.14, respectively. OH removal activities in 0.15 mg/mL concentration could be ordered as ethyl acetate extract > dichloromethane extract > methanol extract > hexane extract > water extract. Corresponding figures for 0.15 mg/mL concentration were 6.84 ± 0.36 > 5.81 ± 0.41 > 3.2 5 ± 0.21 > 1.37 ± 0.45 > 0.89 ± 0.13, respectively. OH removal activities in 0.2 mg/mL concentration could be ordered as dichloromethane extract >ethyl acetate extract > methanol extract > hexane extract > water extract. Corresponding figures for 0.2 mg/mL concentration were 9.27 ± 1.14 > 7.55 ± 2.49 > 3.91± 1.17 > 2.57 ± 1.06 > 0.94 ± 0.17, respectively.

In the study conducted using various standards, OH radical removal activity could be ordered as α-tocopherol >BHA >Trolox. Corresponding figures for 0.05 mg/mL concentration were 0.86 ± 0.05 > 0.43 ± 0.09 > 0.15 ± 0.09; for 0.1 mg/mL concentration, 1.32 ± 0.26 > 0.54 ± 0.09 > 0.16 ± 0.07; for 0.15 mg/mL concentration, 1.41 ±

0.58 > 0.65 ± 0.07 > 0.27 ± 0.04; for 0.2 mg/mL concentration, 2.50 ± 0.21 > 0.86 ± 0.08 > 0.33 ± 0.06, respectively.
It was observed in studies conducted with standard and various solvent extracts that in increasing concentrations, the OH radical removal effect increased as well. Study findings conducted with plant samples extracts are displayed in Figure 9.

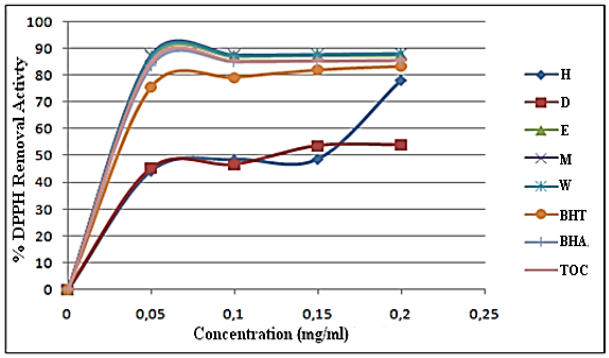


Figure 9. Percentage OH removal activities for ***Alchemilla persica*** solvent extracts and standard antioxidants of BHA, α-Tocopherol and Trolox
***** H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract TOC: α-tocopherol BHA: Butylated Hydroxy Anisole

3.2.9. Assessment of metal chelating activity

Fe^{+2} Ferrozine complex absorbance of the mixture was measured at 562 nm after the solutions prepared were kept in room temperature for 10 minutes. The percentage of metal-chelating activity for each sample was calculated and presented in Figure 10.

Metal chelating activities measured in the study conducted using ***A. persica*** solvent extracts in 0.05 mg/mL, 0.1 mg/mL and 0.15 mg/mL concentrations could be ordered as hexane extract > dichloromethane extract > methanol extract > ethyl acetate extract > water extract. Corresponding figures for 0.05 mg/mL concentration were 56.38 ± 0.44 > 47.58 ± 0.58 > 39.25± 0.11 > 37.03 ± 0.69 > 31.77 ± 1.21; for 0.1 mg/mL concentration, 59.06 ± 0.27 > 49.29 ± 1.72 > 41.74 ± 1.32 > 39.93 ± 0.83 > 34.37 ± 1.17; for 0.150 mg/mL concentration, 61.58 ± 0.65 > 54.88 ± 0.34 > 41.79 ± 1.69 > 41.14 ± 1.22 > 38.42 ± 2.30, respectively. Metal chelating activities in 0.2 mg/mL concentrations could be ordered as hexane extract > dichloromethane extract > ethyl acetate extract > methanol extract > water extract. Corresponding figures for 0.2 mg/mL concentration were 64.86 ± 2.23 > 56.88 ± 1.36 > 50.83 ± 0.97 > 41.95 ± 0.84 > 39.92 ± 0.14, respectively. In the study conducted using various standards, metal chelating activity could be ordered as Trolox > α-tocopherol > BHA > BHT. Corresponding figures for 0.05 mg/mL concentration were 33.84 ± 0.52 > 33.58 ± 0.21 > 33.28 ± 2.14 > 5.74 ± 0.93; for 0.1 mg/mL concentration, 34.95± 1.18 > 34.32 ± 1.15 > 33.35 ± 0.03 > 13.17 ± 0.05; for 0.15 mg/mL concentration, 38.14 ± 1.61 > 36.78 ± 0.74 > 34.56 ± 2.04 > 16.37 ± 1.41, respectively. Metal chelating activity in 0.2 mg/mL concentration could be ordered as α-tocopherol > Trolox >BHA > BHT. Corresponding figures for 0.2 mg/mL concentration were 43.67 ± 0.65 > 36.94 ± 0.85 > 36.91 ± 1.78 > 36.57 ± 2.08, respectively.
It was observed in studies conducted with various solvent extracts and standard substances that as the concentrations increased, metal chelating activity increased.

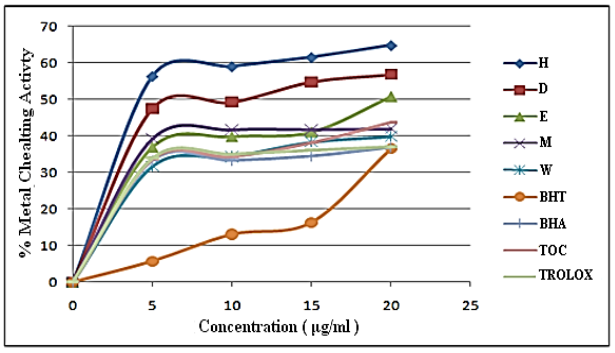


Figure 10. Metal chelating activities in different concentrations of ***A. persica*** solvent extracts and standard antioxidants
***** H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract TOC: α-tocopherol, BHA: Butylated Hydroxy Anisole, BHT: Butylated Hydroxy Toluene

3.2.10. Determination of total antioxidant capacity

The absorbance of the solution was measured at 695 nm wavelength. Antioxidant activity was calculated as ascorbic acid equivalent (AAE µg / g extract y = 0.0019x, R^2 = 0.9993).

Total antioxidant content found in ***A. persica*** solvent extracts could be ordered as ethyl acetate extract > methanol extract > water extract > dichloromethane extract > hexane extract.

The highest total antioxidant content in ***A. persica*** was found in ethyl acetate extract. Hexane extract displayed the lowest total antioxidant activity. Total antioxidant content findings for the extracts are presented in Figure 11 as a column chart.

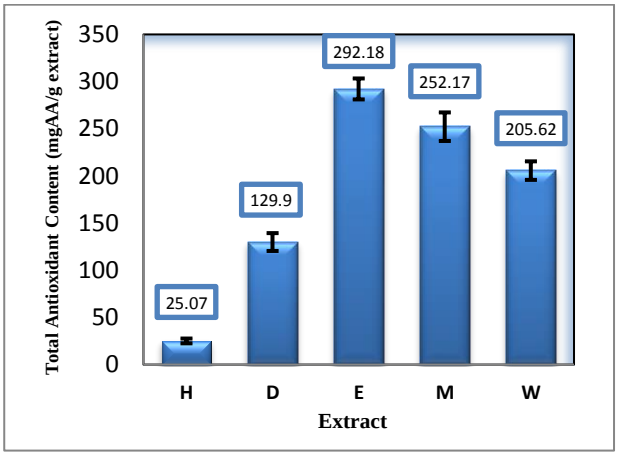


Figure 11. Total antioxidant amount in ***A. persica*** solvent extracts ***** H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract W: water extract

3.3. Antimicrobial Activity Findings for Plant Extracts

Antimicrobial activity finding for ***A. persica*** solvent extracts are displayed in Table 3.
While dichloromethane, ethyl acetate, methanol, and water extracts demonstrated effects on microorganisms, hexane extract was not effective on any microorganism.

Table 3. Antimicrobial activities of ***Alchemilla persica*** solvent extracts

Microorganisms	*Alchemilla persica*						
	H	D	E	M	W	Str.	DMSO
	Inhibition zone diameter (mm)						
Bacillus subtilis ATCC 6633	-	11±0.6	12±0.4	10±0.4	10±0.2	26±0.2	-
Staphylococcus aureus ATCC 29213	-	12±0.5	9±0.3	9±0.3	8±0.1	35±0.1	-
Escherichia coli ATCC 25922	-	12±0.4	12±0.5	11±0.3	11±0.1	39±0.8	-
Klebsiella pneumonia ATCC 13883	-	10±0.1	9±0.2	9±0.3	8±0.2	24±0.5	-
Candida albicans ATCC 98268	-	10±0.2	8±0.1	8±0.2	8±0.3	24±0.8	-
Saccharomyces cerevisiae ATCC 76521	-	8±0.2	10±0.1	8±0.2	8±0.1	21±0.7	-

***** H: hexane extract D: dichloromethane extract E: ethyl acetate extract M: methanol extract S: water extract DMSO: Dimethylsulfoxide Str.: Streptomycin
* The figures represent inhibition zone diameters. Each disc had a diameter of 6 mm, and 30 µl extract was saturated to each disc.
*Streptomycin: Positive control, DMSO: Negative control

3.4. Effects of various extracts of *Alchemilla persica* on PC-3 cell proliferation

Cell proliferation was assessed by WST-1 assay. We investigated the cytotoxic effects of methanol and water extracts of leaves of ***Alchemilla persica*** in the PC-3 cell line. Both extracts of ***Alchemilla persica*** decreased PC-3 cell proliferation significantly at concentrations from 250, 500, and 1000 µg/mL when compared to control cells ($p < 0.001$) (Fig. 12). All extracts showed the cytotoxic effect on PC-3 cells.

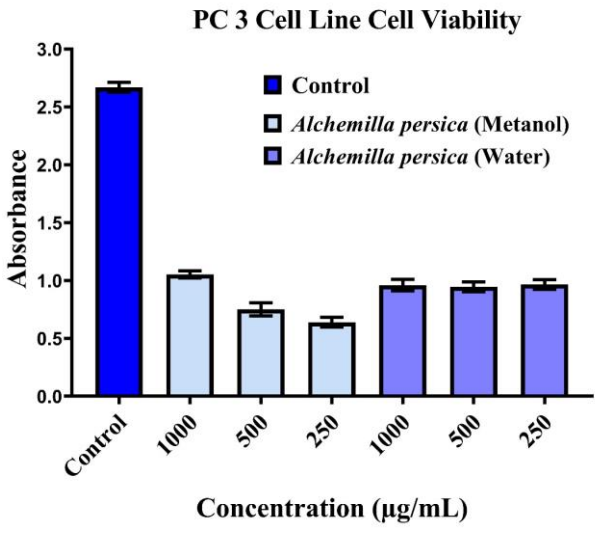


Figure 12. ***Alchemilla persica*** on PC-3 cell proliferation

4. RESULTS AND DISCUSSION

In this study, Hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol and water extracts of ***Alchemilla persica*** with increasing polarity were used, respectively. Different antioxidant activity measurement analyses were conducted to determine the antioxidant capacity accurately for the extracts prepared with the solvents, as mentioned above. However, according to Frankel and Meyer [34], to measure total antioxidant capacity on products in different times and to determine various oxidative conditions, it must be evaluated in the same molarity with the standard antioxidants and the reductive property and percentage removal IC_{50} values should be similarly compared to standard antioxidant compounds with the same molar concentration.

At the end of the extraction process, the highest amount of extract was obtained with an ethyl acetate solvent system.

Antioxidant results of the studies conducted with different extracts of ***Alchemilla persica*** were observed as follows: Total phenolic substance content indication studies were conducted using Folin-Ciocalteau method. It was found that the ***Alchemilla persica*** extract obtained with ethyl acetate solvent system contained higher total phenolic substance amounts than the extracts obtained using other solvent systems. Quantitatively, the figure was 67.63 ± 1.45 mg GAE/g extract for the ethyl acetate extract. Albayrak et al. [35], in a study conducted with different strains of *Helicrysum* (Asteraceae), reported that total phenolic substance amounts were between 66.74 ± 1.3 and 160.63±1.2 mg GAE/g [35]. Özkan et al. [36] reported a total phenolic extract equivalent to 108.33±0.88 mg in *Helicrysum chasmolycicum* methanolic extracts. It was determined that total phenolic acid content was more in hexane extracts than the extracts obtained with other solvent systems. It was calculated 0.7218 ± 0.33 mg SA/gr as sinapic acid equivalent [36].

There might be a relationship between phenolic substance and flavonoid amounts and antioxidant capacity. The relationship between the DPPH and ABTS methods built on radical capture basis and total phenolic substance and flavonoid amounts could be significant in specific vegetal sources. However, there could also be significant differences between antioxidant capacities and phenolic compounds and flavonoids. It was suggested that these relationships should be indicated when evaluating the antioxidant capacities of vegetal sources [37]. It was observed that β-carotene and lycopene content of solvent systems decreased with the increasing polarity. High amounts of β-carotene and lycopene content were indicated in ***Alchemilla persica*** dichloromethane extract at 1.74 mg/100 mL extract. 2.2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and 2.2-azinobis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulphonic acid) di-ammonium salt (ABTS +) removal properties are commonly used to determine the antioxidant activities of the plants [38]. Huang et al.[39] stated that the plants' antioxidant capacity is mostly related to their phenolic content. A study by Tsai et al. [40], scruti-

nized the total phenolic content and total antioxidant capacity of the vanilla plant and green tea extracts by utilizing DPPH radical scavenger capacity. Thus, the content as mentioned above and analyses were utilized in this study to assess antioxidant activity.

It was determined that the percentage of DPPH removal activity, especially in ethyl acetate and in extracts with higher polarity, was above those of standard antioxidants such as BHT, BHA, and TOC under the same concentrations. As the concentration increased, the DPPH radical removal effect increased as well. Hossain and Rahman [41] determined that the DPPH removal activity in pineapple, which is a tropical fruit, could be ordered as methanol, ethyl acetate, and water extract, respectively. The same study reported that the phenol content could be ordered as methanol, ethyl acetate, and water extract from the highest to the lowest. This study's findings also demonstrated that DPPH removal activity was the highest in the extract with the highest phenolic substance content. In other words, ethyl acetate extract was followed by methanol and water extracts. It was also determined that they demonstrated higher activities than standard antioxidants in this respect.

Comparing all the concentrations of all extracts except for hexane and dichloromethane with synthetic antioxidants showed that the reductive force of ***Alchemilla persica*** was higher than the latter.

Hexane extracts displayed the most hydrogen peroxide removal capacity in the study. Since the hexane fraction is highly nonpolar, it could be argued that this was due to the saturation of fats and fatty acids.

It was observed that the highest OH radical removal activity was seen in dichloromethane and ethyl acetate extracts. Especially dichloromethane displayed a high radical removal activity in all concentrations of all types.

The high metal chelating activity was observed in dichloromethane and hexane extracts as well. In the existence of functional groups in the compounds with lower polarity than ethyl acetate, and especially at the levels of dichloromethane polarity, it could connect to metals better. In all extract, higher activity was observed similarly when compared to standard antioxidants.

Cai et al. [42] examined total antioxidant activities in a study they evaluated the total phenolic compound content of 112 plants known to people with their medical properties and antioxidant capacities of these plants. They have found a significant linear relationship between total phenolic content and antioxidant capacities in sample extracts they tested. The findings of this study also evidenced the existence of this linear relationship. The highest total phenolic content was identified in ethyl acetate, followed by methanol and water. Percentage inhibition activity of the DPPH radical reflected the same order. The phospho-molybdenum method was used, especially in the indication of total antioxidant activity and the findings were parallel to those of Cai et al. [42].

Following the above studies, it was determined by the analysis of all concentrations that as the concentration increased, antioxidant effects of the samples increased as well.

Study findings demonstrated that the differences in phenolic content affected the antioxidant properties of the extracts. It was explicitly observed that high phenolic content or high radical capture activity did not always yield high antioxidant activity. Thus, it could be deduced that deciding on antioxidant activity using only one method was not proper. Therefore, it would be a better approach to use different methods when determining the antioxidant activity, which could simulate biochemical events in living systems, and the activity results obtained should be given based on each property. Support of these results with in-vivo and clinical studies is important in determining bioavailability as well [38].

There are no antimicrobial studies in the literature on *Alchemilla persica* extracts.

During the antimicrobial activity identification study, *Alchemilla persica* extracts effects on the Gram (+) and Gram (-) bacteria and yeasts. *Bacillus subtilis (*ATCC 6633) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) were used as gram (+) bacteria, and *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883) were used as gram (-) bacteria, while *Candida albicans* (ATCC 98268) *and Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 76521) were used as yeasts.

It was observed that all extracts used in the antimicrobial activity study demonstrated a lower activity when compared to streptomycin used as a positive control. DMSO, used as a negative control had no effects whatsoever. It was indicated that the antimicrobial activity of the hexane extract was lower than other solvent extracts.

Table 3 demonstrates the effects of ***Alchemilla persica*** dichloromethane, ethyl acetate, methanol, and water extracts on microorganisms. The findings presented in the table showed that hexane extract was not effective on any microorganism. DMSO used as a negative control on ***Alchemilla persica*** antimicrobial property's indication using the diffusion technique did not demonstrate any inhibition effect. In antimicrobial effect tests conducted with discs that contained 500 µg/disc extracts, which was obtained with ethyl acetate, the highest inhibition diameter was measured as 12 mm on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. This measurement was followed by *Saccharomyces cerevisiae* with approximately 10 mm, *Klebsiella pneumoniae* with a 9 mm inhibition diameter, *Staphylococcus aureus* with a 9 mm inhibition diameter, and *Candida albicans* with 8 mm inhibition diameter. In dichloromethane extract, the highest zone diameter was indicated with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. It reached a zone diameter of 11 mm in *Bacillus subtilis* and prevented its development. Zone diameters of 10 mm were measured in *Klebsiella pneumoniae* and *Candida albicans*. Zone diameter in *Saccharomyces cerevisiae* was measured as 8 mm. The effects of the methanol and water extracts were determined to be similar to each other.

The results of the study for ***Alchemilla persica*** are given in Figure 12. Hexane, Dichloromethane, and Ethyl Acetate extracts could not be resolved in the cell culture medium due to polarity differences. When dissolved in DMSO, the efficiency of the extracts on cell viability could not be determined. For this reason, water-soluble methanol and water extracts were used. When the results were evaluated, it was observed that at concentrations used as 250, 500, and 1000 µg/mL, it stopped cell proliferation and prevented cell growth in the PC-3 (prostate cancer cell line) cell line. However, no difference in concentrations was observed in the water extract. The higher antiproliferative effect was observed when the methanol extract was 250 µg/mL compared to the other two concentrations.

Biological activity studies have not been conducted with ***Alchemilla persica***. With this study, biological activity study was carried out for the first time, and the results were determined. Antioxidant, antimicrobial, and anti cytotoxic effects of ***Alchemilla persica*** have been found.

5. CONCLUSION

The properties of ***Alchemilla persica***, such as higher antioxidant activity than synthetic antioxidants (BHA; BHT; TROLOX), relative efficacy compared to standard antibacterial agent, and high activity for killing cancer cells in methanol and water extract, suggest that it can be used as a food additive. It has shown that an innovative, utterly organic food additive can be created with complementary studies to be done for this.

6. REFERENCES

[1] Kaya B, Menemen Y, Saltan FZ. Flavonoid compounds identified in Alchemilla L. species collected in the North-eastern Black Sea region of Turkey. Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med. 2012;9(3).

[2] Chen CC, Liu LK, Hsu JD, Huang HP, Yang MY, Wang CJ. Mulberry extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Food Chem. 2005;91(4):601-7.

[3] Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol Rev. 2000;52(4):673-751.

[4] Prior RL. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. Am J Clin Nutr. 2003;78(3):570s-8s.

[5] Saleem A, Husheem M, Harkonen P, Pihlaja K. Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of Terminalia chebula Retz. fruit. J Ethnopharmacol.,| 2002;81(3):327-36.

[6] Zhang YJ, Vareed SK, Nair MG. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. Life Sci. 2005;76(13):1465-72.

[7] Cieslik E, Greda A, Adamus W. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. Food Chem. 2006;94(1):135-42.

[8] Qian JY, Liu D, Huang AG. The efficiency of flavonoids in polar extracts of Lycium chinense Mill fruits as free radical scavenger. Food Chem. 2004;87(2):283-8.

[9] Sass-Kiss A, Kiss J, Milotay P, Kerek MM, Toth-Markus M. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. Food Res. Int. 2005;38(8-9):1023-9.

[10] Trappey A, Bawadi HA, Bansode RR, Losso JN. Anthocyanin profile of mayhaw (Cretaegus opaca). Food Chem. 2005;91(4):665-71.

[11] Merken HM, Beecher GR. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: A review. J Agr Food Chem. 2000;48(3):577-99.

[12] Demirel Z. Eğirdir Gölünden İzole Edilen Yeşil Mikroalg (Chlorophyta) Scenedesmus Protuberans Fris.'in Antimikrobiyal Ve Antioksidan Özelliğinin Araştırılması: Ege Üniversitesi; 2006.

[13] Arnao MB, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chem. 2001;73(2):239-44.

[14] Jiangning G, Xinchu W, Hou W, Qinghua L, Kaishun B. Antioxidants from a Chinese medicinal herb – Psoralea corylifolia L. Food Chem. 2005;91(2):287-92.

[15] Suja KP, Jayalekshmy A, Arumughan C. Antioxidant activity of sesame cake extract. Food Chem. 2005;91(2):213-9.

[16] Sokmen A, Sokmen M, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Unlu M, et al. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of Achillea biebersteini Afan. (Asteraceae). Phytother Res. 2004;18(6):451-6.

[17] Akalın E. Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diger Antimikrobiyal ilaçlar: Güneş Kitapevi; 1994.

[18] Austin DJ, Kristinsson KG, Anderson RM. The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and the frequency of resistance. P Natl Acad Sci., USA. 1999;96(3):1152-6.

[19] Guillemot D. Antibiotic use in humans and bacterial resistance. Curr Opin Microbiol. 1999;2(5):494-8.

[20] Ali-Shtayeh MS, Yaghmour RMR, Faidi YR, Salem K, Al-Nuri MA. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. J. Ethnopharmacol., 1998;60(3):265-71.

[21] Pacheco P, Schmeda-Hirschmann G, Sierra J, Potter CW, Jones BM, Moshref M. Antiviral activity of chilean medicinal plant extracts. Phytother. Res. 7(6): 415 - 418. 1993;7(6):415-8.

[22] Loy G, Cottiglia F, Garau D, Deidda D, Pompei R, Bonsignore L. Chemical composition and cytotoxic and antimicrobial activity of Calycotome villosa (Poiret) Link leaves. Farmaco. 2001;56(5-7):433-6.

[23] Zhao M, Ito Y, Tu P. Isolation of a novel flavanone 6-glucoside from the flowers of Carthamus tinctorium (Honghua) by high-speed counter-current chromatography . J Chromatogr A. 2005;1090(1-2):193-6.

[24] Gamez-Meza N, Noriega-Rodriguez JA, Medina-Juarez LA, Ortega-Garcia J, Cazarez-Casanova R, Angulo-Guerrero O. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. J Am Oil Chem Soc. 1999;76(12):1445-7.

[25] Barros L, Calhelha RC, Vaz JA, Ferreira ICFR, Baptista P, Estevinho LM. Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. Eur. Food Res. Technol. 2007;225(2):151-6.
[26] Koncic MZ, Kremer D, ruz J, Strnad M, Bisevac G, Kosalec I, et al. Antioxidant and antimicrobial properties of Moltkia petraea (Tratt.) Griseb. flower, leaf and stem infusions. Food Chem Toxicol. 2010;48(6):1537-42.
[27] Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, Okuda T. 2 New Flavonoids and Other Constituents in Licorice Root - Their Relative Astringency and Radical Scavenging Effects. Chem Pharm Bull. 1988;36(6):2090-7.
[28] Oyaizu M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jpn. J. Nutr. 1986;44:307-15.
[29] Ruch RJ, Cheng SJ, Klaunig JE. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis. 1989;10(6):1003-8.
[30] Özyurek M, Bektasoglu B, Guclu K, Apak R. Hydroxyl radical scavenging assay of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method using catalase for hydrogen peroxide degradation. Anal Chim Acta. 2008;616(2):196-206.
[31] Dinis TCP, Madeira, V. M. C. and Almeidam, L. M.,Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate, and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and peroxyl radicals scavengers. Arch Biochem Biophys 1994;315:161-9.
[32] Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. Anal Biochem. 1999;269(2):337-41.
[33] Berghe VA , Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. Meth Plant Biochem. 1991.;6:47-68.
[34] Frankel EN, Meyer AS. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. J Sci Food Agr. 2000;80(13):1925-41.
[35] Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, Budak U. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of Helichrysum species collected from eastern Anatolia, Turkey. Turk J Biol. 2010;34(4):463-73.
[36] Özkan G, Sağdıç O, Özçelik H. Some Turkish endemic herb extracts as antimicrobial and antioxidant agents. 4th International Congress on Environmental Micropaleontology, Microbiology and Meiobenthology. 13-18 September, İsparta, Turkey; 151-154, 2004.
[37] Eruçar S. Bazı bitkisel çayların fenolik madde profili ve Antioksidan aktivitelerin incelenmesi: İstanbul Teknik Üniversitesi; Fen Bilimleri Enstitüsü. 2006.
[38] Perez-Jimenez J, Saura-Calixto F. Grape products and cardiovascular disease risk factors. Nutr Res Rev. 2008;21(2):158-73.
[39] Huang ZL, Wang BW, Eaves DH, Shikany JM, Pace RD. Total phenolics and antioxidant capacity of indigenous vegetables in the southeast United States: Alabama Collaboration for Cardiovascular Equality Project. Int J Food Sci Nutr. 2009;60(2):100-8.
[40] Tsai TH, Chien YC, Lee CW, Tsai PJ. In vitro antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. Food Chem. 2008;110(4):859-64.
[41] Hossain MA, Rahman SMM. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. Food Res. Int. 2011;44(3):672-6.
[42] Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci. 2004;74(17):2157-84.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.761990 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Ursodeoksikolik Asit'in Farelerde Pentilentetrazol ile Oluşturulan Akut Epileptik Nöbetler Üzerine Etkisinin Araştırılması

Sebahattin KARABULUT[1*], Ahmet Şevki TAŞKIRAN[2]

[1] Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi ve Teknik Hizmetler Bölümü, Sivas, Türkiye
[2] Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Bölümü, Sivas, Türkiye
Sebahattin KARABULUT ORCID No: 0000-0002-3261-4125
Ahmet Şevki TAŞKIRAN ORCID No: 0000-0002-5810-8415

**Sorumlu yazar: sbkarabulut@cumhuriyet.edu.tr*

(Alınış: 01.07.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Ursodeoksikolik asit,
Pentilentetrazol,
Nöbet,
Oksidatif stres

Öz: Bu çalışmanın amacı, Ursodeksikolik asit (UDKA) ön tedavisinin pentilentetrazol (PTZ) ile indüklenen akut epilepsi fare modelinde nöbet davranışına ve hipokampal total oksidan status (TOS) ve kaspaz-3 düzeylerine etkisini araştırmaktır. Çalışmada BALB-c türü 24 hayvan rastgele 4 gruba ayrıldı: Kontrol grubu, PTZ; PTZ ile nöbet indüklenen grup, UDKA-100; 5 gün boyunca UDKA 100 mg kg^{-1} verilen ve PTZ uygulanan grup, UDKA-200; 5 gün boyunca UDKA 200 mg kg^{-1} verilen ve PTZ uygulanan grup. UDKA ön tedavisinin nöbet davranışı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmadı. UDKA-200 grubunda daha belirgin olmak üzere, UDKA ön tedavisi hipokampal TOS düzeyini anlamlı olarak azalttı. Benzer şekilde, hipokampal kaspaz-3 düzeyi UDKA alan gruplarda daha düşük bulundu. Sonuç olarak, UDKA antioksidatif ve antiapoptotik özellikleriyle epilepsi tedavisi için faydalı bir terapötik ajan olabilir.

Investigation of the Effect of Ursodeoxycholic Acid on Pentylenetetrazole-induced Acute Epileptic Seizures in Mice

Keywords
Ursodeoxycholic acid,
Pentylenetetrazole,
Seizure,
Oxidative stress

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of the pretreatment of UDKA on seizure behavior, hippocampal total oxidant status (TOS), and caspase-3 expressions in the PTZ-induced acute epilepsy mouse model. This experimental study was performed on 24 male BALB-c mice randomly divided into 4 groups: Control group, PTZ; PTZ injected, UDKA-100; mice pre-treated with UDKA 100 mg kg^{-1} for 5 days and PTZ injected, UDKA-200; mice pre-treated with UDKA 200 mg kg^{-1} for 5 days and PTZ injected. No significant effect of UDKA pretreatment on seizure behavior was found. We found out the hippocampal TOS level was significantly decreased upon UDKA treatment, but this effect was more pronounced in the UDKA-200 group. Similarly, the expression of hippocampal caspase-3 was lower in the pretreatment of UDKA. In conclusion, our results suggest UDKA administration may be a useful therapeutic drug for the treatment of epilepsy with its antioxidative and antiapoptotic properties.

1. GİRİŞ

Epilepsi dünyada 50 milyondan fazla insanı etkileyen, spontane gelişen nöbetlerle karakterize en yaygın ve ciddi nörolojik hastalıklardan biridir [1]. Mevcut antiepileptik ilaçlar hastaların yaklaşık olarak üçte birinde etkisiz kalır, ayrıca bunlar yalnızca nöbetleri baskılamaya yönelik olup hastalık sürecini etkilemezler. Dahası, epilepsinin etyopatogenezinin altında yatan temel hücresel ve moleküler mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Beyindeki uyarıcı (eksitatör) ve baskılayıcı (inhibitör) nöral aktiviteler arasındaki dengenin, eksitasyon lehine kayması sonucu nöbetlerin ortaya çıktığı bilinmektedir. Oksidatif stres, artmış hücresel reaktif oksijen türleri ile karakterize edilen oldukça zararlı bir metabolik süreçtir [2]. Bu olay sonunda oksidanlar ve antioksidan moleküller arasında bir dengesizlik meydana gelir. Dolayısıyla oksidatif stresi azaltabilen antioksidatif yaklaşımlar, başta epilepsi olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yeni bir seçenek olarak yer almaktadır. Bunun yanında, epileptik nöbetler apoptotik mekanizmayı harekete geçirerek nöronlarda ölüme yol açar. Kaspazlar, apoptozun aracı moleküllerinden biri olarak hizmet ederler. Kaspaz-3, nöbetlerin neden

olduğu nöronal ölümlerde en çok çalışılan apoptotik düzenleyici moleküller arasında yer almaktadır. Nöbetlerden sonra kaspaz-3 aktivitesi, spektrin ve kaspaz ile aktive edilmiş DNaz inhibitörü gibi yapısal ve fonksiyonel proteinlerin parçalamasıyla ilişkilidir [3].

Safra asitlerinin ana işlevi lipitlerin emülsifikasyonunu, emilimini ve sindirimini sağlamaktır. Bunun yanında, steroid bir hormon olarak safra asitlerinin hepatik glikoz metabolizması, hepatositlerin sağ kalımı gibi çeşitli metabolik süreçleri modüle eden ikincil bir rolü de vardır [4]. Primer safra asitleri, kolik asit (CA) ve kenodeoksikolik asit (CDCA), karaciğerde kolesterolden sentezlenerek safra kesesinde depolanır ve gıda alımını takiben ince bağırsağa salgılanır. İkincil safra asitleri ise bağırsak mikrobiyotası tarafından primer safra asitlerinin modifikasyonlarıyla üretilir. Örneğin Deoksikolik asit (DCA), CA'dan oluşturulurken, Litokolik asit (LCA) ve Ursodeoksikolik asit (UDCA) ise CDCA'dan meydana getirilir [5]. Safra asitlerinin yaklaşık % 95'i ileumda yeniden emilir ve % 5'i dışkıyla atılır. Enterositler tarafından emilen safra asitleri portal vene salınır ve geri dönüşüm için karaciğere yönlendirilir. Sadece küçük bir kısmı (% 10) enterohepatik dolaşımdan uzaklaşarak sistemik dolaşıma ulaşır [4]. Dolaşıma sızan bu safra asitleri, mililitrede nanogram (ng ml^{-1}) konsantrasyon aralığında hem plazmada ve hem de beyin omurilik sıvısında (BOS) tespit edilmiştir [6].

UDCA, CDCA'nın hidroksil gruplarının bağırsak bakterilerinin hidroksisteroid dehidrojenazları tarafından epimerizasyonu ile oluşur. Hidrofilik bir safra asidi olan UDKA, kolesterol kaynaklı safra taşları oluşumuyla ilişkili kolestatik sendromların çeşitli formlarının tedavisinde ilk tercih edilen ajan olarak öne çıkmaktadır [7]. Bu molekülün hücre koruyucu etkileri kısmen apoptozu azaltma yeteneğine atfedilmiş ve antiapoptotik etkileri insan hepatositleri ve rat karaciğerinde gösterilmiştir [8]. Bunun yanında, çok sayıda çalışma UDCA'nın Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıkların hayvan modellerinde nöroprotektif etkileri olduğunu göstermiştir [9,10]. UDKA'nın nörolojik hastalıklar üzerindeki olası koruyucu etkisi klinik araştırmaların da konusu olmuş ve Amyotrofik lateral skleroz (ALS) hastalarında oral UDKA kullanılması, hastalığın fonksiyonel olarak gerilemesinde yararlı etkilere yol açmıştır [11].

Bu çalışmada amacımız, farelerde PTZ ile oluşturulan deneysel akut epilepsi modelinde iki farklı dozdaki UDKA ön tedavisinin nöbet oluşumu ile hipokampustaki oksidatif ve apoptotik belirteçlerin düzeyleri üzerine etkisini araştırmaktır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmada, strese maruz kalmamış ve standartlara uygun kafeslerde bakımı yapılan 24 adet, 4-5 aylık, 30-33 gr ağırlığındaki BALB-c albino fare kullanıldı. Fareler 22±1 °C oda sıcaklığında, 12 saatlik aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı, sesten yalıtılmış odada ve % 55±6 oranda nemli ortamda tutuldu. Farelerin yem ve su ile beslenmelerinde herhangi bir kısıtlama yapılmadı. Deneyler 9:00-16:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığının onayı ile yapıldı (Karar No: 65202830-050.04.04-386).

2.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

PTZ ve UDKA (URSOFALK, 250 mg 5ml-1 çözelti) üretici firmadan temin edildi. Kimyasallar serum fizyolojik içinde çözülerek farelere intraperitonal (i.p.) olarak uygulandı.

2.3. Deneysel Protokol

Çalışmada, hayvanlar her grupta 6 fare olarak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı:
1. Kontrol; 5 gün boyunca serum fizyolojik uygulanan grup,
2. PTZ; 5. gün PTZ (60 mg kg^{-1}) uygulanan grup,
3. UDKA-200; 5 gün boyunca 100 mg kg^{-1} UDKA uygulanan grup,
4. UDKA-400; 5 gün boyunca 200 mg kg^{-1} UDKA uygulanan grup.

UDKA-100 ve UDKA-200 grubundaki farelere 5 gün boyunca yukarıda belirtilen dozlarda UDKA verildikten sonra, 5. gün PTZ uygulanarak nöbet oluşturuldu. PTZ grubundaki farelere ise 5. gün PTZ uygulanarak nöbet indüklendi. PTZ ile epileptik nöbet oluşturulan farelerin nöbet davranışları kaydedildi.

Nöbet indüklemek için, farelere 60 mg kg^{-1} tek doz PTZ i.p. olarak enjekte edildi. Her enjeksiyondan sonra, fareler 30 dakika boyunca izleneceği ayrı bir pleksiglas kafese konularak ilk miyoklonik sarsıntı (FMJ) latansı (sn) ve Racine Konvülsiyon Skalası (RCS) değerleri kaydedildi. RCS skoru belirlemede kullanılan kriterler şu şekildedir [12]:
0 = konvülsiyon yok;
1 = bıyıkların seğirmesi;
2 = daha belirgin seğirme ile motor hareketlerde duraksama;
3 = generalize motor sarsıntı ile birlikte motor duraksama;
4 = bilateral ön ekstremitelerde tonik-klonik nöbet;
5 = düzelme refleksinin kaybı ile tonik-klonik nöbet;
6 = ölümcül nöbet.
Tüm hayvanlar 5. günün sonunda öldürülerek, aseptik cerrahi koşullarda hipokampusları çıkarıldı ve ileri biyokimyasal analizler için uygun koşullarda saklandı.

2.4. Biyokimyasal Analizler

Hipokampal doku örnekleri soğuk Phosphate-Buffered Saline (PBS) çözeltisi (pH 7.4) içinde homojenize edildi ve 12000 g'de 10 dakika boyunca 4 °C'de santrifüje edildi. Daha sonra üst faz TOS ve kaspaz-3 düzeylerinin ölçülmesinde kullanıldı. TOS düzeylerinin belirlenmesinde Erel [13] tarafından geliştirilen deney kiti (Rel Assay Diagnostics® Mega Tıp Ltd., Gaziantep,

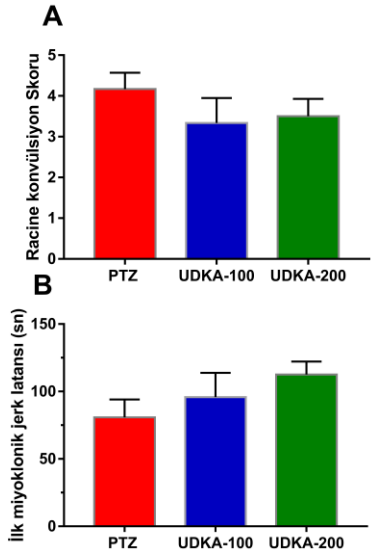
Türkiye) ve kazpaz-3 düzeylerinin belirlenmesinde ise ELISA ticari kiti (YL Biont, Shanghai, Çin) kullanıldı.

2.5. İstatistiksel Analiz

Veriler "ortalamanın standart hatası (SEM)" olarak sunuldu. İstatistiksel analiz için SPSS istatistik programı (IBM SPSS Statistical Software Version 22.0 [IBM, Armonk, NY, ABD]) kullanıldı. Verilerin gruplar arası karşılaştırılması "tek yönlü varyans analizi ile (One way ANOVA)" gerçekleştirildi. İstatistiksel anlamlılık $p<0.05$ olarak tanımlandı.

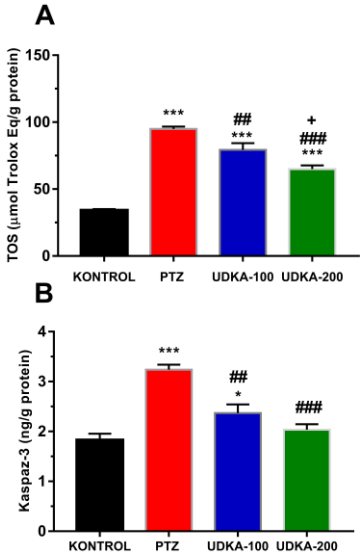
3. BULGULAR

UDKA ön tedavisinin PTZ ile akut nöbet oluşumu davranışına etkisi Şekil 1'de gösterilmiştir. UDKA ön tedavisi, RCS açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılığa yol açmamıştır ($p>0.05$). Aynı şekilde, FMJ latansları UDKA ön tedavisi alan hayvanlarda PTZ grubuna kıyasla yüksek olsa da, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 1. UDKA ön tedavisinin PTZ ile indüklenen nöbet davranışına etkisi. Veriler ortalama ± SEM olarak verilmiştir. (n=6)

UDKA ön tedavisinin hipokampal TOS ve kaspaz-3 düzeylerine etkisi Şekil 2'de ifade edilmiştir. TOS düzeyindeki artış, PTZ ile nöbet indüklenen tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Bununla birlikte, PTZ uygulamasının yol açtığı bu artış, UDKA-200 grubunda daha belirgin olmak üzere ($p<0.01$) UDKA ön tedavisi alan hayvanlarda sınırlı olmuştur. Ayrıca UDKA-200 grubunda elde edilen TOS düzeylerinin, UDKA-100 grubundaki hayvanlarınkine göre daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Hipokampal kaspaz-3 düzeyi PTZ ve UDKA-100 gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.05$). UDKA-100 ve UDKA-200 gruplarında hipokampal kaspaz-3 düzeyleri PTZ grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük elde edilmiştir (sırasıyla $p<0.01$ ve $p<0.001$).



Şekil 2. . UDKA ön tedavisinin PTZ ile oluşturulan nöbet sonrası hipokampal TOS (A) ve kaspaz-3 (B) düzeylerine etkisi. Veriler ortalama ± SEM olarak verilmiştir. (n=6). *p<0.05, ***p<0.001, Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; #p<0.05, ###p<0.001 PTZ grubuyla karşılaştırıldığında; +p<0.05, UDKA-100 grubuyla karşılaştırıldığında.

4. SONUÇ

Oksidatif stres ve bununla ilişkili apoptotik süreçler, hipereksitabl beyin dokusuyla yakından ilişkilidir ve son yıllarda epilepsi gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde antioksidatif ve antiapoptotik yaklaşımlar ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada, antiapoptotik ve nöroprotektif özellikleri olduğu gösterilmiş olan UDKA'nın ön tedavisinin, PTZ ile indüklenen nöbet davranışına ve nöbet sonrası hipokampal TOS ve kaspaz-3 düzeylerine etkisi araştırıldı.

Reaktif oksijen türleri (ROS) normal hücresel metabolizma sırasında üretilen zararlı bileşikler olup, endojen antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilirler [14]. Bununla birlikte, aşırı ROS üretimi ya da azalmış antioksidan aktivite oksidatif strese yol açar. Beyin hem yüksek aerobik metabolizmaya, hem de daha yoğun bir perfüzyona sahip olması nedeniyle aşırı ROS üretimiyle karşı karşıyadır. Dahası, ironik olarak bu yüksek ROS üretimine karşılık zayıf bir antioksidan kapasiteyle karakterizedir ve bu durum beyni oksidatif strese karşı daha savunmasız yapar [15]. Nöbet aktivitesi, nöronlarda voltaj-kapılı iyon kanalları aracılığıyla hücre içi Ca^{2+} düzeyini artırarak ROS üretiminin tetikleyen bir takım hücresel olayları başlatmaktadır [16]. Patsoukis ve ark., tek doz PTZ ile indüklenen nöbet sonrası hipokampusta oksidatif stresin arttığını göstermişlerdir [17]. Bu sonuçlarla uyumlu olarak, çalışmamızda PTZ ile nöbete maruz bırakılan hayvanların hipokampuslarında TOS düzeylerinin yüksek olduğunu gözlemledik. Bununla birlikte, 100 mg kg^{-1} uygulanan dozda daha belirgin olmak üzere UDKA ön tedavisi oksidatif stresteki bu artışı sınırlamıştır. Bununla uyumlu olarak, UDKA'nın ROS üretimini inhibe ettiği ve böylece apoptozun mitokondriyal yolağını modüle ettiği gösterilmiştir [18]. Epileptik

nöbetle birlikte artan ROS üretimi, nöral hücre zarı, mitokondri, DNA gibi yapılarda hasara yol açarak pro-apoptotik bir protein olan kaspaz-3'ün aktivasyonuyla apoptozu başlatabilmektedir [19]. Çalışmamızda, PTZ ile nöbet oluşumunun hipokampusta kaspaz-3 düzeyini artırdığını gösterdik. Önceki çalışmalar, epilepsinin farklı hayvan modellerinde nöbet sonrası beyinde kaspaz-3 gibi apoptozla ilişkili proteinlerin düzeylerinde artış olduğunu rapor etmiştir [20,21]. Çalışmamızda düşük dozda UDKA ön tedavisinin (100 mg kg^{-1}) kaspaz-3 düzeyindeki bu artışı sınırladığını, 200 mg kg^{-1} dozda uygulanan UDKA ön tedavisinin ise bu artışı engellediğini gözlemledik. Önceki çalışmalarda, UDKA'nın rat hepatositlerinde nükleer steroid reseptörler aracılığıyla nükleusa transloke olduğu ve burada E2F-1/p53/Bax yolağını modüle ederek apoptozu önlediği rapor edilmiştir [22,23]. Bunun yanında, Abdelkader ve ark., Parkinson hastalığının bir hayvan modelinde UDKA'nın mitokondriyal disfonksiyonu iyileştirdiğini ve kaspaz 8, 9 ve 3'ün aktivitelerini azalttığını göstermişlerdir [10]. Bütün bu sonuçlar, UDKA'nın antioksidan ve antiapoptotik özellikleriyle nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için bir potansiyel olabileceğine işaret etmektedir.

Öte yandan çalışmamızda, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, UDKA ön tedavisinin PTZ'nin yol açtığı nöbet davranışı üzerine kısmen iyileştirici bir etkisi olduğunu gözlemledik. UDKA'nın epileptogenez üzerine etkisinin araştırıldığı tek çalışmada, Naderi ve ark. kronik bir epilepsi modeli olarak PTZ ile kindling yapılan sıçanlarda UDKA (50 mg kg^{-1}) tedavisinin epilepsi oluşum sürecini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir [24]. Aynı çalışmada, 3 kez uygulanan UDKA enjeksiyonu epileptogenez üzerine herhangi bir etki göstermezken, 15 kez uygulanan UDKA tedavisi bu süreci baskılamıştır. Daha yüksek bir dozda UDKA ön tedavisi uygulamamıza rağmen aynı sonucun ortaya çıkmaması, akut ve kronik epilepsi modellerinde farklı hücresel ve moleküler yolakların yer alabilmesiyle açıklanabilir. Ayrıca daha fazla hayvanların bulunduğu gruplarla çalışmak, istatistiksel olarak daha gerçekçi ve anlamlı sonuçlar verebilir.

Son yıllarda epilepsinin de aralarında bulunduğu nörodejeneratif hastalıkların etyopatogenezinde oksidatif, inflamatuar ve apoptotik süreçlerin yer aldığının belirlenmesi, araştırmacıların dikkatini adı geçen süreçleri modüle ederek bu tür hastalıkları tedavi edebilme potansiyeline sahip yeni ajanlara yöneltmektedir. Antioksidatif ve antiapoptotik özellikleriyle UDKA, bu anlamda umut vaat eden bir aday olarak gözükmektedir. UDKA'nın epilepsi tedavisindeki rolünün pekiştirilmesi için, elektriksel ve kimyasal diğer epileptik nöbet hayvan modellerindeki etkisinin araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Fisher RS, van Emde BW, BlumeW, Elger C, Genton P, Lee P, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). Epilepsia 2005; 46:470-72.

[2] Jain S, Webster TJ, Sharma A, Basu B. Intracellular reactive oxidative stress, cell proliferation and apoptosis of Schwann cells on carbon nanofibrous substrates. Biomaterials 2013;34(21):4891-901.

[3] Henshall DC, Simon RP. Epilepsy and apoptosis pathways. J Cereb Blood Flow Metab. 2005;25(12):1557-572.

[4] Monte MJ, Marin JJG, Antelo A, Vazquez-Tato J. Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology. World J Gastroenterol. 2009;15:804-16.

[5] Daruich A, Picard E, Boatright JH, Behar-Cohen F. Review: The bile acids urso- and tauroursodeoxycholic acid as neuroprotective therapies in retinal disease. Mol Vis. 2019; 25:610-24.

[6] Reinicke M, Schröter J, Müller-Klieser D, Helmschrodt C, Ceglarek U. Free oxysterols and bile acids including conjugates - Simultaneous quantification in human plasma and cerebrospinal fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Anal Chim Acta. 2018;1037:245-55.

[7] European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. J Hepatol. 2009;51:237-67.

[8] Amaral JD, Viana RJS, Ramalho RM, Steer CJ, Rodrigues CMP. Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid. J Lipid Res. 2009;50:1721-34.

[9] Bell SM, Barnes K, Clemmens H, et al. Ursodeoxycholic Acid Improves Mitochondrial Function and Redistributes Drp1 in Fibroblasts from Patients with Either Sporadic or Familial Alzheimer's Disease. J Mol Biol. 2018;430(21):3942-3953.

[10] Abdelkader NF, Safar MM, Salem HA. Ursodeoxycholic Acid Ameliorates Apoptotic Cascade in the Rotenone Model of Parkinson's Disease: Modulation of Mitochondrial Perturbations. Mol Neurobiol. 2016;53:810-17.

[11] Min J-H, Hong Y-H, Sung J-J, Kim S-M, Lee JB, Lee K-W. Oral solubilized ursodeoxycholic acid therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a randomized cross-over trial. J Korean Med Sci. 2012;27:200-06.

[12] Racine, RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. Electroencephalogr Neurophysiol. 1972;32:281-94.

[13] Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem. 2005;38(12):1103-1111.

[14] Beit-Yannai E, Kohen R, Horowitz M, Trembovler V, Shohami E. Changes of biological reducing activity in rat brain following closed head injury: A cyclic voltammetry study in normal and heat-acclimated rats. J Cereb Blood Flow & Metab. 1997;17:273-79.

[15] Naziroglu M. Molecular mechanisms of vitamin E on intracellular signaling pathways in brain. In:

Goth L, editor. Reactive oxygen species and diseases. Kerala, India: Research Signpost Press; 2007. p. 239-56.

[16] Shin EJ, Jeong JH, Chung YH, Kim WK, Ko KH et al. Role of oxidative stress in epileptic seizures. Neurochem Int. 2011;59(2):122-137.

[17] Patsoukis N, Zervoudakis G, Panagopoulos NT, Georgiou CD, Angelatou F, Matsokis NA. Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. Neurosci Lett. 2004;357:83-86.

[18] Rodrigues CM, Fan G, Ma X, Kren BT, Steer CJ: A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. J Clin Invest. 1998;101:2790-99.

[19] Méndez-Armenta M, Nava-Ruíz C, Juárez-Rebollar D, Rodríguez-Martínez E, Yescas Gómez P. Oxidative stress associated with neuronal apoptosis in experimental models of epilepsy. Oxid Med Cell Long. 2014;2014:12.

[20] Ali AE, Mahdy HM, Elsherbiny DM, Azab SS. Rifampicin ameliorates lithium-pilocarpine-induced seizures, consequent hippocampal damage and memory deficit in rats: Impact on oxidative, inflammatory and apoptotic machineries. Biochem Pharmacol. 2018;156:431-43.

[21] Faherty CJ, Xanthoudakis S, Smeyne RJ. Caspase-3–dependent neuronal death in the hippocampus following kainic acid treatment. Mol Brain Res. 1999;70(1):159-63.

[22] Solá S, Amaral JD, Castro RE, Ramalho RM, Borralho PM, Kren BT, et al. Nuclear translocation of UDCA by the glucocorticoid receptor is required to reduce TGF-beta1-induced apoptosis in rat hepatocytes. Hepatology 2005;42:925-34.

[23] Solá S, Castro RE, Kren BT, Steer CJ, Rodrigues CMP. Modulation of nuclear steroid receptors by ursodeoxycholic acid inhibits TGF-beta1-induced E2F-1/p53-mediated apoptosis of rat hepatocytes. Biochem. 2004;43:8429-38.

[24] Naderi M, Jand A, Jand Y, Rahjoo T, Palizvan MR. Effect of ursodeoxycholic acid on pentylenetetrazole kindling and kindling induced memory impairment in rat. J Babol Univ Medical Sci. 2018;20(1):50-56.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 175-184, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 175-184, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.733958 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Generalized Jacobi Elliptic Function Method for Traveling Wave Solutions of Some Nonlinear Schrödinger's Equations

İbrahim Enam İNAN[1], Ünal İÇ[2*]

[1]Firat University, Faculty of Education, Mathematics and Science Education, 23119 Elazig, Turkey
[2]Firat University, Faculty of Education, Mathematics and Science Education, 23119 Elazig, Turkey
İbrahim Enam İNAN ORCID No: 0000-0003-3681-0497
Ünal İÇ ORCID No: 0000-0003-4367-7559

[*]*Corresponding author: unalic@firat.edu.tr*

(Alınış: 07.05.2020, Kabul: 17.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Keywords
Generalized Jacobi elliptic function method, (3+1)-dimensional nonlinear Schrödinger's equation, Coupled nonlinear Schrödinger's equation, Traveling wave solutions

Abstract: In this study, we find the traveling wave solutions of these equations by applying (3+1)-dimensional nonlinear Schrödinger's equation and coupled nonlinear Schrödinger's equation to Generalized Jacobi elliptic function method. We have expressed these solutions both as Jacobi elliptical solutions and trigonometric and hyperbolic solutions. We present two and three dimensional graphics of some solutions we have found. We also state some studies on these equations.

Bazı Doğrusal Olmayan Schrödinger Denklemlerinin Hareketli Dalga Çözümleri İçin Genelleştirilmiş Jacobi Eliptik Fonksiyon Yöntemi

Anahtar Kelimeler
Genelleştirilmiş Jacobi eliptik fonksiyon yöntemi, (3 + 1) boyutlu doğrusal olmayan Schrödinger denklemi, Doğrusal olmayan Schrödinger denklem çifti, Hareketli dalga çözümleri

Öz: Bu çalışmada (3 + 1) boyutlu doğrusal olmayan Schrödinger denklemine ve doğrusal olmayan Schrödinger denklem çiftine Genelleştirilmiş Jacobi eliptik fonksiyon yöntemini uygulayarak bu denklemlerin hareketli dalga çözümlerini bulduk. Bu çözümleri hem Jacobi eliptik çözümler hem de trigonometrik ve hiperbolik çözümler olarak ifade ettik. Bulduğumuz bazı çözümlerin iki ve üç boyutlu grafiklerini sunduk. Ayrıca bu denklemler üzerine yapılan bazı çalışmaları ifade ettik.

1. INTRODUCTION

Nonlinear partial differential equations (NPDEs) have an important place in applied mathematics and physics. Many methods have been developed to solve these equations. In most of these methods, nonlinear partial differential equations are converted to ordinary differential equations. Various solutions for the considered PDE are found with the help of these ordinary differential equations. In this study, we obtained traveling wave solutions of the (3+1) dimensional nonlinear Schrödinger equation and coupled nonlinear Schrödinger equation using the generalized Jacobi elliptical function method [1]. Many authors applied Jacobi elliptical function method and similar methods on some nonlinear partial differential equations and obtained various solutions of these equations. Some of these applications are given in [2-29]. Some studies on (3+1) dimensional nonlinear Schrödinger equation are as follow: Najafi et al. [2] reached exact solutions of (3+1)-dimensional nonlinear Schrödinger's equation by means of using sine-cosine method. Bulut et al. [3] reached traveling wave solutions of (3+1)-dimensional nonlinear Schrödinger's equation using the Sine-Gordon expansion method. Arbabi et al. [4] reached exact solutions of (3+1)-dimensional nonlinear Schrödinger's equation using the $\left(\frac{G'}{G}\right)$ – expansion method. Bhrawy et al. [5] obtained exact solutions of (3+1)-dimensional nonlinear Schrödinger's equation using the Extended Jacobi elliptic function method. On the other hand, Esen et al. [6] reached the dark, bright, mixed dark-bright, singular and mixed singular optical solutions to the space-time fractional (1+1)-dimensional coupled nonlinear Schrödinger's equation using the Sinh-Gordon equation expansion method. Wazwaz [7] investigated optical bright and dark soliton solution of coupled nonlinear Schrödinger (CNLS) equations in the anomalous and dispersive regimes using the Variational Iteration Method (VIM).

2. ANALYSIS OF GENERALIZED JACOBI ELLIPTIC FUNCTION METHOD

First we will present a simple description of the generalized Jacobi elliptic function method, and then we will give a generalized Jacobi elliptic function method [1]. To this end, one can consider general form of a PDE with four variables

$$Q(u, u_t, u_x, u_{xx}, \dots) = 0 \tag{1}$$

and transform Eq. (1) with $u(x,t) = u(\xi)$, $\xi = x + vt$, where v is a constant. After transformation, we get a nonlinear ODE for $u(\xi)$,

$$Q'(u', u'', u''', \dots) = 0. \tag{2}$$

The solution of the equation (2) we are looking for is expressed in the form

$$u(\xi) = a_0 + \sum_{i=1}^{n} [a_i F^i(\xi) + b_i F^{-i}(\xi)], \tag{3}$$

where $\xi = x + vt$ and n positive integer that can be determined by balancing the highest order derivate and with the highest nonlinear terms in equation. Substituting solution (3) into Eq. (2) yields a set of algebraic equations for F^i and F^{-i} then, all coefficients of F^i and F^{-i} have to vanish. After this seperated algebraic equation, we could found coefficients a_0, a_i, b_i, v and ξ.

In this paper, we will consider solving the (3+1)-dimensional nonlinear Schrödinger's equation and coupled nonlinear Schrödinger's equation by using the generalized Jacobi elliptic function method which is introduced by Huai-Tang et al. [1]. The fundamental of their method is to take full advantage of the elliptic equation and use its solutions F. The desired elliptic equation is given as

$$F'^2 = A + BF^2 + CF^4, \tag{4}$$

where $F' = \frac{dF}{d\xi}$ and A, B, C are constants. The solutions of Eq. (4) are given in the paper [1].

3. THE (3+1)-DIMENSIONAL NONLINEAR SCHRODINGER'S EQUATION

We consider the (3+1)-dimensional nonlinear Schrödinger's equation

$$iq_t + q_{xx} + q_{yy} + q_{zz} + \gamma|q|^2 q = 0, \tag{5}$$

Let's use following conversion for the equation (5),

$$q(x, y, z, t) = e^{i\theta} u(\xi) \tag{6}$$

where $\xi = x + y + z + vt$, $\theta = \beta x + \alpha y + lz + rt$.

We obtain following ordinary differential equation when Substituting (6) into (5),

$$3u'' - (\beta^2 + \alpha^2 + l^2 + r)u + \gamma u^3 = 0. \tag{7}$$

where $v = -2(\beta + \alpha + l)$. In Eq. (7), balancing u'' with u^3 gives $n = 1$. Then, the solution (3) becomes as follows,

$$u = a_0 + a_1 F + b_1 F^{-1}, \tag{8}$$

when (8) and (4) are written into (7) equation, and when F^i and F^{-i} coefficients from the same degree are equalized to zero, then following linear algebraic equation system is obtained for $a_0, a_1, b_1, \beta, \alpha, l$ and r.

$$3\gamma a_0 a_1^2 = 0,\ 6Ca_1 + \gamma a_1^3 = 0,\ 6Ab_1 + \gamma b_1^3 = 0,\ 3\gamma a_0 b_1^2 = 0,$$

$$-ra_0 - s^2 a_0 - \alpha^2 a_0 - \beta^2 a_0 + \gamma a_0^3 + 6\gamma a_0 a_1 b_1 = 0,$$

$$3Ba_1 - ra_1 - s^2 a_1 - \alpha^2 a_1 - \beta^2 a_1 + 3\gamma a_0^2 a_1 + 3\gamma a_1^2 b_1 = 0,$$

$$3Bb_1 - rb_1 - s^2 b_1 - \alpha^2 b_1 - \beta^2 b_1 + 3\gamma a_0^2 b_1 + 3\gamma a_1 b_1^2 = 0,$$

If the algebraic equation system above is solved with the aid of Mathematica, a_0, a_1, b_1 and r are found as follow

$$a_0 = 0, \gamma \neq 0, a_1 = \frac{i\sqrt{6}\sqrt{C}}{\sqrt{\gamma}}, b_1 = \frac{i\sqrt{6}\sqrt{A}}{\sqrt{\gamma}}, r = 3B - s^2 - \alpha^2 - \beta^2 + 3\gamma a_1 b_1. \quad (9)$$

Substituting (9) into (8) and using solutions of (4), also considering conversion (6), the solutions of equation (5) are found as follow,

$i)\ A = 1,\ B = -(1+m^2),\ C = m^2.$

$$q_1(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{6}\sqrt{m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ sn(\xi,m) + \frac{i\sqrt{6}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{1}{sn(\xi,m)}\right), \quad (10)$$

$$q_2(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{6}\sqrt{m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ cd(\xi,m) + \frac{i\sqrt{6}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{1}{cd(\xi,m)}\right), \quad (11)$$

where $\xi = x + y + z - 2(\beta + \alpha + l)t,\ \theta = \beta x + \alpha y + lz + \left(-3 - 3m^2 - 18\sqrt{m^2} - l^2 - \alpha^2 - \beta^2\right)t.$

$ii)\ A = 1 - m^2,\ B = 2m^2 - 1,\ C = -m^2.$

$$q_3(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{6}\sqrt{-m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ cn(\xi,m) + \frac{i\sqrt{6}\sqrt{1-m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ i\ \frac{1}{cn(\xi,m)}\right), \quad (12)$$

where $\xi = x + y + z - 2(\beta + \alpha + l)t,\ \theta = \beta x + \alpha y + lz + \left(-3 + 6m^2 - 18\sqrt{-m^2}\sqrt{1-m^2} - l^2 - \alpha^2 - \beta^2\right)t.$

$iii)\ A = m^2 - 1,\ B = 2 - m^2,\ C = -1.$

$$q_4(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(-\frac{\sqrt{6}}{\sqrt{\gamma}}\ dn(\xi,m) + \frac{i\sqrt{6}\sqrt{m^2-1}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{1}{dn(\xi,m)}\right), \quad (13)$$

where $\xi = x + y + z - 2(\beta + \alpha + l)t,\ \theta = \beta x + \alpha y + lz + \left(6 - 3m^2 - 18i\sqrt{-1+m^2} - l^2 - \alpha^2 - \beta^2\right)t.$

$iv)\ A = -m^2(1-m^2),\ B = 2m^2 - 1,\ C = 1.$

$$q_5(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{6}}{\sqrt{\gamma}}\ ds(\xi,m) + \frac{i\sqrt{6}\sqrt{-m^2(1-m^2)}}{\sqrt{\gamma}}\ i\ \frac{1}{ds(\xi,m)}\right), \quad (14)$$

where $\xi = x + y + z - 2(\beta + \alpha + l)t,\ \theta = \beta x + \alpha y + lz + \left(-3 + 6m^2 - 18\sqrt{-m^2(1-m^2)} - l^2 - \alpha^2 - \beta^2\right)t.$

$v)\ A = 1 - m^2,\ B = 2 - m^2,\ C = 1.$

$$q_6(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{6}}{\sqrt{\gamma}}\ cs(\xi,m) + \frac{i\sqrt{6}\sqrt{1-m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{1}{cs(\xi,m)}\right), \quad (15)$$

where $\xi = x + y + z - 2(\beta + \alpha + l)t,\ \theta = \beta x + \alpha y + lz + \left(6 - 3m^2 - 18\sqrt{1-m^2} - l^2 - \alpha^2 - \beta^2\right)t.$

$vi)\ A = \frac{1}{4},\ B = \frac{m^2-2}{2},\ C = \frac{m^2}{4}.$

$$q_7(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{sn(\xi,m)}{1 \pm dn(\xi,m)} + \frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{1 \pm dn(\xi,m)}{sn(\xi,m)}\right), \quad (16)$$

where $\xi = x + y + z - 2(\beta + \alpha + l)t,\ \theta = \beta x + \alpha y + lz + \frac{1}{2}\left(-6 + 3m^2 - 9\sqrt{m^2} - 2l^2 - 2\alpha^2 - 2\beta^2\right)t.$

$vii)\ A = \frac{m^2}{4},\ B = \frac{m^2-2}{2},\ C = \frac{m^2}{4}.$

$$q_8(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ (sn(\xi,m) \pm icn(\xi,m)) + \frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{1}{sn(\xi,m) \pm icn(\xi,m)}\right), \quad (17)$$

$$q_9(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{dn(\xi,m)}{i\sqrt{1-m^2}\,sn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)} + \frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{m^2}}{\sqrt{\gamma}}\ i\ \frac{i\sqrt{1-m^2}\,sn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)}{dn(\xi,m)}\right), \quad (18)$$

where $\xi = x + y + z - 2(\beta + \alpha + l)t,\ \theta = \beta x + \alpha y + lz + (-3 - 3m^2 - l^2 - \alpha^2 - \beta^2)t.$

$viii)\ A = \frac{1}{4},\ B = \frac{1-2m^2}{2},\ C = \frac{1}{4}.$

$$q_{10}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{dn(\xi,m)}{mcn(\xi,m) \pm i\sqrt{1-m^2}} + \frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{mcn(\xi,m) \pm i\sqrt{1-m^2}}{dn(\xi,m)}\right), \quad (19)$$

$$q_{11}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\ (msn(\xi,m) \pm idn(\xi,m)) + \frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{1}{msn(\xi,m) \pm idn(\xi,m)}\right), \quad (20)$$

$$q_{12}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{sn(\xi,m)}{1 \pm cn(\xi,m)} + \frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\ \frac{1 \pm cn(\xi,m)}{sn(\xi,m)}\right) \quad (21)$$

$$q_{13}(x,y,z,t)=e^{i\theta}\times\left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\frac{cn(\xi,m)}{\sqrt{1-m^2}\,sn(\xi,m)\pm dn(\xi,m)}+\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\frac{\sqrt{1-m^2}\,sn(\xi,m)\pm dn(\xi,m)}{cn(\xi,m)}\right), \quad (22)$$

where $\xi=x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t,\ \theta=\beta x+\alpha y+lz+(-3-3m^2-l^2-\alpha^2-\beta^2)t.$

$ix)\ A=\frac{m^2-1}{4},\ B=\frac{m^2+1}{2},\ C=\frac{m^2-1}{4}.$

$$q_{14}(x,y,z,t)=e^{i\theta}\times\left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{-1+m^2}}{\sqrt{\gamma}}\frac{dn(\xi,m)}{1\pm msn(\xi,m)}+\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{-1+m^2}}{\sqrt{\gamma}}\frac{1\pm msn(\xi,m)}{dn(\xi,m)}\right), \quad (23)$$

where $\xi=x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t,\ \theta=\beta x+\alpha y+lz+(6-3m^2-l^2-\alpha^2-\beta^2)t.$

$x)\ A=\frac{1-m^2}{4},\ B=\frac{m^2+1}{2},\ C=\frac{1-m^2}{4}.$

$$q_{15}(x,y,z,t)=e^{i\theta}\times\left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{1-m^2}}{\sqrt{\gamma}}\frac{cn(\xi,m)}{1\pm sn(\xi,m)}+\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{1-m^2}}{\sqrt{\gamma}}\frac{1\pm sn(\xi,m)}{cn(\xi,m)}\right), \quad (24)$$

where $\xi=x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t,\ \theta=\beta x+\alpha y+lz+(-3+6m^2-l^2-\alpha^2-\beta^2)t.$

$xi)\ A=-\frac{(1-m^2)^2}{4},\ B=\frac{m^2+1}{2},\ C=-\frac{1}{4}.$

$$q_{16}(x,y,z,t)=e^{i\theta}\times\left(-\frac{\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\left(mcn(\xi,m)\pm dn(\xi,m)\right)+\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{-(-1+m^2)^2}}{\sqrt{\gamma}}\frac{1}{mcn(\xi,m)\pm dn(\xi,m)}\right), \quad (25)$$

where $\xi=x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t,\ \theta=\beta x+\alpha y+lz+\frac{1}{2}\left(3+3m^2-9i\sqrt{-(-1+m^2)^2}-2l^2-2\alpha^2-2\beta^2\right)t.$

$xii)\ A=\frac{1}{4},\ B=\frac{m^2+1}{2},\ C=\frac{(1-m^2)^2}{4}.$

$$q_{17}(x,y,z,t)=e^{i\theta}\times\left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{(-1+m^2)^2}}{\sqrt{\gamma}}\frac{sn(\xi,m)}{dn(\xi,m)\pm cn(\xi,m)}+\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\frac{dn(\xi,m)\pm cn(\xi,m)}{sn(\xi,m)}\right), \quad (26)$$

where $\xi=x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t,\ \theta=\beta x+\alpha y+lz+\frac{1}{2}\left(3+3m^2-9\sqrt{(1-m^2)^2}-2l^2-2\alpha^2-2\beta^2\right)t.$

$xiii)\ A=\frac{1}{4},\ B=\frac{m^2-2}{2},\ C=\frac{m^4}{4}.$

$$q_{18}(x,y,z,t)=e^{i\theta}\times\left(\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}\sqrt{m^4}}{\sqrt{\gamma}}\frac{cn(\xi,m)}{\sqrt{1-m^2}\pm dn(\xi,m)}+\frac{i\sqrt{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\gamma}}\frac{\sqrt{1-m^2}\pm dn(\xi,m)}{cn(\xi,m)}\right), \quad (27)$$

where $\xi=x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t,\ \theta=\beta x+\alpha y+lz+\frac{1}{2}\left(-6+3m^2-9\sqrt{m^4}-2l^2-2\alpha^2-2\beta^2\right)t.$

3.1. Remark

Here $sn(\xi,m), cn(\xi,m), dn(\xi,m)$ are Jacobi elliptic functions and m denotes the modulus of the Jacobi elliptic functions. If $m\to 1$ then $sn\xi\to tanh\xi$, $cn\xi\to sech\xi$, $dn\xi\to sech\xi$ and If $m\to 0$ then $sn\xi\to sin\xi$, $cn\xi\to cos\xi$, $dn\xi\to 1$.

When $m\to 0$ ve $m\to 1$ are taken in the solutions (10)-(27) trigonometric and hyperbolic of (41) become as follow

$$q_{19}(x,y,z,t)=\sqrt{\frac{6}{\gamma}}ie^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-3-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)}\times cosec(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t), \quad (28)$$

$$q_{20}(x,y,z,t)=\sqrt{\frac{6}{\gamma}}ie^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-3-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)}\times sec(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t), \quad (29)$$

$$q_{21}(x,y,z,t)=\sqrt{\frac{6}{\gamma}}ie^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-12-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)}\times cosec(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t), \times sec[x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t], \quad (30)$$

$$q_{22}(x,y,z,t)=\sqrt{\frac{6}{\gamma}}ie^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-3-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)}\times\frac{cot\left(\frac{x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t}{2}\right)}{1+cos(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t)}, \quad (31)$$

$$q_{23}(x,y,z,t)=\sqrt{\frac{6}{\gamma}}ie^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-24-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)}\times cosh\left(2(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t)\right)\times Cosech(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t)\times sech(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t), \quad (32)$$

$$q_{24}(x,y,z,t)=\sqrt{-\frac{6}{\gamma}}ie^{i(\beta x+\alpha y+lz+(3-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)}\times sech(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t), \quad (33)$$

$$q_{25}(x,y,z,t)=\sqrt{\frac{6}{\gamma}}ie^{i(\beta x+\alpha y+lz+(3-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)}\times cosech(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t), \quad (34)$$

$$q_{26}(x,y,z,t) = \sqrt{\frac{6}{\gamma}}\, i e^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-6-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)} \times \frac{coth\left(\frac{x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t}{2}\right)}{1+sech(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t)}, \quad (35)$$

$$q_{27}(x,y,z,t) = \sqrt{\frac{6}{\gamma}}\, i e^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-6-l^2-\alpha^2-\beta^2)t)} \times tanh(x+y+z-2(\beta+\alpha+l)t), \quad (36)$$

$$q_{28}(x,y,z,t) = \sqrt{\frac{6}{\gamma}}\, i e^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-6-l^2-\alpha^2-\beta^2)t),} \quad (37)$$

$$q_{29}(x,y,z,t) = \sqrt{-\frac{6}{\gamma}}\, i\, e^{i(\beta x+\alpha y+lz+(6-l^2-\alpha^2-\beta^2)t),} \quad (38)$$

$$q_{30}(x,y,z,t) = 2\sqrt{\frac{6}{\gamma}}\, i e^{i(\beta x+\alpha y+lz+(-24-l^2-\alpha^2-\beta^2)t),} \quad (39)$$

$$q_{31}(x,y,z,t) = 2\sqrt{-\frac{6}{\gamma}}\, i e^{i(\beta x+\alpha y+lz+(24-l^2-\alpha^2-\beta^2)t).} \quad (40)$$

a) **b)**

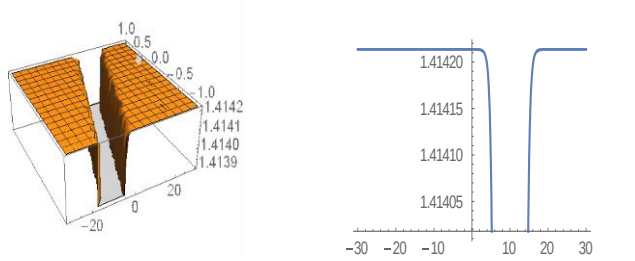


Figure 1. a) The 3D surfaces of |36| by considering the values $l = 2, \alpha = 1, \beta = 2, \gamma = 3, y = -2, z = 2, -30 < x < 30, -1 < t < 1$. **b)** The 2D surfaces of |36| by considering the values $l = 2, \alpha = 1, \beta = 2, \gamma = 3, y = -2, z = 2, t = 1, -30 < x < 30$.

a) **b)**

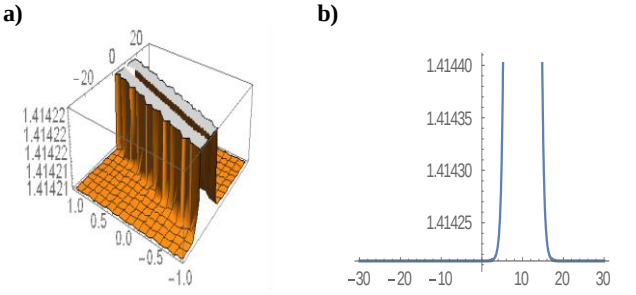


Figure 2. a) The 3D surfaces of |35| by considering the values $l = 2, \alpha = 1, \beta = 2, \gamma = 3, y = -2, z = 2, -30 < x < 30, -1 < t < 1$. **b)** The 2D surfaces of |35|by considering the values $l = 2, \alpha = 1, \beta = 2, \gamma = 3, y = -2, z = 2, t = 1, -30 < x < 30$.

4. THE COUPLED NONLINEAR SCHRODINGER'S EQUATION

As a second example, we consider the coupled nonlinear Schrödinger's equation

$$\begin{cases} ip_t + p_{xx} + 2p|p|^2 + 2p|q|^2 = 0, \\ iq_t + q_{xx} + 2q|p|^2 + 2q|q|^2 = 0. \end{cases} \quad (41)$$

Let's use following conversions for (41),

$$\begin{cases} p(x,t) = e^{i\theta}u(\xi), \\ q(x,t) = e^{i\theta}v(\xi), \end{cases} \quad (42)$$

where $\xi = x + vt\,, \theta = \beta x + rt.$

We obtain following ordinary differential equation when conversions (42) are written in substitution for (41)

$$\begin{cases} u'' - (\beta^2 + r)u + 2u^3 + 2uv^2 = 0, \\ v'' - (\beta^2 + r)v + 2vu^2 + 2v^3 = 0, \end{cases} \quad (43)$$

where $v = -2(\beta + \alpha + l)$. In Eq. (43), balancing u'' with uv^2 and v'' with vu^2 gives $n_1 = 1$, $n_2 = 1$. Then, the solution (3) becomes as follow,

$$\begin{cases} u = a_0 + a_1 F + b_1 F^{-1}, \\ v = c_0 + c_1 F + d_1 F^{-1}. \end{cases} \quad (44)$$

When (44) and (4) are written into (43) equation, and when F^i and F^{-i} coefficients from the same degree are equalized to zero, then following linear algebraic equation system is obtained for a_0, a_1, b_1, β and r,

$$-ra_0 - \beta^2 a_0 + 2a_0^3 + 12a_0a_1b_1 + 2a_0c_0^2 + 4b_1c_0c_1 + 4a_1c_0d_1 + 4a_0c_1d_1 = 0,$$

$$6a_0a_1^2 + 4a_1c_0c_1 + 2a_0c_1^2 = 0,\ 2Ca_1 + 2a_1^3 + 2a_1c_1^2 = 0,$$

$$Ba_1 - ra_1 - \beta^2 a_1 + 6a_0^2a_1 + 6a_1^2b_1 + 2a_1c_0^2 + 4a_0c_0c_1 + 2b_1c_1^2 + 4a_1c_1d_1 = 0,$$

$$6a_0b_1^2 + 4b_1c_0d_1 + 2a_0d_1^2 = 0,$$

$$Bb_1 - rb_1 - \beta^2 b_1 + 6a_0^2b_1 + 6a_1b_1^2 + 2b_1c_0^2 + 4a_0c_0d_1 + 4b_1c_1d_1 + 2a_1d_1^2 = 0,$$

$$2Ab_1 + 2b_1^3 + 2b_1d_1^2 = 0,$$

$$-rc_0 - \beta^2 c_0 + 2a_0^2c_0 + 4a_1b_1c_0 + 2c_0^3 + 4a_0b_1c_1 + 4a_0a_1d_1 + 12c_0c_1d_1 = 0,$$

$$2a_1^2c_0 + 4a_0a_1c_1 + 6c_0c_1^2 = 0,\ 2Cc_1 + 2a_1^2c_1 + 2c_1^3 = 0,$$

$$4a_0a_1c_0 + Bc_1 - rc_1 - \beta^2 c_1 + 2a_0^2c_1 + 4a_1b_1c_1 + 6c_0^2c_1 + 2a_1^2d_1 + 6c_1^2d_1 = 0,$$

$$2b_1^2c_0 + 4a_0b_1d_1 + 6c_0d_1^2 = 0,$$

$$4a_0b_1c_0 + 2b_1^2c_1 + Bd_1 - rd_1 - \beta^2 d_1 + 2a_0^2d_1 + 4a_1b_1d_1 + 6c_0^2d_1 + 6c_1d_1^2 = 0,$$

$$2Ad_1 + 2b_1^2d_1 + 2d_1^3 = 0.$$

If the algebraic equation system above is solved with the aid of Mathematica, $a_0, a_1, b_1, c_0, c_1, d_1, \beta$ and r are found as follow,

$a_0 = 0,$

$C \neq 0,\ b_1 = \frac{\sqrt{A}a_1}{\sqrt{C}},\ c_0 = 0,\ c_1 = \sqrt{-C - a_1^2},\ a_1 \neq$

$0,\ d_1 = \frac{\sqrt{A}\sqrt{-C-a_1^2}}{\sqrt{C}},\ r = B - \beta^2 - 6\sqrt{A}\sqrt{C},\ A \neq 0.$ (45)

Substituting (45) into (44) and using solutions of Eq. (4), also considering conversion (42), the solutions of equation (41) are found as follow,

$i)\ A = 1,\ B = -(1+m^2),\ C = m^2.$

$$p_1(x,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1\, sn(\xi,m) + \frac{a_1}{\sqrt{m^2}} \frac{1}{sn(\xi,m)}\right), \quad (46)$$

$$q_1(x,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-m^2-a_1^2}\, sn(\xi,m) + \frac{\sqrt{-m^2-a_1^2}}{\sqrt{m^2}} \frac{1}{sn(\xi,m)}\right), \quad (47)$$

$$p_2(x,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1\, cd(\xi,m) + \frac{a_1}{\sqrt{m^2}} \frac{1}{cd(\xi,m)}\right), \quad (48)$$

$$q_2(x,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-m^2-a_1^2}\, cd(\xi,m) + \frac{\sqrt{-m^2-a_1^2}}{\sqrt{m^2}} \frac{1}{cd(\xi,m)}\right), \quad (49)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + (-(1+m^2) - \beta^2 - 6m)t$.

$ii)\ A = 1-m^2,\ B = 2m^2-1,\ C = -m^2.$

$$p_3(x,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1\, cn(\xi,m) + \frac{\sqrt{1-m^2}a_1}{\sqrt{-m^2}} \frac{1}{cn(\xi,m)}\right), \quad (50)$$

$$q_3(x,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{m^2-a_1^2}\, cn(\xi,m) + \frac{\sqrt{1-m^2}\sqrt{m^2-a_1^2}}{\sqrt{-m^2}} \frac{1}{cn(\xi,m)}\right), \quad (51)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + \left((2m^2-1) - \beta^2 - 6\sqrt{(1-m^2)}\sqrt{-m^2}\right)t.$

$iii)\ A = m^2-1,\ B = 2-m^2,\ C = -1.$

$$p_4(x,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1\, dn(\xi,m) - i\sqrt{-1+m^2}a_1 \frac{1}{dn(\xi,m)}\right), \quad (52)$$

$$q_4(x,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{1-a_1^2}\, dn(\xi,m) - i\sqrt{-1+m^2}\sqrt{1-a_1^2} \frac{1}{dn(\xi,m)}\right), \quad (53)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + \left(2 - m^2 - 6i\sqrt{-1+m^2} - \beta^2\right)t.$

$iv)\ A = -m^2(1-m^2),\ B = 2m^2-1,\ C = 1.$

$$p_5(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1\, ds(\xi,m) + \sqrt{-m^2(1-m^2)}a_1 \frac{1}{ds(\xi,m)}\right), \quad (54)$$

$$q_5(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-1-a_1^2}ds(\xi,m) + \sqrt{-m^2(1-m^2)}\sqrt{-1-a_1^2} \frac{1}{ds(\xi,m)}\right), \quad (55)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + \left(-1 + 2m^2 - 6\sqrt{m^2(-1+m^2)} - \beta^2\right)t.$

$v)\ A = 1-m^2,\ B = 2-m^2,\ C = 1.$

$$p_6(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1\, cs(\xi,m) + \sqrt{1-m^2}a_1 \frac{1}{cs(\xi,m)}\right), \quad (56)$$

$$q_6(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-1-a_1^2}\, cs(\xi,m) + \sqrt{1-m^2}\sqrt{-1-a_1^2} \frac{1}{cs(\xi,m)}\right), \quad (57)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + \left(2 - m^2 - 6\sqrt{1-m^2} - \beta^2\right)t.$

$vi)\ A = \frac{1}{4},\ B = \frac{m^2-2}{2},\ C = \frac{m^2}{4}.$

$$p_7(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \frac{sn(\xi,m)}{1 \pm dn(\xi,m)} + \frac{a_1}{\sqrt{m^2}} \frac{1 \pm dn(\xi,m)}{sn(\xi,m)}\right), \quad (58)$$

$$q_7(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{m^2}{4}-a_1^2} \frac{sn(\xi,m)}{1 \pm dn(\xi,m)} + \frac{\sqrt{-\frac{m^2}{4}-a_1^2}}{\sqrt{m^2}} \frac{1 \pm dn(\xi,m)}{sn(\xi,m)}\right), \quad (59)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + \frac{1}{2}\left(-2 + m^2 - 3\sqrt{m^2} - 2\beta^2\right)t.$

$vii)\ A = \frac{m^2}{4},\ B = \frac{m^2-2}{2},\ C = \frac{m^2}{4}.$

$$p_8(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1\, (sn(\xi,m) \pm icn(\xi,m)\,) + a_1 \frac{1}{sn(\xi,m) \pm icn(\xi,m)}\right), \quad (60)$$

$$q_8(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{m^2}{4}-a_1^2}\, (sn(\xi,m) \pm icn(\xi,m)\,) + \sqrt{-\frac{m^2}{4}-a_1^2} \frac{1}{sn(\xi,m) \pm icn(\xi,m)}\right), \quad (61)$$

$$p_9(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \frac{dn(\xi,m)}{i\sqrt{1-m^2}\, sn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)} + a_1 \frac{i\sqrt{1-m^2}\, sn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)}{dn(\xi,m)} \right), \quad (62)$$

$$q_9(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{m^2}{4} - a_1^2}\, \frac{dn(\xi,m)}{i\sqrt{1-m^2}\, sn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)} + \sqrt{-\frac{m^2}{4} - a_1^2}\, \frac{i\sqrt{1-m^2}\, sn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)}{dn(\xi,m)} \right), \quad (63)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + (-1 - m^2 - \beta^2)t.$

viii) $A = \frac{1}{4},\ B = \frac{1-2m^2}{2},\ C = \frac{1}{4}.$

$$p_{10}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \frac{dn(\xi,m)}{mcn(\xi,m) \pm i\sqrt{1-m^2}} + a_1 \frac{mcn(\xi,m) \pm i\sqrt{1-m^2}}{dn(\xi,m)} \right), \quad (64)$$

$$q_{10}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{1}{4} - a_1^2}\, \frac{dn(\xi,m)}{mcn(\xi,m) \pm i\sqrt{1-m^2}} + \sqrt{-\frac{1}{4} - a_1^2}\, \frac{mcn(\xi,m) \pm i\sqrt{1-m^2}}{dn(\xi,m)} \right), \quad (65)$$

$$p_{11}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 (msn(\xi,m) \pm idn(\xi,m)) + a_1 \frac{1}{msn(\xi,m) \pm idn(\xi,m)} \right), \quad (66)$$

$$q_{11}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{1}{4} - a_1^2} (msn(\xi,m) \pm idn(\xi,m)) + \sqrt{-\frac{1}{4}C - a_1^2}\, \frac{1}{msn(\xi,m) \pm idn(\xi,m)} \right), \quad (67)$$

$$p_{12}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \frac{sn(\xi,m)}{1 \pm cn(\xi,m)} + a_1 \frac{1 \pm cn(\xi,m)}{sn(\xi,m)} \right), \quad (68)$$

$$q_{12}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{1}{4} - a_1^2}\, \frac{sn(\xi,m)}{1 \pm cn(\xi,m)} + \sqrt{-\frac{1}{4} - a_1^2}\, \frac{1 \pm cn(\xi,m)}{sn(\xi,m)} \right), \quad (69)$$

$$p_{13}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \frac{cn(\xi,m)}{\sqrt{1-m^2}\, sn(\xi,m) \pm dn(\xi,m)} + a_1 \frac{\sqrt{1-m^2}\, sn(\xi,m) \pm dn(\xi,m)}{cn(\xi,m)} \right), \quad (70)$$

$$q_{13}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{1}{4} - a_1^2}\, \frac{cn(\xi,m)}{\sqrt{1-m^2}\, sn(\xi,m) \pm dn(\xi,m)} + \sqrt{-\frac{1}{4} - a_1^2}\, \frac{\sqrt{1-m^2}\, sn(\xi,m) \pm dn(\xi,m)}{cn(\xi,m)} \right), \quad (71)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + (-1 - m^2 - \beta^2)t.$

ix) $A = \frac{m^2-1}{4},\ B = \frac{m^2+1}{2},\ C = \frac{m^2-1}{4}.$

$$p_{14}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \frac{dn(\xi,m)}{1 \pm msn(\xi,m)} + a_1 \frac{1 \pm msn(\xi,m)}{dn(\xi,m)} \right), \quad (72)$$

$$q_{14}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{m^2-1}{4} - a_1^2}\, \frac{dn(\xi,m)}{1 \pm msn(\xi,m)} + \sqrt{-\frac{m^2-1}{4} - a_1^2}\, \frac{1 \pm msn(\xi,m)}{dn(\xi,m)} \right), \quad (73)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + (2 - m^2 - \beta^2)t.$

x) $A = \frac{1-m^2}{4},\ B = \frac{m^2+1}{2},\ C = \frac{1-m^2}{4}.$

$$p_{15}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \frac{cn(\xi,m)}{1 \pm sn(\xi,m)} + a_1 \frac{1 \pm sn(\xi,m)}{cn(\xi,m)} \right), \quad (74)$$

$$q_{15}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{1-m^2}{4} - a_1^2}\, \frac{cn(\xi,m)}{1 \pm sn(\xi,m)} + \sqrt{-\frac{1-m^2}{4} - a_1^2}\, \frac{1 \pm sn(\xi,m)}{cn(\xi,m)} \right), \quad (75)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + (-1 + 2m^2 - \beta^2)t.$

xi) $A = -\frac{(1-m^2)^2}{4},\ B = \frac{m^2+1}{2},\ C = -\frac{1}{4}.$

$$p_{16}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \left(mcn(\xi,m) \pm dn(\xi,m)\right) - i\sqrt{-(-1+m^2)^2}\, a_1 \frac{1}{mcn(\xi,m) \pm dn(\xi,m)} \right), \quad (76)$$

$$q_{16}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{\frac{1}{4} - a_1^2} \left(mcn(\xi,m) \pm dn(\xi,m)\right) - \frac{1}{2} i\sqrt{-(-1+m^2)^2}\sqrt{1-4a_1^2}\, \frac{1}{mcn(\xi,m) \pm dn(\xi,m)} \right), \quad (77)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + \left(\frac{1}{2}\left(1 + m^2 - 3i\sqrt{-(-1+m^2)^2} - 2\beta^2\right)\right)t.$

xii) $A = \frac{1}{4},\ B = \frac{m^2+1}{2},\ C = \frac{(1-m^2)^2}{4}.$

$$p_{17}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(a_1 \frac{sn(\xi,m)}{dn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)} + \frac{a_1}{\sqrt{(-1+m^2)^2}}\, \frac{dn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)}{sn(\xi,m)} \right), \quad (78)$$

$$q_{17}(x,y,z,t) = e^{i\theta} \times \left(\sqrt{-\frac{(1-m^2)^2}{4} - a_1^2}\, \frac{sn(\xi,m)}{dn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)} + \frac{\sqrt{-(-1+m^2)^2 - 4a_1^2}}{2\sqrt{(-1+m^2)^2}}\, \frac{dn(\xi,m) \pm cn(\xi,m)}{sn(\xi,m)} \right), \quad (79)$$

where $\xi = x - 2\beta t,\ \theta = \beta x + \left(\frac{1}{2}\left(1 + m^2 - 3\sqrt{(-1+m^2)^2} - 2\beta^2\right)\right)t.$

$xiii)\ A=\frac{1}{4},\ B=\frac{m^2-2}{2},\ C=\frac{m^4}{4}.$

$$p_{18}(x,y,z,t)=e^{i\theta}\times\left(a_1\ \frac{cn(\xi,m)}{\sqrt{1-m^2}\pm dn(\xi,m)}+\frac{a_1}{\sqrt{m^4}}\ \frac{\sqrt{1-m^2}\pm dn(\xi,m)}{cn(\xi,m)}\ \right),\quad(80)$$

$$q_{18}(x,y,z,t)=e^{i\theta}\times\left(\sqrt{-\frac{m^4}{4}-a_1^2}\ \frac{cn(\xi,m)}{\sqrt{1-m^2}\pm dn(\xi,m)}+\frac{\sqrt{-\frac{m^4}{4}-a_1^2}}{\sqrt{m^4}}\ \frac{\sqrt{1-m^2}\pm dn(\xi,m)}{cn(\xi,m)}\ \right),\quad(81)$$

where $\xi=x-2\beta t,\ \theta=\beta x+\left(\frac{1}{2}\left(-2+m^2-3\sqrt{m^4-2\beta^2}\right)\right)t.$

4.1. Remark

Here $sn(\xi,m),cn(\xi,m),dn(\xi,m)$ are Jacobi elliptic functions and m denotes the modulus of the Jacobi elliptic functions. If $m\to 1$ then $sn\xi\to tanh\xi$, $cn\xi\to sech\xi$, $dn\xi\to sech\xi$ and If $m\to 0$ then $sn\xi\to sin\xi, cn\xi\to cos\xi, dn\xi\to 1$.

When $m\to 0$ ve $m\to 1$ are taken in the solutions (46)-(81) trigonometric and hyperbolic solutions of equation (41) become as follow

$$p_{19}(x,t)=a_1e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times sin(x-2\beta t)\quad(82)$$

$$q_{19}(x,t)=a_1ie^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times\ sin(x-2\beta t),\quad(83)$$

$$p_{20}(x,t)=a_1e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times cos(x-2\beta t),\quad(84)$$

$$q_{20}(x,t)=a_1i\ e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times\ cos(x-2\beta t),\quad(85)$$

$$p_{21}(x,t)=a_1e^{i(\beta x+(-8-\beta^2)t)}\times cosh[2(x-2\beta t)]cosech(x-2\beta t)sech(x-2\beta t),\quad(86)$$

$$q_{21}(x,t)=\sqrt{-1-a_1^2}e^{i(\beta x+(-8-\beta^2)t)}\times cosh[2(x-2\beta t)]cosech(x-2\beta t)sech(x-2\beta t),\quad(87)$$

$$p_{22}(x,t)=2a_1\times e^{i(\beta x+(-8-\beta^2)t)},\quad(88)$$

$$q_{22}(x,t)=2\sqrt{-1-a_1^2}\times e^{i(\beta x+(-8-\beta^2)t)},\quad(89)$$

$$p_{23}(x,t)=a_1e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)}\times sech(x-2\beta t),\quad(90)$$

$$q_{23}(x,t)=\sqrt{1-a_1^2}\,e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)}\times sech(x-2\beta t),\quad(91)$$

$$p_{24}(x,t)=2a_1\times e^{i(\beta x+(8-\beta^2)t)},\quad(92)$$

$$q_{24}(x,t)=2\sqrt{1-a_1^2}\times e^{i(\beta x+(8-\beta^2)t)},\quad(93)$$

$$p_{25}(x,t)=a_1e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)}\times cosec(x-2\beta t),\quad(94)$$

$$q_{25}(x,t)=\sqrt{-1-a_1^2}e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)}\times cosec(x-2\beta t),\quad(95)$$

$$p_{26}(x,t)=a_1e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)}\times cosech(x-2\beta t),\quad(96)$$

$$q_{26}(x,t)=\sqrt{-1-a_1^2}e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)}\times cosech(x-2\beta t),\quad(97)$$

$$p_{27}(x,t)=a_1e^{i(\beta x+(-4-\beta^2)t)}\times cosec(x-2\beta t)sec(x-2\beta t),\quad(98)$$

$$q_{27}(x,t)=\sqrt{1-a_1^2}e^{i(\beta x+(-4-\beta^2)t)}\times cosec(x-2\beta t)sec(x-2\beta t),\quad(99)$$

$$p_{28}(x,t)=\frac{a_1}{2}e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times sin(x-2\beta t),\quad(100)$$

$$q_{28}(x,t)=\frac{a_1i}{2}e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times sin(x-2\beta t),\quad(101)$$

$$p_{29}(x,t)=2a_1e^{i(\beta x+(-2-\beta^2)t)}\times coth(x-2\beta t),\quad(102)$$

$$q_{29}(x,t)=\sqrt{-1-4a_1^2}e^{i(\beta x+(-2-\beta^2)t)}\times\frac{coth\left[\frac{1}{2}(x-2\beta t)\right]}{1+sech(x-2\beta t)},\quad(103)$$

$$p_{30}(x,t)=2a_1e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times sin(x-2\beta t),\quad(104)$$

$$q_{30}(x,t)=2a_1ie^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times\ sin(x-2\beta t),\quad(105)$$

$$p_{31}(x,t)=2a_1e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times cos(x-2\beta t),\quad(106)$$

$$q_{31}(x,t)=2a_1ie^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times\ cos(x-2\beta t),\quad(107)$$

$$p_{32}(x,t)=a_1e^{i(\beta x+(-2-\beta^2)t)}\times\frac{\left[1+(i\,sech(x-2\beta t)+tanh(x-2\beta t))^2\right]}{i\,sech(x-2\beta t)+\tanh(x-2\beta t)},\quad(108)$$

$$q_{32}(x,t)=\sqrt{-1-4a_1^2}e^{i(\beta x+(-2-\beta^2)t)}\times tanh(x-2\beta t),\quad(109)$$

$$p_{33}(x,t)=2a_1\times e^{i(\beta x+(-2-\beta^2)t)},\quad(110)$$

$$q_{33}(x,t)=2\sqrt{-\frac{1}{4}-a_1^2}\times e^{i(\beta x+(-2-\beta^2)t)},\quad(111)$$

$$p_{34}(x,t)=2a_1e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times cosec(x-2\beta t),\quad(112)$$

$$q_{34}(x,t)=\sqrt{-1-4a_1^2}e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times\frac{cot\left[\frac{1}{2}(x-2\beta t)\right]}{1+cos(x-2\beta t)},\quad(113)$$

$$p_{35}(x,t)=2a_1e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times\frac{[sec(x-2\beta t)+tan(x-2\beta t)]}{1+sin(x-2\beta t)},\quad(114)$$

$$q_{35}(x,t)=\sqrt{-1-4a_1^2}e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)}\times sec(x-2\beta t),\quad(115)$$

$$p_{36}(x,t)=2a_1\times e^{i(\beta x+(2-\beta^2)t)},\quad(116)$$

$$q_{36}(x,t) = \sqrt{1-4a_1^2} \times e^{i(\beta x+(2-\beta^2)t)}, \quad (117)$$

$$p_{37}(x,t) = 2a_1 e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)} \times cosh(x-2\beta t), \quad (118)$$

$$q_{37}(x,t) = 2a_1 i\, e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)} \times cosh(x-2\beta t), \quad (119)$$

$$p_{38}(x,t) = 2a_1 e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)} \times sech(x-2\beta t), \quad (120)$$

$$q_{38}(x,t) = \sqrt{1-4a_1^2}\, e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)} \times sech(x-2\beta t), \quad (121)$$

$$p_{39}(x,t) = \frac{1}{2} a_1 e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)} \times sinh(x-2\beta t), \quad (122)$$

$$q_{39}(x,t) = \frac{1}{2} a_1 i\, e^{i(\beta x+(1-\beta^2)t)} \times sinh(x-2\beta t), \quad (123)$$

$$p_{40}(x,t) = \frac{1}{2} a_1 e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)} \times cos(x-2\beta t), \quad (124)$$

$$q_{40}(x,t) = \frac{1}{2} a_1 i\, e^{i(\beta x+(-1-\beta^2)t)} \times cos(x-2\beta t), \quad (125)$$

a) **b)**

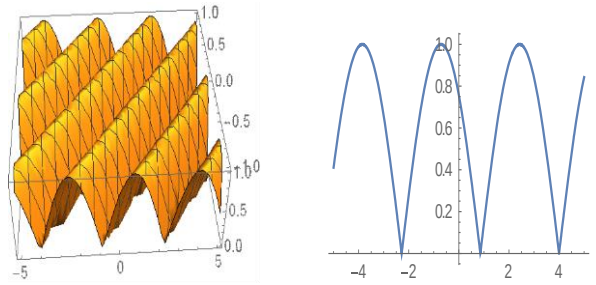


Figure 3. a) The 3D surfaces of |82| by considering the values $a_1 = 1, \beta = 2,\ -10 < x < 10, -1 < t < 1$. **b)**The 2D surfaces of |82| by considering the values $a_1 = 1, \beta = 2, t = 1, -10 < x < 10$.

a) **b)**

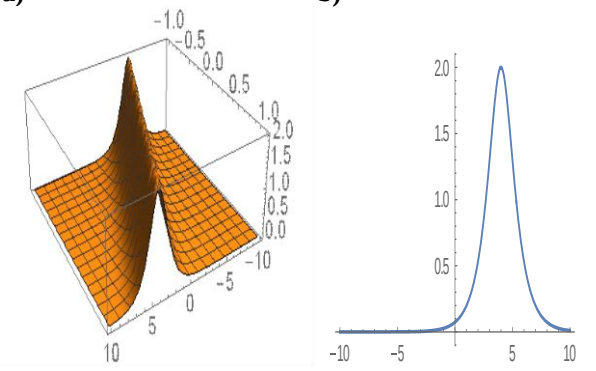


Figure 4. a) The 3D surfaces of |90| by considering the values $a_1 = 2, \beta = 2,\ -10 < x < 10, -1 < t < 1$. **b)**The 2D surfaces of |90| by considering the values $a_1 = 2, \beta = 2, t = 1, -10 < x < 10$.

a) **b)**

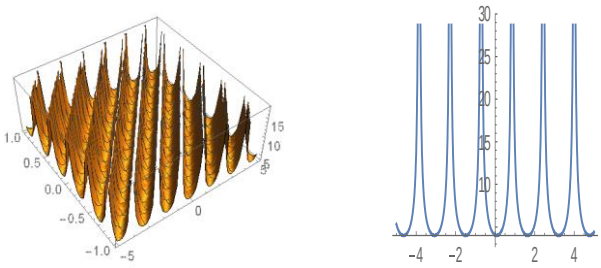


Figure 5. a) The 3D surfaces of |98| by considering the values $a_1 = 2, \beta = 2,\ -5 < x < 5, -1 < t < 1$. **b)**The 2D surfaces of |98| by considering the values $a_1 = 2, \beta = 2, t = 1, -5 < x < 5$.

a) **b)**

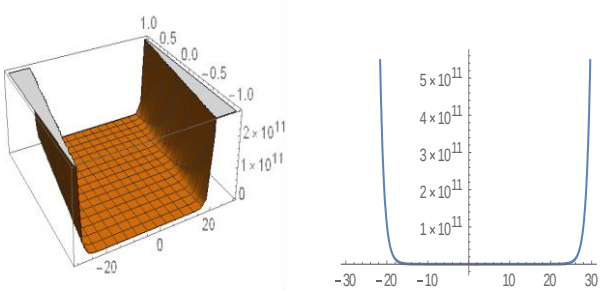


Figure 6. a) The 3D surfaces of |118| by considering the values $a_1 = 2, \beta = 2,\ -30 < x < 30, -1 < t < 1$. **b)**The 2D surfaces of |118| by considering the values $a_1 = 2, \beta = 2, t = 1, -30 < x < 30$.

5. CONCLUSION

In this study, we obtained traveling wave solutions of the (3+1) dimensional nonlinear Schrödinger equation and coupled nonlinear Schrödinger equation using the generalized Jacobi elliptical function method. We have expressed these solutions both as Jacobi elliptical solutions and trigonometric and hyperbolic solutions. . Later, using Mathematica 11.2 program, we saw that these solutions satisfy the equation. We present two and three dimensional graphics of some solutions we have found. This method has been successfully applied to solve some nonlinear wave equations and can be used in many other nonlinear equations or combined equations.

REFERENCES

[1] Huai-Tang C, Hong-Qing Z. New double periodic and multiple soliton solutions of the generalized (2+1)-dimensional Boussinesq equation. Chaos. Solitons and Fractals. 2004;20:765-769.

[2] Najafi M, Arbabi S. Traveling wave solutions for nonlinear Schrödinger equations. Optik. 2015;126:3992–3997.

[3] Bulut H, Aksan EN, Kayhan M, Sulaıman TA. New solitary wave structures to the (3+1) dimensional Kadomtsev-Petviashvili and Schrödinger equation. Journal of Ocean Engineering and Science. 2019;4:373-378.

[4] Arbabi S, Najafi M. Exact solitary wave solutions of the complex nonlinear Schrödinger equations. Optik. 2016;127:4682–4688.
[5] Bhrawy AH, Abdelkawy MA, Biswas A. Optical solitons in (1+1) and (2+1) dimensions. Optik. 2014;125:1537–1549.
[6] Esen A, Sulaiman TA, Bulut H, Baskonus HM. Optical solitons to the space-time fractional (1+1)-dimensional coupled nonlinear Schrödinger equation. Optik. 2018;167:150-156.
[7] Wazwaz AM. Optical bright and dark soliton solutions for coupled nonlinear Schrödinger (CNLS) equations by the variational iteration method. Optik. 2020;207:164457.
[8] Manafian J. Optical soliton solutions for Schrödinger type nonlinear evolutionequations by the $tan\left(F\left(\frac{\xi}{2}\right)\right)$ -expansion method. Optik. 2016;127:4222–4245.
[9] Bakodah HO, Al Qarni AA, Banaja MA, Zhou Q, Moshokoa SP, Biswas A. Bright and dark Thirring optical solitons with improved adomian decomposition method. Optik. 2017;130:1115–1123.
[10] Biswas A, Vega-Guzman J, Mahmood MF, Ekici M, Zhou Q, Moshokoa SP, et al. Optical solitons in fiber Bragg gratings with dispersive reflectivity for parabolic law nonlinearity using undetermined coefficients. Optik. 2019;185:39-44.
[11] Ekici M, Mirzazadeh M, Sonmezoglu A, Zhou Q, Triki H, Ullah MZ, et al. Optical solitons in birefringent fibers with Kerr nonlinearity by exp-function method. Optik. 2017;131:964–976.
[12] Biswas A, Ekici M, Sonmezoglu A, Belic MR. Optical solitons in fiber Bragg gratings with dispersive reflectivity for quadratic–cubic nonlinearity by extended trial function method. Optik. 2019;185:50-56.
[13] Biswas A, Aceves AB. Dynamics of solitons in optical fibers. J. Mod. Opt. 2001;48:1135–1150.
[14] Biswas A, Ekici M, Sonmezoglu A, Belic MR. Highly dispersive optical solitons with Kerr law nonlinearity by F–expansion. Optik. 2019;181:1028–1038.
[15] Biswas A, Ekici M, Sonmezoglu A, Belic MR. Highly dispersive optical solitons with quadratic–cubic law by F-expansion, Optik. 2019;182:930–943.
[16] Biswas A, Ekici M, Sonmezoglu A, Belic MR. Highly dispersive optical solitons with Kerr law nonlinearity by extended Jacobi's elliptic function expansion. Optik. 2019;183:395-400.
[17] Kudryashov NA. General solution of traveling wave reduction for the Kundu–Mukherjee–Naskar model**.** Optik. 2019;186:22-27.
[18] Kudryashov NA. Traveling wave solutions of the generalized nonlinear Schrödinger equation with cubic quintic nonlinearity. Optik. 2019;188:27-35.
[19] Liu W, Zhang Y, Wazwaz AM, Zhou Q. Analytic study on triple-S, triple-triangle structure interactions for solitons in inhomogeneous multi-mode fiber. Applied Mathematics and Computation. 2019;361:325-331.
[20] Foroutan M, Kumar D, Manafian J, Hoque A. New explicit soliton and other solutions for the conformable fractional Biswas–Milovic equation with Kerr and parabolic nonlinearity through an integration scheme. Optik. 2018;170:190-202.
[21] Manafian J, Lakestani M. Abundant soliton solutions for the Kundu–Eckhaus equation via $tan\left(F\left(\frac{\xi}{2}\right)\right)$ -expansion method. Optik. 2016;127:5543–5551.
[22] Fan E. Two new application of the homogeneous balance method. Phys. Lett. A. 2000;265:353-357.
[23] Clarkson PA. New similarity solutions for the modified boussinesq equation. J. Phys. A: Math. Gen. 1989;22:2355-2367.
[24] Malfliet W. Solitary wave solutions of nonlinear wave equations. Am. J. Phys. 1992;60:650-654.
[25] Fan E. Extended tanh-function method and its applications to nonlinear equations. Phys. Lett. A. 2000;277:212-218.
[26] Fu Z, Liu S, Zhao Q. New Jacobi elliptic function expansion and new periodic solutions of nonlinear wave equations. Phys. Lett. A. 2001;290:72-76.
[27] Shen S, Pan Z. A note on the Jacobi elliptic function expansion method. Phys. Let. A. 2003;308:143-148.
[28] Chen Y, Wang Q, Li B. Jacobi elliptic function rational expansion method with symbolic computation to construct new doubly periodic solutions of nonlinear evolution equations. Z. Naturforsch. A. 2004;59:529-536.
[29] Chen Y, Yan Z. The Weierstrass elliptic function expansion method and its applications in nonlinear wave equations. Chaos Soliton Fract. 2006;29:948-964.

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 185-189, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 185-189, 2020

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.755604 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

İnsan Serum Paraoksonaz-1 (PON1) Enzim Aktivitesi Üzerine Zoledronik Asit'in *İn Vitro* İnhibisyon Etkisinin Araştırılması

Hakan SÖYÜT[1*], Yakup ULUTAŞ[2], Ekrem KÖKSAL[2]

[1] Uludağ Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Temel Eğitim Bölümü, Bursa, Türkiye
[2] Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Erzincan, Türkiye
Hakan SÖYÜT ORCID No: 0000-0002-0361-7458
Yakup ULUTAŞ ORCID No: 0000-0002-9839-9536
Ekrem KÖKSAL ORCID No: 0000-0002-1026-972X

**Sorumlu yazar: hakansoyut@uludag.edu.tr*

(Alınış: 22.06.2020, Kabul: 12.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Paraoksonaz, İnhibisyon, Zoledronik asit

Öz: Zoledronik asit azot içeren bir bisfosfonattır. Güçlü bir kemik rezorpsiyon inhibitörüdür. Osteoklast aktiviteyi inhibe eder. PON1 organofosfatların, aril esterlerin ve laktonların hidrolizini katalize eder. PON1, ateroskleroz dahil olmak üzere birçok vasküler hastalıkla ilişkili olduğu bilinen Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDH) ve Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein'i (HDL), oksidatif strese karşı koruyarak bir antioksidan enzim olarak görev yapar. Aslında, daha yüksek PON1 aktivitesi aterosklerozun önlenmesinde önemli bir rol oynar. Epidemiyolojik çalışmalar, düşük PON1 aktivitesinin kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu makalede, *in vitro* koşullarda insan serumunda PON1 enzim aktivitesi üzerine zoledronik asit kemoterapik ilacının inhibisyon etkisini araştırdık. İlaç, PON1 enzimini güçlü bir şekilde inhibe eder. Zoledronik asit için IC50 değeri, 0,057 mM'dır. Ki sabiti ise 0,101 mM'dır. İnhibisyon türü yarışmalıdır.

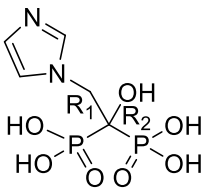
Investigation of *In Vitro* Inhibition Effect of Zoledronic Acid on Human Serum Paraoxonase-1 (PON1) Enzyme Activity

Keywords
Paraoxonase, Inhibition, Zoledronic acid

Abstract: Zoledronic acid is a nitrogen-containing bisphosphonate. It is a powerful bone resorption inhibitor. It inhibits osteoclast activity. PON1 catalyses the hydrolysis of organophosphates, aryl esters, and lactones. PON1 serves as an antioxidant enzyme by protecting Low Density Lipoprotein (LDH) and High-Density Lipoprotein (HDL) from oxidative stress, which is known to be associated with many vascular diseases, including atherosclerosis. Actually, higher PON1 activity plays a significant role in the prevention of atherosclerosis. Epidemiological studies indicate that low PON1 activity is associated with cardiovascular disease risk. In this article, we investigated the inhibition impact of zoledronic acid on PON1 enzyme activity in the human serum *in vitro* conditions. The drug strongly inhibits the PON1 enzyme. IC50 value for zoledronic acid is 0.057 mM. Ki constant is 0.101 mM. The type of inhibition is competitive.

1. GİRİŞ

Zoledronik asit, R1 pozisyonunda bir hidroksil grubuna sahip diğer bisfosfonatlara benzese de, R2 pozisyonuna bağlı olan ve diğer bisfosfonatlardan ayıran heterosiklik imidazol grubudur. Zoledronik asidin kimyasal yapısı şekilde gösterilmiştir.



Şekil 1. Zoledronik asit'in kimyasal yapısı

(1-Hidroksil-2-imidazol-1-il-fosfonoetil) fosfonik asit monohidrat adı verilen zoledronik asidin kimyasal

formülü $C_5H_{10}N_2O_7P_2.H_2O$ 'dur ve molekül ağırlığı 290,1 g / Mol'dir.

Zoledronik asit, R1 hidroksil grubundan yoksun bifosfonatlardan daha fazla kemik bağlanması sergiler. Tüm bisfosfonatlar kemik emilimini engellemesine rağmen, zoledronik asit, R2 yan zincirinde bir azot grubu içerdiği için en güçlü kemik emilim inhibitörlerinden biridir. Zoledronik asit, farnesil difosfat (FPP) sentazını inhibe ederek hücresel mevalonat yolağına müdahale eder. Bu enzimin yokluğu, osteoklastlardaki guanozin trifosfat (GTP) bağlayıcı proteinlerin prenillenmesi için gerekli olan FPP ve geranil difosfat sentezini önler. Bu prenile proteinlerin kaybı, osteoporozun inhibisyonuna katkıda bulunan azalmış osteoklast aktivitesi ile ilişkilidir. Zoledronik asit kemik emilimini inhibe ederek, sıklıkla şiddetli ağrı çeken ileri iskelet kanser hastalarını etkili bir şekilde rahatlatır [1].

Paraoksonaz-I (EC 3.1.8.1, PON1), laktonaz enzim ailesinin bir üyesidir. Yapısında iki Ca^{2+} iyonu bulunan enzim karaciğerde sentezlenir. Enzimin paraoksonaz, arilesteraz ve diazokson olarak bilinen üç aktivitesi vardır. Bununla birlikte, enzimin fizyolojik aktivitesi hala net değildir [2]. Enzimin paraoksonu hidrolize etme özelliği nedeniyle, paraoksonaz olarak adlandırılır. Organofosfat bileşikleri (OP'ler) tarımsal ve kırsal alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, paraokson, klorpirifos-okson ve diazokson tarımsal uygulamalarda sıklıkla kullanılır ve bu bileşikler PON1 için substratlardır. Bu bileşikler, insanlar, böcekler ve bitkiler de dahil olmak üzere diğer organizmalar için çok toksiktir [3]. PON1, HDL ye bağlı bir anti-oksidatif enzimdir. Bu nedenle, HDL'nin antioksidan aktivitesinin bir kısmı PON1 tarafından sağlanır. Enzim ayrıca antioksidan özelliği ile lipit peroksidasyonunu önlemede önemli bir role sahiptir. PON1, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve diğer lipoproteinleri bazı serbest radikal türlerinin neden olduğu oksidatif stresden korur. Paraoksonaz-I'in bu özelliği, HDL ve LDL'yi oksidasyona karşı korur. Oksidasyona bağlı oluşabilecek aterosklerotik lezyonları engeller [4]. PON1'in antioksidan rolü ile aterosklerozu önlediği gibi diyabet, hiperkolesterolemi ve benzeri birçok hastalığında gelişimini önler [5]. Birçok hastalıkta ilaçlar, etkilerini enzimlerin aktiviteleri artırarak veya azaltarak gösterir [6-12]. Bu enzimler üzerine ilaçların *in vitro* ve *in vivo* etkilerin belirlenmesi, birçok hastalığa karşı yeni ilaç geliştirme çalışmaları için önemli bir adım olabilir.

Daha önce PON1 enzimi ilaç inhibisyonu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, Türkeş tarafından yapılan bir çalışmada, pantoprazol, omeprazol ve esomeprazol ilaçlarının PON1 enzimini etkili bir şekilde inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Bu ilaçlar, paraoksanaz enzimi yarışmalı bir şekilde inhibe etmiştir [13]. Başka bir çalışmada, Ekinci ve Beydemir, çeşitli analjezik ilaçların insan PON1 aktivitesi üzerindeki etkilerini araştırmıştır.

Lornoksikam, indometasin, tenoksikam, diklofenak sodyum, ketoprofen ve lincomycin için IC_{50} değerlerini sırasıyla 0,13; 0,19; 0,34; 1,63; 6,23 ve 9,63 mM olarak bulmuşlardır. Yazarlar ayrıca, indometasin ve tenoksikam'ın inhibisyon türünün yarışmalı, ketoprofen, lornoksikam, diklofenak sodyum ve linkomisinin yarışmasız olduğunu belirtmişlerdir [14]. Ancak kemoterapik ilaçlarla daha çok araştırma yapmaya ihtiyaç vardır. Çünkü kemoterapik ilaçlar güçlü inhibitörlerdir.

Bu çalışmada kemoterapide yaygın olarak kullanılan zoledronik asidin insan paraoksanaz-1 enzimi üzerine in vitro etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kimyasallar

DEAE-Sephadex A50, Sepharose 4B, 1-naftilamin, paraokson, protein reaktifleri ve elektroforez için kullanılan kimyasallar ve tüm kimyasal maddeler Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Taufkirchen, Germany) dan elde edildi. Zoledronik asit, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Bölümünden temin edildi.

2.2. Paraoksonaz Aktivite Ölçümü

İnsan serumu örnekleri, Erzincan Mengücekgazi Araştırma Hastanesi'nden temin edildi. PON1 aktivitesi 25 °C'de 1 mM $CaCl_2$ içeren 50 mM glisin / NaOH (pH 10,5) tampon çözeltisi içerisinde paraokson (dietil p-nitrofenil fosfat) (1 mM) ile belirlendi. Aktivite ölçümü paraokson ile PON1 enziminin reaksiyonu sonucu oluşan p-nitrofenolün 412 nm'de absorpsiyon vermesi esasına dayanmaktadır. PON1 aktivitesini hesaplamak için p-nitrofenolün molar ekstinksiyon katsayısı (pH 10,5'te ε = 18.290 $M^{-1}cm^{-1}$) kullanılmıştır. Paraoksonazın enzim ünitesi 1 dakikada hidroliz olan paraoksonun mikromol sayısıdır. Aktivite ölçümü spektrofotometre (CHEBIOS UV-VIS) kullanılarak yapıldı. PON1 enzimi için aktivite hesabı formül hali aşağıdadır:

$$EU/ml = \frac{\Delta OD}{18,290} \times \frac{V_T}{V_E} \times 1000$$

Bu formülde yer alan simgeler aşağıda açıklanmıştır:

EU/ml : 1 ml'deki enzim ünitesi
ΔOD : Bir dakikadaki absorbans değişimi
18,290 : Paranitrofenolün pH: 10,5'deki molar ekstinksiyon katsayısı ($M^{-1}cm^{-1}$)
V_T : Ölçümün yapıldığı toplam küvet hacmi (ml)
V_E : Ölçümün yapıldığı küvete ilave edilen enzim numunesinin hacmi (ml)

Tablo 1. İnsan serum PON1 enziminin aktivite ölçüm küvet içeriği

Stok Aktivite Çözeltileri	Kontrol Küveti		Numune Küveti	
	Hacim (µl)	Kons. (mM)	Hacim (µl)	Kons. (mM)
Glisin/NaOH (pH:10,5)	500	25	500	25
Substrat Çözeltisi	330	1	330	1
Destile su	120	-	Değişken	-
İlaç Çözeltisi	0	-	Değişken	Değişken
Enzim Numunesi	50	-	50	-

2.3. Zoledronik Asit Kemoterapik İlacı İçin IC_{50} ve K_i Sabitlerinin Belirlenmesi

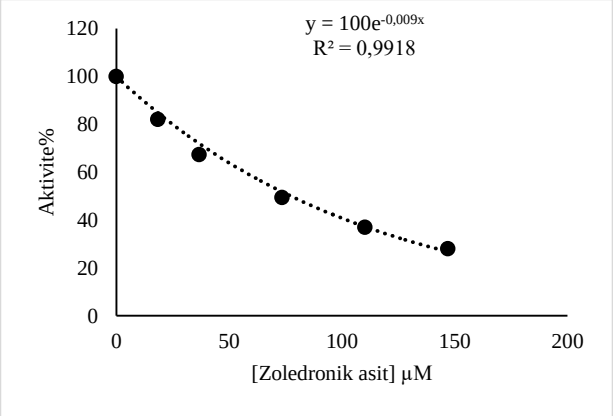
Kemik kanserinde yaygın olarak kullanılan gösteren zoledronik asit'in inhibitör etkileri araştırıldı. Bu kemoterapik ilaç, her konsantrasyon için üç kez test edildi. Enzimin paraoksonaz aktiviteleri, farklı ilaç konsantrasyon değerlerinde analiz edildi. Zoledronik asit, ilaç konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak aktivite yüzdesini gösteren bir grafik çizildi. İnhibitör yokluğunda kontrol aktivitesi% 100 olarak kabul edildi. Zoledronik asit'in % 50 inhibisyonu (IC_{50} değeri) farklı inhibitör konsantrasyon değerleri kullanılarak grafikten elde edildi (Şekil 2). K_i değerini hesaplamak için, zoledronik asit'in üç farklı inhibitör konsantrasyonu test edildi (Şekil 3). Elde edilen Lineweaver-Burk eğrileri, K_i'nin değerini belirlemek için kullanıldı ve inhibisyon tipi Tablo 2'de gösterildi.

3. BULGULAR

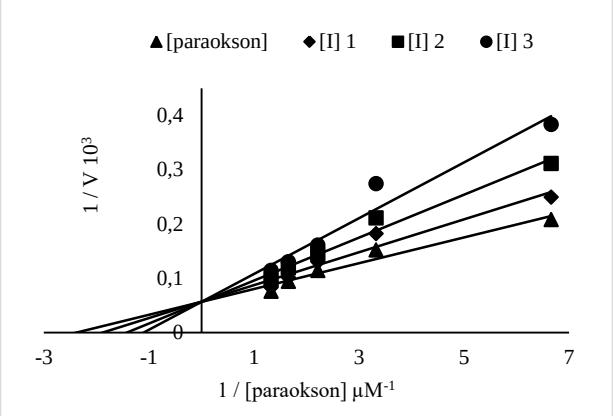
Bu araştırmada, kemoterapik ilaç olan zoledronik asit'in paraoksonaz enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi çalışıldı. Zoledronik asit için IC_{50} değeri, %Aktivite-[I] grafiği yardımıyla 0,057 mM olarak belirlendi (Tablo 2 ve Şekil 2). Çalışmamızda, zoledronik asit'in K_i sabitinin belirlenmesi işleminde Lineweaver-Burk grafikleri kullanılmıştır. K_i sabiti 0,101 mM olarak belirlendi (Tablo 2 ve Şekil 3). İnhibisyon türü yarışmalıdır. İnhibisyon çalışmaları sonucunda zoledronik asit'in PON1 enzimini güçlü bir şekilde inhibe ettiği gözlemlendi.

Tablo 2. IC_{50} ve K_i değerleri

İnhibitör	IC_{50} (mM)	K_i (mM)	İnhibisyon türü
Zoledronik asit	0,057	0,101 ± 0,29	Yarışmalı



Şekil 2. PON1 enzim aktivitesi üzerine zoledronik asit'in inhibisyon etkisini gösteren ve IC_{50} değerinin belirlenmesi için kullanılan %Aktivite-[Konsantrasyon] grafiği



Şekil 3. İnsan serum PON1 enzimi aktivitesi üzerine zoledronik asit'in etkisini gösteren ve K_i sabitinin belirlenmesi için kullanılan Lineweaver-Burk grafiği

4. SONUÇ

PON1 enzimi beyin, kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, ince bağırsak gibi birçok dokuda bulunur. Bununla birlikte, PON1, metabolizmada en fazla karaciğer tarafından sentezlenir ve HDL'ye bağlanır ve daha sonra kan dolaşımına salınır [15]. PON1, HDL'nin bir takım antiaterojenik görevlerinden doğrudan sorumludur. Bu görevler arasında lipoproteinlerin ve hücrelerin oksidatif strese karşı korunması ve ayrıca aterojenez ve lipoprotein peroksidasyonunun önlenmesi yer alır [16]. PON1'in bu koruyucu etkileri serumdaki enzim seviyesi ile ilişkilidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ateroskleroz, diyabet ve hiperkolesterolemili hastalarda PON1 düzeylerinin düşük olduğunu belirtilmiştir. PON1'in aşırı ekspresyonununda özellikle kardiyovasküler hastalıkların gelişimini engellediği bulunmuştur. Ayrıca PON1'in makrofajlarda HDL akışını uyardığı ve LDL biyosentezini inhibe ettiği belirlenmiştir [17]. Başka bir çalışmada, metabolizmayı koroner arter hastalığı, diyabet, obezite gibi oksidatif stresle ilişkili koşullara karşı korumak için PON1'in HDL'den hücre zarının dış yüzeyine taşındığı gösterilmiştir [18].

Enzimler, hasta metabolizmasında kemoterapik uygulama için uygun hedeflerdir. İlaç molekülleri

enzim aktif bölgelerine ve diğer allosterik bağlanma bölgelerine bağlanırlar. Onlar, biyolojik etkilerini enzimin aktif bölgesi üzerinde yarışmalı, yarışmasız ve yarı yarışmalı inhibisyon ile gösterirler. PON1-kemoterapik ilaç etkileşimi konusunda az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışma, zoledronik asit ile paraoksonaz I arasındaki etkileşimi araştırarak akademik literatüre katkıda bulunmayı amaçlamaktadır.

Örneğin; daha önce yaptığımız bir çalışmada, palonosetron hidroklorür, bevacizumab ve siklofosfamid'in PON1'in üzerine *in vitro* etkilerini incelenmiştir. Bu ilaçların insan serumu PON1 enzim aktivitesini belirgin şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir [19]. Başka bir çalışmada, vinkristin sülfat, epirubisin hidroklorür ve doksorubisin hidroklorür kemoterapik ilaçları da PON1 aktivitesi üzerine negatif etkiye sahiptir ve enzimi düşük konsantrasyonlarda inhibe etmiştir [20]. Gökçe ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada salbutamol sülfat, tiotropium, vareniklin tartrat, siprofloksasin hidroklorür, flutikazon propiyonat, teofilin sodyum glisinat, moksifloksasin hidroklorür, ampisilin trihidrat ve montelukast sodyum ilaçlarının PON1 enzimini güçlü bir şekilde inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Salbutamol sülfat en güçlü inhibisyon etkisini gösterirken, montelukast sodyum en zayıf inhibisyon etkisini gösterdi [21].

Bu çalışmada, zoledronik asit için IC_{50} değeri, 0,057 mM ve K_i sabiti ise 0,101 mM olarak bulunmuştur. IC_{50} ve K_i değerleri, zoledronik asit'in PON1 enzimini çok düşük konsantrasyonlarda inhibe etttiğini göstermiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda, iskelet kanserinde sık kullanılan kemoterapik ilaç zoledronik asit'in kardiyovasküler hastalıklar gibi ciddi vakalarda rolü olan PON1 aktivitesi üzerindeki *in vitro* etkilerinin araştırılması üzerinde durulmuştur. PON1 inhibisyonu nedeniyle bu ilacı alan hastalarda çok çeşitli riskler ortaya çıkabilir. PON1'in azalmış aktivitesi, ateroskleroz için önemli bir risk faktörüdür. Bu çalışma *in vivo* araştırmalarla desteklenmelidir. PON1'in kardiyovasküler hastalıklarla ilgili bir biyobelirteç olarak kullanıp kullanamayacağına dair evrensel bir sonuç elde edilmediği için daha fazla çalışmanın yapılması gerekir.

Teşekkür

Çalışmada fikirleri ile destek olan Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL'a ve deneysel çalışmaları yapan Araştırma Görevlisi Yakup ULUTAŞ'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

[1] Li EC, Davis, LE. Zoledronic acid: A new parenteral bisphosphonate. Clin Ther. 2003;25(11):2669-708.

[2] İsgör MM, Beydemir Ş. Some cardiovascular therapeutics inhibit paraoxonase 1 (PON1) from human serum. Eur J Pharmacol. 2010;645(1–3):135–42.

[3] Androutsopoulos VP, Kanavouras K, Tsatsakis AM. Role of paraoxonase 1 (PON1) in organophosphate metabolism: implications in neurodegenerative diseases. Toxicol Appl Pharmacol. 2011;256(3):418–24.

[4] Cebeci B, Alim Z, Beydemir, Ş. *In vitro* effects of pesticide exposure on the activity of the paraoxonase-1 enzyme from sheep liver microsomes. Turk J Chem. 2014;38(3):512–20.

[5] Srivastava S, Singh D, Patel S, Singh MR. Role of enzymatic free radical scavengers in management of oxidative stress in autoimmune disorders. Int J Biol Macromol. 2017;101:502–17.

[6] Ceylan M, Temel Y, Kocyigit UM, Alwasel SH, Gülçin I, Gürbüzlü B. Synthesis , carbonic anhydrase I and II isoenzymes inhibition properties , and antibacterial activities of novel tetralone-based 1 , 4-benzothiazepine derivatives. J Biochem Mol Toxicol. 2017;31(4):1-11

[7] Temel Y, Ayna A, Hamdi Shafeeq I, Ciftci M. *In vitro* effects of some antibiotics on glucose-6-phosphate dehydrogenase from rat (Rattus norvegicus) erythrocyte. Drug Chem Toxicol. 2020;43(2):219–23.

[8] Temel Y, Kocyigit UM. Purification of glucose-6-phosphate dehydrogenase from rat (Rattus norvegicus) erythrocytes and inhibition effects of some metal ions on enzyme activity. J Biochem Mol Toxicol. 2017;31(9):219-27.

[9] Temel Y, Taslimi P, Yoku A. Inhibitory effects of oxytocin and oxytocin receptor antagonist atosiban on the activities of carbonic anhydrase and acetylcholinesterase enzymes in the liver and kidney tissues of rats. J Biochem Mol Toxicol. 2017;31(11):1–7.

[10] Temel Y, Taysi MŞ. The Effect of Mercury Chloride and Boric Acid on Rat Erythrocyte Enzymes. Biol Trace Elem Res. 2018;184(1):177–82.

[11] Temel Y, Küfrevioğlu ÖI, Ciftci M. Investigation of the effects of purification and characterization of turkey (Meleagris gallopavo) liver mitochondrial thioredoxin reductase enzyme and some metal ions on enzyme activity. Turkish J Chem. 2017;41(1):48-60.

[12] Türkeş C, Söyüt H, Beydemir S. Effect of calcium channel blockers on paraoxonase-1 (PON1) activity and oxidative stress. Pharmacol Rep. 2014;66(1):74–80.

[13] Türkeş C. A potential risk factor for paraoxonase 1: *in silico* and *in vitro* analysis of the biological activity of proton-pump inhibitors. J Pharm Pharmacol. 2019;71(10):1553–64.

[14] Ekinci D, Beydemir Ş. Evaluation of the impacts of antibiotic drugs on PON 1; a major bioscavenger against cardiovascular diseases. Eur J Pharmacol. 2009;617(1-3):84–89.

[15] Türkeş C, Beydemir S, Küfrevioğlu ÖI. *In vitro* and *in silico* studies on the toxic effects of antibacterial

drugs as human serum paraoxonase 1 inhibitor. Chem Select. 2019;4(33):9731–36.
[16] Jaouad L, Milochevitch C, Khalil A. PON1 paraoxonase activity is reduced during HDL oxidation and is an indicator of HDL antioxidant capacity. Free Radic Res. 2003;37(1):77–83.
[17] Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The Paraoxonase gene family and atherosclerosis. Free Radic Biol Med. 2005;38(2):153– 63.
[18] Aviram M, Rosenblat, M. Paraoxonases (PON1, PON2, PON3) analyses *in vitro* and *in vivo* in relation to cardiovascular diseases. Methods Mol Biol. 2008;477:259–76.
[19] Türkeş C, Söyüt H, Beydemir Ş. *In vitro* inhibitory effects of palonosetron hydrochloride, bevacizumab and cyclophosphamide on purified paraoxonase-I (hPON1) from human serum. Environ Toxicol Pharmacol. 2016;42:252–57.
[20] Türkeş C. Investigation of potential paraoxonase-I inhibitors by kinetic and molecular docking studies: chemotherapeutic drugs. Protein Pept Lett. 2019;26(6):392-402.
[21] Gökçe B, Sarıoğlu N, Gençer N, Arslan O. Association of human serum paraoxonase-1 with some respiratory drugs. J Biochem Mol Toxicol. 2019;33(12):224-31.

Araştırma Makalesi https://doi.org/10.46810/tdfd.773900 Research Article

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Vinç Kancalarının Farklı Malzeme Özellikleri ve Yükleme Kapasitelerine Göre Yorulma Dayanımlarının İncelenmesi

Ali SARI[1], Ömer Faruk NEMUTLU[2*]

[1] İstanbul Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye
[2] Bingöl Üniversitesi, Enerji, Çevre ve Doğal Afet Çalışmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Bingöl, Türkiye
Ali SARI ORCID No: 0000-0002-6888-1276
Ömer Faruk NEMUTLU ORCID No: 0000-0001-7841-3911

**Sorumlu yazar: ofnemutlu@bingol.edu.tr*

(Alınış: 25.07.2020, Kabul: 15.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Vinç Kancası, Kırılma Mekaniği, Yorulma Dayanımı, Statik Yük Testi

Öz: Genel olarak endüstride kullanılan vinç kancalarının nakliye, inşaat ve imalat gibi çeşitli sektörlerde önemli bir görevinin olması araştırmacıların bu alanda çalışmalar yapmasını gerektirmiştir. En genel anlamda şekillerine göre isimlendirilen kancalar basit kancalar, çift ağızlı kancalar ve lamelli kancalar olarak sınıflandırılırlar. Kancalar, işlev olarak yer yer değişim gösterebilmesinin yanında genel olarak bir malzemeyi kaldırmak, bir yerden başka bir yere taşımak ve ağır yükleri yükseltmek amacıyla kullanılırlar. Emniyetli bir şekilde kaldırma, taşıma ve yükseltme işlerini yapabilmesi ve çok büyük ve tekrarlı yüklere maruz kalmasından dolayı en büyük çekme yükleri yani yük kapasiteleri, yorulma testleri ve analizleri yapılarak yorulma ömürlerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada kapsamında 2 ton karbon ve alaşım, 3 ton karbon ve alaşım, 15 ton alaşım ve 25 ton karbon kancalar çeşitli statik ve yorulma testlerine tabii tutulmuştur. Yorulma testlerinden elde edilen veriler yardımıyla kanca tiplerine ait Gerilme-Döngü Sayısı (S-N) eğrileri oluşturulmuştur. Çalışma kapsamında yorulma analizlerinde kullanılacak S-N eğrileri bir başka deyişle Wöhler eğrileri bir malzemenin hasar meydana getiren çevrim sayısına karşı gelen gerilme genliğinin büyüklüğünü ifade eden eğrilerdir. Bu çalışmada farklı malzemelerden yapılmış ve farklı statik yük kapasitesindeki kancaların yorulma dayanımları, elde edilen S-N eğrileri kullanılarak karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, karbon kancaların alaşım kancalara göre daha yüksek çekme yük kapasitesine sahip olduğu, yorulma ömrüne kancaların büyüklüğünün etki etmediği, karbon kancaların alaşım kancalara göre daha uzun yorulma ömrüne sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Evaluation of Fatigue Strength of Crane Hooks Considering Material Properties and Load Capacities

Keywords
Crane Hook, Fracture Mechanics, Fatigue Strength, Static Load Test

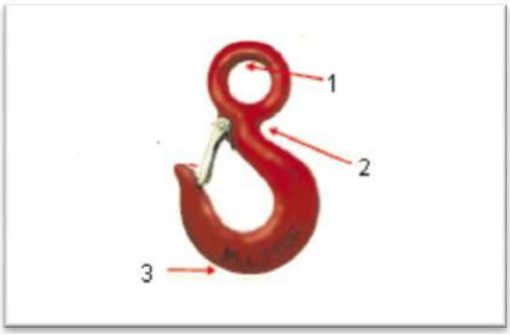
Abstract: The fact that crane hooks used in the industrial industry have an essential role in various sectors such as transportation, construction, and manufacturing required the researchers to work in this field. Hooks, which are named according to their shapes in the most general sense, are classified as simple hooks, double rim hooks, and lamellar hooks. Hooks are generally used to lift objects, to move them from one place to another, and to lift up heavy loads. Since they are exposed to large and repetitive loads due to their ability to safely lift, transport heavy loads, it is of great importance to determine the strength and the fatigue life of the hooks by analysis or testing. In this study, fatigue and static tests are performed for 2-ton carbon, 2-ton alloy, 3-ton carbon, 3-ton alloy, 15-ton alloy, and 25-ton carbon hooks. Stress-Number of Cycles (S-N) curves, in other words Wohler curves, are developed utilizing data obtained from the fatigue tests. S-N curves illustrates the stress level on a material for a given number of cycles that cause damages. It is possible to identify a mechanical part, for example, the cumulative damage of a hook, and the loading history of that part by the S-N curve. In this study, the fatigue lives of hooks with different material properties and sizes are compared. As a result of the study, it has been observed that carbon hooks have higher tensile load capacity than alloy hooks, hook size does not have any significant effect on the fatigue life of the hooks, and the carbon hooks have a longer fatigue life than the alloy hooks.

1. GİRİŞ

Vinç kancaları nakliye, inşaat ve imalat gibi çeşitli endüstrilerde genellikle malzemeleri bir yerden başka bir yere taşımak, bir malzemeyi kaldırmak veya ağır yükleri yükseltmek için kullanılan oldukça önemli bir bileşendir. Vinç kancaları gezer vinç, portatif vinçler, kule vinç, yükleyici vinç gibi yükleri tutmak ve kaldırmak için kullanılan makinelerin önemli bir elemanıdır. Büyük yükler altında önemli gerilmelere maruz kalan kancalar, belirli bir süre sonunda gerilme birikmesi sonunda göçme durumuna ulaşırlar. Vinç kancasının genel şeması Şekil 1'de gösterilmiştir.

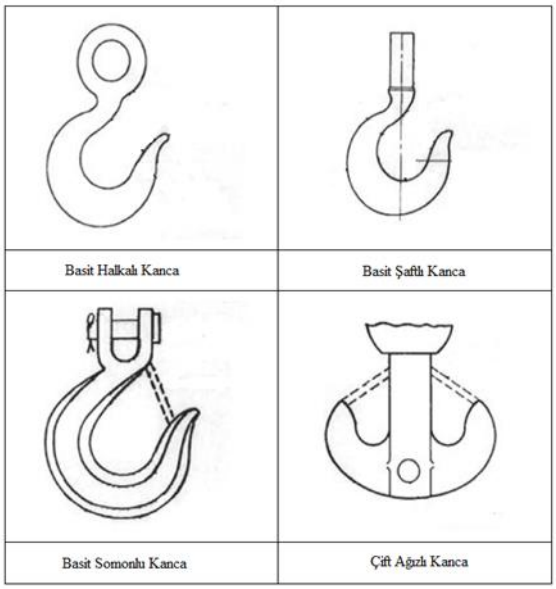
Şekil 1. Vinç Kancası[1]

Temel olarak bir kaldırma zincirinin bir halkasına veya bağlantısına veya bir zincir veya kablo soketinin pimine geçmek için tasarlanmış bir kaldırma tertibatıdır. Yamuk, dairesel, Kare, I kesit, T kesit ve üçgen kesitli vinç kancaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Vinç kancaları hayati bileşenlerdir ve çoğu zaman nihayetinde arızaya yol açan büyük miktarda gerilim birikimi nedeniyle göçmeye maruz kalırlar. Vinçler sürekli yükleme ve boşaltma işlemine tabi tutulur. Bu, vinç kancasının yorulmasına neden olur. Vinç kancasında çatlak gelişirse, kancanın kırılmasına ve ciddi kazalara neden olabilir. Eğilme gerilmesi, çekme gerilmesi, aşınmaya bağlı olarak kanca kesitinin zayıflaması, aşırı yüklemeye bağlı olarak plastik şekil değişimlerinin meydana gelmesi, termal yüklemelere maruz kalmak kancaların hasar uğramasında rol oynayan etmenlerdir. Bu nedenle en büyük performansın hatasız olarak sunulması için tasarlanmalı ve üretilmelidir. Vinç kancasının yanlış tasarımı önemli kazalara neden olur [1]. Her yıl yanlış kaldırma prosedürleri yaralanmalara, çalışmaların durmasına ve mal kaybına neden olur. İnsanların, makinelerin, yüklerin, yöntemlerin ve çalışma ortamının yeterli güvenlik önlemlerinin tam olarak alındığı zamanlarda, kaldırma kazalarının azaltılabileceği görülmektedir. Genellikle kanca üzerinde kancaya takılan yüklerin sıyrılıp düşmemesi için kanca üzerine güvenlik mandalı eklenir. Ayrıca kancaların tasarımı sırasında güvenlik katsayılarının yüksek olması gerekir. Kökçü'nün çalışmasında belirttiği gibi en ağır yük taşıyan kancalarda güvenlik katsayısı en küçük 5 olmalıdır [2, 3]. Ayrıca kanca üzerinde belirli bölgelerin güvenlik açısından dikkatli şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir. Şekil 2'de belirtilen bölgelerde; 1. Bölgede ve 3. Bölgede aşınma ve yıpranma olup olmadığı, 2. Bölgede ise bükülme ve çatlak olup olmadığı düzenli olarak kontrol edilmelidir [4-6].



Şekil 2. Kanca Güvenlik Bölgeleri[5]

Kancalar genellikle şekillerine göre isimlendirilirler. Kaldırma makinelerinde kullanılan kancalar genellikle 3 sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar sırasıyla basit kancalar, çift ağızlı kancalar ve lamelli kancalardır [2, 4, 7]. Şekil 3'te çeşitli kanca tiplerine ait örnekler verilmiştir. Kancalar üretimi sırasında serbest ya da kalıpta dövülerek, DIN 15400 standartlarına uyumlu malzemelerden üretilmektedir. Bu malzemelerden üretilen kancalarda kullanılan çelikler ise DIN 17102 ve DIN17103 standartlarına uymalıdır [8, 10].

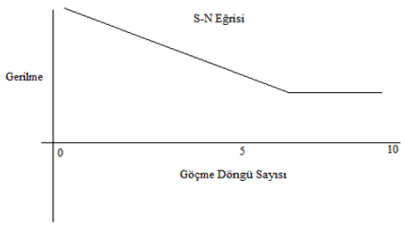


Şekil 3. Kanca Tipleri

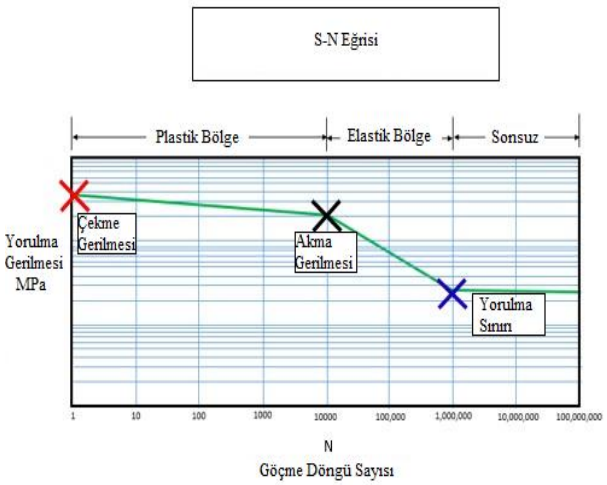
Literatürde vinç kancalarının statik ve yorulma analizleriyle ilgi bir çok çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalarda genellikle kancaların yükleme altındaki davranışı, çatlak ilerlemesi, S-N eğrileriyle yorulma analizleri ve farklı kesitlerdeki kanca tiplerinin davranışlarının karşılaştırılması üzerinedir. Sonsino, yaptığı çalışmada yüksek döngüde yorulma rejimine sahip elemanların yorulma mukavemetinde S-N eğrilerine bağlı olarak azalma olduğu sonucuna değinmiştir [11]. Qin vd., yapmış oldukları çalışmada nümerik bir BIRKPM metodu oluşturarak gerilme analizi yapmışlar ve bu alanda kullanılan sonlu elemanlar yöntemine ek bir çözüm önermişlerdir [12]. Torres vd., kancalarda göçmenin mevcut olan kontrolsüz bir kaynağın ısıdan etkilenen bölgesindeki çatlaklardan başladığını gösteren bir çalışma yapmışlardır ve bu çalışmanın sonuçları kancalardaki gevrek davranış ile

ilgili önemli bilgiler vermektedir [13]. Vinodh ve Ravikumar yaptıkları çalışmada sonlu elemanlar yönteminde kullanılan malzeme ve yük girdileri ile en büyük stres ve en büyük sapmaların olasılıksal bir değerlendirmesini yaparak vinç kancalarının tasarımında güvenlik faktörünün rastgele seçilmesinin önlenebileceği üzerine araştırmalar yapmışlardır [14]. Sundriyal ise kancadaki göçmelerin kancanın geometrisine ve malzeme çeşidine bağlı olduğunu incelemek üzere 3 farklı kesite sahip kancalar üzerinde analizler yapmış ve çalışmanın sonucunda T kesite sahip kancaların en küçük gerilme değeri üzerlerine aldığını göstermiştir [1]. Bergaley ve Purohit ise yaptıkları çalışmada kancaları sonlu elemanlar yöntemine bağlı kalarak modelleyip bu modelden elde ettikleri sonuçları deney ortamında elde ettikleri sonuçlar ile karşılaştırmışlardır. Geometrik özelliklerin ve kesit tiplerinin değiştirilmesinin gerilmeyi etkilediğini göstermişlerdir [15]. Desai ve Zeytinoğlu, vinç kancalarının geometrik özellikleri üzerine çalışmışlardır. Tasarım ve optimizasyon üzerine yaptıkları çalışmada farklı kesitler üzerinde yaptıkları analizlerde trapez kesitin gerilme konsantrasyonu göz önüne alındığında en verimli seçenek olduğu sonucuna varmışlardır[16]. Sahu vd., kanca tiplerinden trapez kesite sahip bir kanca üzerinde kancanın geometrik boyutları üzerinde değişiklikler yapıp gerilme ve şekil değiştirmeleri incelemişlerdir. Kancanın boyun bölgesindeki boyutun değiştirilmesinin gerilmeyi etkilediği görülmüştür [17].

Çalışma kapsamında yorulma analizlerinde kullanılacak S-N eğrileri bir başka deyişle Wöhler eğrileri bir malzemenin hasar meydana getiren çevrim sayısına karşı gelen gerilme genliğinin büyüklüğünü ifade eden eğrilerdir(Şekil 4). Mekanik bir parça örneğin bir kancanın birikimli hasarını ve bu parçanın yükleme geçmişini S-N eğrisi ile belirlemek mümkündür.[18, 20]. S-N eğrilerini elde edebilmek için metal eleman deney makinesine yerleştirilir. Hasar veya çatlak meydana gelene kadar eleman yüklenir. Ama bu işlemi farklı gerilme seviyelerinde ve farklı metal eleman üzerinden tekrarlanması gerekmektedir. Yüklemeler eleman üzerine yapılıp sonuçlar alındıktan gerilme ve her bir gerilmeye karşı gelen çevrim sayısı eksenlerine göre S-N eğrisi oluşturulur. Bu S-N eğrilerinin plastik bölge, elastik bölge ve sonsuz ömür gibi çeşitli bölgeleri vardır ve bu bölgeleri ayıran çekme gerilmesi, akma gerilmesi ve yorulma sınırları vardır. Çekme gerilmesi çevrim sırasında hasar oluşması için gereken gerilme seviyesini ifade eder. Akma gerilmesi sınırı elastik ve plastik bölgeyi ayıran nokta olarak tanımlanır ve Yorulma sınırı, bu bölgenin üstündeki çevrimlerde hasar meydana geleceği anlamını taşır(Şekil 5) [21].



Şekil 4. Tipik bir S-N eğrisi



Şekil 5. S-N Eğrisinin Sınırları

Bu çalışmada da S-N eğrileri çeşitli kanca tiplerinin yorulma analizlerinde kullanılacaktır. Çalışmanın amacı alaşım ve karbon malzemelerden imal edilmiş, 2 ton, 3 ton, 15 ton ve 25 ton yükleme kapasitesine sahip kanca tiplerindeki kancaların yükleme testi ve çevrimli yükler altında yorulma testleri yapılarak çeşitli kancaların yükleme kapasitesi ve malzeme özelliğine göre yorulma ömürlerini belirlemektir. Bu amaçla çeşitli analizler farklı kanca tipleri üzerinde yapılmış ve ilerleyen bölümlerde detaylı olarak verilecektir. Elde edilen sonuçlar detaylı olarak gerekçeleri ile irdelenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde çalışmada kullanılan malzemeler, bu malzemelere ait özellikler, test setupları hakkında bilgiler, kancaların geometrik özellikleri, kullanılan deney ekipmanları hakkında bilgiler verilecek ve uygulanan deneylerin nasıl gerçekleştiğinden bahsedilecektir. Statik test kurulumu 800000 Ib ile 5000000 Ib yük kapasitesi aralığına sahip universal bir test cihazıdır. Yorulma testi cihazı ise farklı yük kapasitesindeki kancalara ve çalışma yüklerine göre değişiklik gösterecek şeklinde hazırlanmıştır. Çalışma kapsamında yapılacak olan yorulma testleri için 6 farklı kanca tipi seçilmiştir. Bunlar, 2 tonluk karbon, 2 tonluk alaşım, 3 tonluk karbon, 3 tonluk alaşım, 15 tonluk alaşım ve 25 tonluk karbon şaft kancalarıdır. Çalışma içerisinde yapılan değerlendirmelerde farklı tipteki kancalara isimlendirmeler verilmiştir. Çalışmanın bu bölümden sonraki kısımlarında bu kısaltmalar kullanılacaktır. İsimlendirme kapasitesi ve üretildiği malzemenin baş harfleri şeklinde olacaktır. Örn: 2 Tonluk Karbon Kanca: 2TKK. Bu isimlendirme düzenine göre 6 farklı kanca tipinin sırasıyla kısaltmaları şu şekilde olacaktır: 2TKK, 2TAK, 3TKK, 3TAK, 15TAK, 25TKK. Analiz testleri, seçilen örneklerin hem nihai yük testini hem de yorulma testini içerir.6 nihai yük testi ve 47 yorulma testi yapılmıştır. Universal test makinelerinde (kapasiteleri 360 ton ile 2300 ton arasında değişen) 6 adet statik nihai yük testleri yapıldı. Statik testlerde, yorulma testlerine tabi tutulmamış vinç kancası örnekleri (yani, yeni örnekler) göçme testine tabi tutulmuştur. Test makineleri çıktı birimi olarak pound(Ib) kullandığı için sonuçlar bu birim cinsinden

dikkate alınmıştır. Yorulma testlerinde, çeşitli tip ve ebatlardaki kancalar hızlı bir şekilde yüklendi ve belirtilen yük ile boşaltıldı. Bu yükleme döngüsü göçmeye kadar sürdürüldü. Toplam 47 test yapıldı. Kancaların çalışma yükleri 2 ton, 3 ton, 15 ton ve 25 ton idi. Yorulma testleri sırasında kancalara farklı miktarda yük uygulanmıştır. Uygulanan bu farklı miktardaki yükler, çalışma yükünün yüzdesi ile tanımlanır. Yüzde çalışma yükü(%ÇY) aşağıdaki denklem 1 ile hesaplanır:

%ÇY= (Maks. Uygulanan Yük – Min. Uygulanan Yük) x 100 / Kanca Kapasitesi (1)

Tablo 1, çalışma ve test yükleri ile farklı tipteki kancaları göstermektedir. Ayrıca beklenmedik sap arızaları nedeniyle 2 ton alaşım ve 3 ton alaşım kancalar için ek yorulma testleri yapıldı.

Deneyler sırasında uygulanan farklı yüklerde 2TKK için 9, 2TAK için 10, 3TKK için 6, 3TAK için 10, 15TAK için 9, 25TKK için 3 adet yorulma testi uygulanmıştır. Testler için kancalar, yükü en küçük ve en büyük değer arasında değiştirebilen bir test aparatına monte edildi. Kancalar tipik olarak göçmeye ulaşana kadar çevrim uygulanmıştır.

Tablo 1. Yorulma Test Numuneleri ve Yükleri

Çalışma Yükü ton	Güvenlik Katsayısı	Test Yüklemeleri 1*ÇY(Ibs)	1.5*ÇY(Ibs)	2.0*ÇY(Ibs)	3.0*ÇY(Ibs)	Ultimate Tasarım Yükü Ibs
2TKK	5	4409	6614	8818	13228	22046
3TKK	5	6614	9921	13228	19481	33069
25TKK	5	55115	82672	110230	165345	275575
2TAK	4.5	4409	6614	8818	13228	19481
3TAK	4.5	6614	9921	13228	19481	29762
15TAK	4.5	33069	49603	66138	99207	148810

3. BULGULAR

3.1. Statik Test Sonuçları

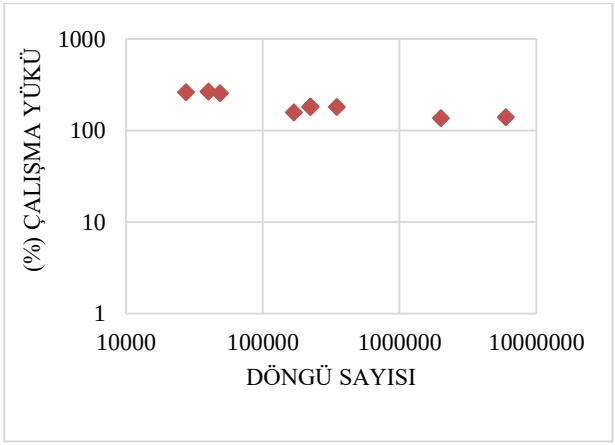
Toplam yedi adet statik test yapılmıştır. Test örnekleri şu numuneler seçilmiştir: 2TKK, 2TAK, 3TKK, 15TAK ve 25TKK. Ek yorulma testi için 3 ton alaşımlı kanca numuneleri kullanıldığından, 3 ton alaşımlı kancalar üzerinde statik bir test yapılmamıştır. Her test örneği, şekil değiştirmeleri ölçmek için çeşitli konumlarda strain gageler ile donatılmıştır. Toplamda, kancalarda dokuz adet strain gage bulunmaktadır: ikisi şaftta, dördü yanlarda, ikisi arkada ve biri önde olmak üzere. 25 tonluk kancada sadece yedi adet strain gage yerleştirilmiştir, çünkü gövdede strain gage bulunmamaktadır. Yapılan yükleme testleri sonucunda elde edilen en büyük çekme yüklerinin testlerde kullanılan kanca tiplerine göre değişimi Tablo 2'de verilmiştir. Tablo 2'deki verilen en büyük çekme yükleri incelendiğinde 2 tonluk kancalardan alaşım kancanın en büyük çekme yükünün karbon kancaya göre daha düşük değerler aldığı görülmektedir. Ayrıca yorulma testlerine tabi tutulduktan sonra alınan numunelerin benzer nihai yük kapasitelerine sahip olduğu gözlenmiştir. 2 ton kapasiteye sahip karbon kanca incelendiğinde yorulma testlerinden sonra elde edilen çekme yükleri sırasıyla 14.33 ve 13.65 ton elde edilmiştir. Sadece statik teste tabi tutulan 2 tonluk karbon kancanın en büyük çekme yükü 13.95 ton olarak elde edilmiştir. Bu nedenle, bir kanca yük kapasitesinin düşük çalışma yükü koşullarında yorulma testine tabi tutulduktan sonra önemli ölçüde değişmediği sonucuna varılabilir.

3.2. Yorulma Testi Sonuçları

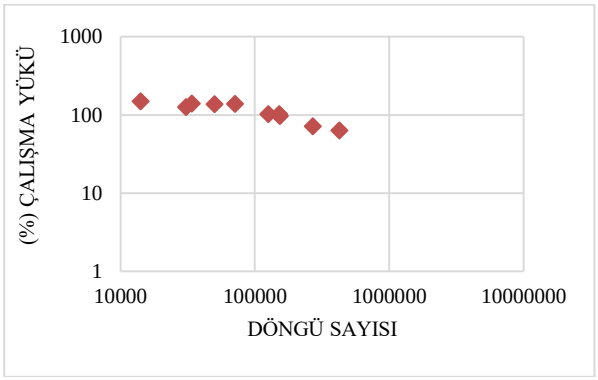
Bu bölüm içerisinde bulunan aşağıdaki alt bölümlerde, yorulma testinin sonuçları özetlenmektedir. Sonuçlar çelik türüne ve çalışma yüküne göre altı gruba ayrılmıştır. Tablo 3 ila Tablo 8 arasındaki tablolar, göçme yükünü, göçme döngü sayısını ve göçme modunu gösterir. Her tablonun ardından, tipik göçme modlarının, çalışma yüküne karşı döngü sayısının bir grafiği Şekil 6'dan Şekil 11'e kadar verilmiştir. Tablo 3, 2 tonluk karbon kancaya ait yorulma test sonuçlarını Şekil 6 ise 2 tonluk karbon kancaya ait yorulma test verilerini vermektedir. Tablo 3'te verilen değerlere bakıldığında 4 ve 8 numaraları testlerin yanında işaretlemeler vardır. Bu testlerde görüldüğü üzere döngü 2 ve 6 milyonlara kadar devam etmesine rağmen kancalarda göçme meydana gelmemiştir. Bu nedenle bu test setleri S-N eğrilerinin belirlerken uygun bir seçim yapabilmek için hesaplamalardan hariç tutulmuştur.

Tablo 2. Statik Test Sonuçları

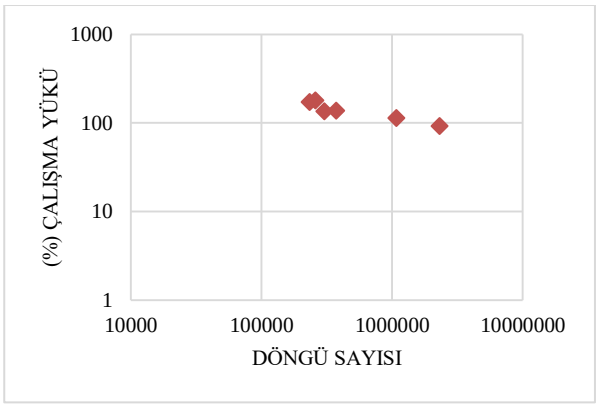
Kanca Tipleri	Çekme Yükleri
2TKK	13.95 t
2TKK (Testten Sonra #4)	14.33 t
2TKK (Testten Sonra #8)	13.65 t
2TAK	10.41 t
3TKK	19.5 t
3TAK	*****
15TAK	62.14 t
25TKK	127 t



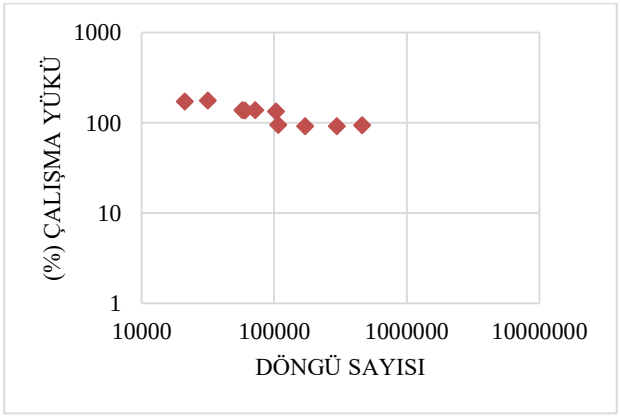
Şekil 6. 2 ton karbon kanca test verileri



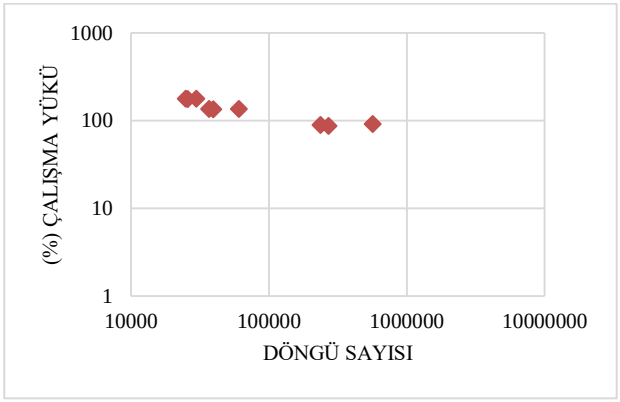
Şekil 7. 2 ton alaşım kanca test verileri



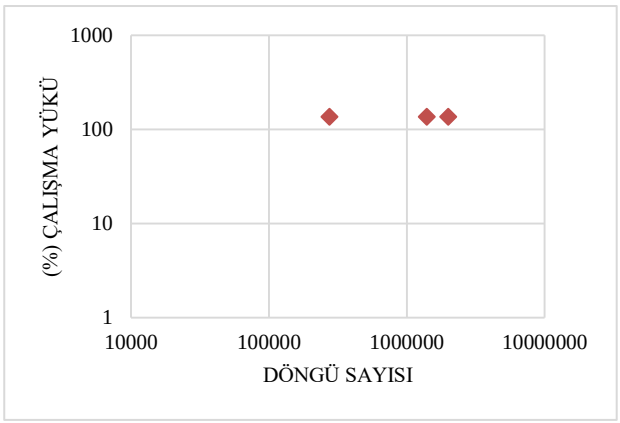
Şekil 8. 3 ton karbon kanca test verileri



Şekil 9. 3 ton alaşım kanca test verileri



Şekil 10. 15 ton alaşım kanca test verileri



Şekil 11. 25 ton karbon kanca test verileri

Tablo 3. 2 tonluk karbon kancaya ait yorulma test sonuçları

Test Numarası	Çalışma Yükü(%)	Döngü Sayısı	Yorulma Test Yükleri (lbs)		Göçme Modları
			min	max	
1	181	347800	280	8,260	Kancada göçme
2	182	223800	240	8,250	Kancada göçme
3	181	222100	240	8,230	Kancada göçme
4*	136	2000000	300	6,300	Göçme Yok-Test Durduruldu
5	266	40200	260	12,000	Kancada göçme
6	261	27500	280	11,780	Kancada göçme
7	256	48600	322	11,617	Kancada göçme
8*	140	6000000	392	6,564	Göçme Yok-Test Durduruldu
9	158	169300	335	7,311	Kancada göçme

Tablo 4. 2 tonluk alaşım kancaya ait yorulma test sonuçları

Test Numarası	Çalışma Yükü(%)	Döngü Sayısı	Yorulma Test Yükleri (lbs)		Göçme Modları
			min	max	
1	138	71400	362	6466	Şaftta göçme
2	136	50200	305	6298	Şaftta göçme
3	139	34000	290	6425	Şaftta göçme
4	125	30700	449	5964	Kanca Gövdesinde Göçme
5	148	14100	432	6976	Kanca Gövdesinde Göçme
6	102	126200	393	4890	Kanca Gövdesinde Göçme
7	102	151800	401	4906	Kanca Gövdesinde Göçme
8	96	153400	205	4427	Kanca Gövdesinde Göçme
9	63	426300	372	3154	Kanca Gövdesinde Göçme
10	71	269600	318	3440	Kanca Gövdesinde Göçme

Tablo 5. 3 tonluk karbon kancaya ait yorulma test sonuçları

Test Numarası	Çalışma Yükü(%)	Döngü Sayısı	Yorulma Test Yükleri (lbs)		Göçme Modları
			min	max	
1	92	2308700	559	6617	Kanca Gövdesinde Göçme
2	135	303400	659	9558	Kanca Gövdesinde Göçme
3	137	374100	584	9628	Kanca Gövdesinde Göçme
4	113	1078100	607	8060	Kanca Gövdesinde Göçme
5	172	233700	527	11917	Kanca Gövdesinde Göçme
6	179	259200	367	12174	Kanca Gövdesinde Göçme

Tablo 6. 3 tonluk alaşım kancaya ait yorulma test sonuçları

Test Numarası	Çalışma Yükü(%)	Döngü Sayısı	Yorulma Test Yükleri (lbs)		Göçme Modları
			min	max	
1	172	21200	428	11778	Şaftta göçme
2	92	298400	599	6671	Şaftta göçme
3	137	60400	563	9611	Şaftta göçme
4	138	57800	358	9507	Kanca Gövdesinde Göçme
5	138	72200	234	9332	Kanca Gövdesinde Göçme
6	92	171800	556	6641	Şaftta göçme
7	94	461200	501	6696	Kanca Gövdesinde Göçme
8	95	107600	264	6562	Şaftta göçme
9	134	103450	634	9467	Kanca Gövdesinde Göçme
10	176	31700	526	12156	Kanca Gövdesinde Göçme

Tablo 7. 15 tonluk alaşım kancaya ait yorulma test sonuçları

Test Numarası	Çalışma Yükü(%)	Döngü Sayısı	Yorulma Test Yükleri (lbs)		Göçme Modları
			min	max	
1	136	37000	561	45555	Kancada göçme
2	135	60900	837	45421	Kancada göçme
3	91	566900	813	30855	Kancada göçme
4	89	237600	672	29998	Kancada göçme
5	178	29900	895	59683	Kancada göçme
6	176	25900	910	58947	Kancada göçme
7	177	25000	869	59544	Kancada göçme
8	87	271600	809	29703	Kancada göçme
9	134	39600	844	45239	Kancada göçme

Tablo 8. 25 tonluk karbon kancaya ait yorulma test sonuçları

Test Numarası	Çalışma Yükü(%)	Döngü Sayısı	Yorulma Test Yükleri (lbs)		Göçme Modları
			min	max	
1	136	1398000	705	75644	Kancada göçme
2	136	276400	676	75712	Kancada göçme
3	136	2000000	751	75682	GöçmeYok-Test Durduruldu

3.3. Yorulma Amalizi

Yorulma ömrü, yorulma testlerinden elde edilen S-N eğrilerinin kullanımına dayanmaktadır. Kullanılan S-N eğrileri malzemelerin kullanıma devam edebilme olasılıklarıyla ilişkilidir. Temel olarak tasarım S-N eğrileri şu şekilde verilebilir(Denklem 2,3):

$$log_{10}N = log_{10}\overline{K} - mxlog_N\Delta L \quad (2)$$

$$log_{10}N = log_{10}K - zxStndrtSap \quad (3)$$

Burada; ΔL, çalışma yükünün yüzdesi olarak yorulma yük oranını, logK¯, logN ekseni ile tasarım S-N eğrisinin kesişimini, m, S-N eğrisinin ters eğimini, N, öngörülen döngü sayısını, K, S-N eğrisinin ortalaması ile ilişkili sabit, z ise ortalama dağılımından elde edilen standart sapma sayısını ifade etmektedir.

Aşağıdaki tablolarda Tablo 9'dan Tablo 13'e kadar 2T Karbon, 2T Alaşım, 3T Karbon, 3T Alaşım ve 15T Alaşım kancaları için S-N Eğrisi parametreleri verilmiştir. Yetersiz veri nedeniyle, 25 Tonluk karbon kanca için S-N eğrileri oluşturulmamıştır. Parametreler, Şekil 12 ila 18 'de gösterilen S-N eğrilerini oluşturmak için kullanılmıştır. S-N eğrilerini tanımlamak için iki eğim kullanılmıştır. Bahsi geçen şekiller ve tablolar aşağıda sırasıyla verilmiştir.
Aşağıda karbon ve alaşım kancalar için verilen S-N eğrileri karşılaştırıldığı zaman karbon kancalar için S-N eğrilerinin, alaşım kancalar için S-N eğrilerinden daha yüksek bir grafik çizdiği görülebilir. Bu, karbon kancaların alaşım kancalardan daha yorulmaya dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Tablo 9. 2TKK S-N eğrisi parametreleri

S-N Eğrileri	$N<10^6$		$N>10^6$	
	$\log\overline{K}$	m	$\log\overline{K}$	m
Ortalama	12.04	3	16.07	5
Ortalama-StndrtSap	11.81	3	15.84	5
Ortalama-2*StndrtSap	11.58	3	15.61	5
Ortalama-3*StndrtSap	11.35	3	15.37	5

Tablo 10. 2TAK S-N eğrisi parametreleri

S-N Eğrileri	$N<10^6$		$N>10^6$	
	$\log\overline{K}$	m	$\log\overline{K}$	m
Ortalama	11.01	3	14.35	5
Ortalama-StndrtSap	10.82	3	14.16	5
Ortalama-2*StndrtSap	10.63	3	13.97	5
Ortalama-3*StndrtSap	10.44	3	13.78	5

Tablo 11. 3TKK S-N eğrisi parametreleri

S-N Eğrileri	$N<10^6$		$N>10^6$	
	$\log\overline{K}$	m	$\log\overline{K}$	m
Ortalama	12.18	3	15.64	5
Ortalama-StndrtSap	11.99	3	15.45	5
Ortalama-2*StndrtSap	11.80	3	15.26	5
Ortalama-3*StndrtSap	11.61	3	15.07	5

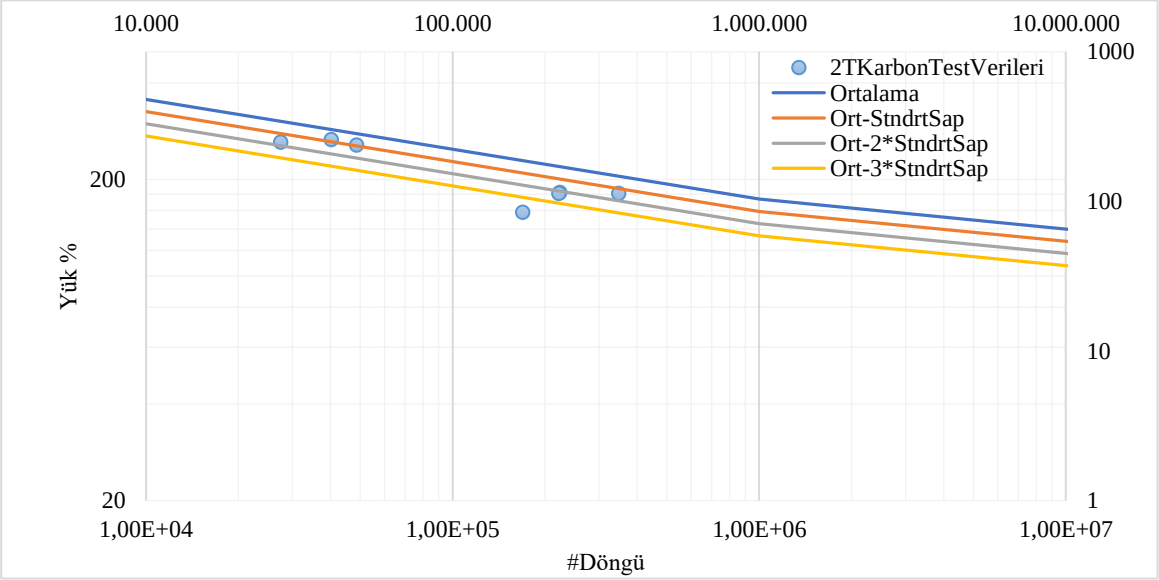
Tablo 12. 3TAK S-N eğrisi parametreleri

S-N Eğrileri	$N<10^6$		$N>10^6$	
	$\log\overline{K}$	m	$\log\overline{K}$	m
Ortalama	11.30	3	14.83	5
Ortalama-StndrtSap	11.10	3	14.63	5
Ortalama-2*StndrtSap	10.90	3	14.43	5
Ortalama-3*StndrtSap	10.70	3	14.23	5

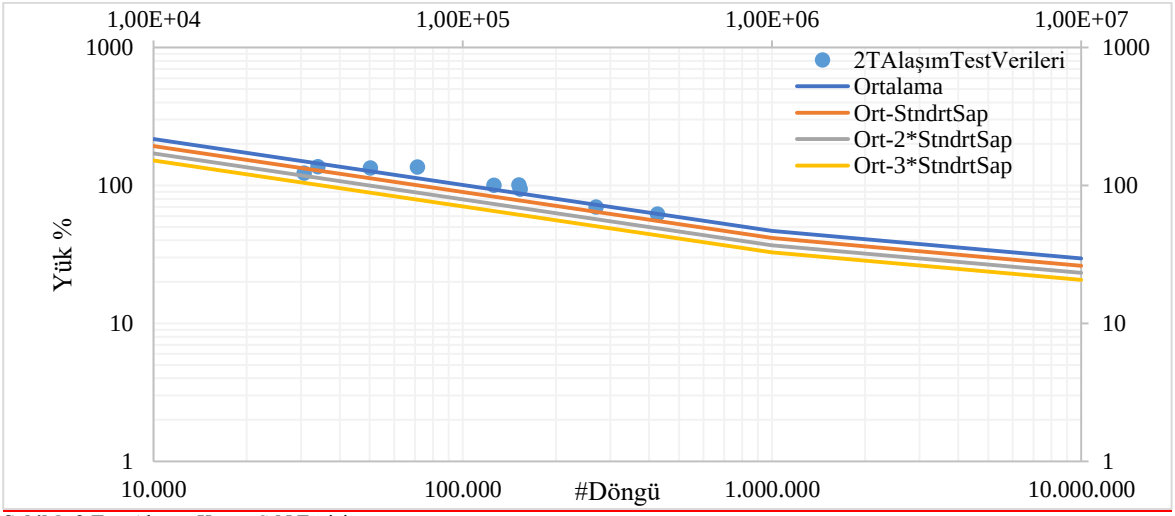
Tablo 13. 15TAK S-N eğrisi parametreleri

S-N Eğrileri	$N<10^6$		$N>10^6$	
	$\log\bar{K}$	m	$\log\bar{K}$	m
Ortalama	11.35	3	14.92	5
Ortalama-StndrtSap	10.77	3	14.77	5
Ortalama-2*StndrtSap	10.19	3	14.61	5
Ortalama-3*StndrtSap	9.61	3	14.46	5

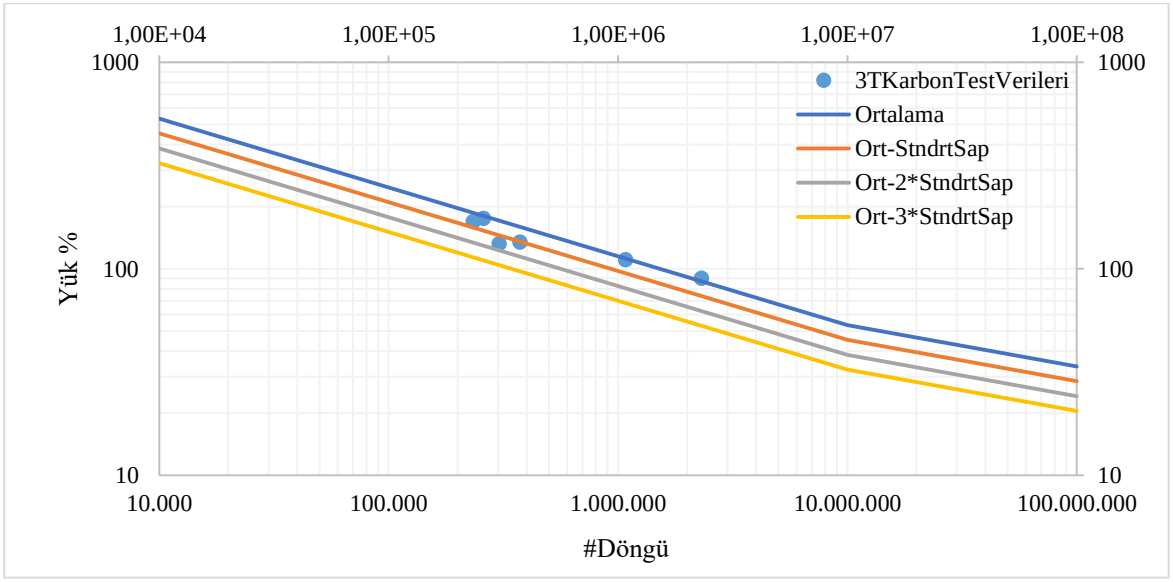
Genel olarak 2 ve 3 tonluk kancaların verileri karşılaştırıldığı zaman, 2 tonluk karbon kancaların belirli bir yük için 2 tonluk alaşım kancadan daha fazla döngüye dayanabildiğini ve 3 tonluk karbon kancaların belirli bir yük için 3 tonluk alaşım kancalardan daha fazla döngüye dayanabildiğini göstermektedir. Aşağıdaki eğrilerde verilen verilerle karşılaştırmalar yapılmıştır. Şekil 17 ve Şekil 18, sırasıyla tüm karbon ve alaşım kancaları için verileri derlemektedir. Şekil 17, test edilen 2 ton, 3 ton ve 25 ton karbon şaft kancaları için birleştirilmiş test sonuçları verileri kullanılarak üretilen S-N eğrilerini göstermektedir. Veri noktaları temsil amacıyla ayrı ayrı çizilmiştir. Şekil 18, 2 ton alaşım, 3 ton alaşım ve 15 ton alaşım kanca içeren test edilen tüm alaşım şaft kancaları için birleştirilmiş test sonuçları verileri kullanılarak oluşturulan S-N eğrilerini göstermektedir. Veri noktaları temsil amacıyla ayrı ayrı çizilmiştir. Tüm karbon kancalar için derlenmiş eğrinin ve 3 ton karbon kanca için S-N Eğrisinin hemen hemen aynı olduğu görülmektedir. Daha büyük kancaların daha az yorulma ömrüne sahip olması beklenilse de, yukarıdaki rakamlar bu eğilimi göstermemektedir. Herhangi bir boyuttaki kanca için S-N eğrilerinin benzer olduğu görülmüştür. Alaşım kancaları için derlenmiş S-N eğrileri, herhangi bir alaşım kancası boyutu için kullanılabileceği ve yorulma tasarımı S-N eğrileri için; ortalamanın standart sapmasının iki veya üç kat daha negatif olması önerilmektedir. Aşağıda verilen tablolar yapılan analizlerden elde edilen test verileri ve yapılan analizlerde 25 tonluk karbon kanca hariç bütün kanca tipleri için elde edilen S-N eğrileri Şekil 12'den Şekil 18'e kadar verilmiştir.



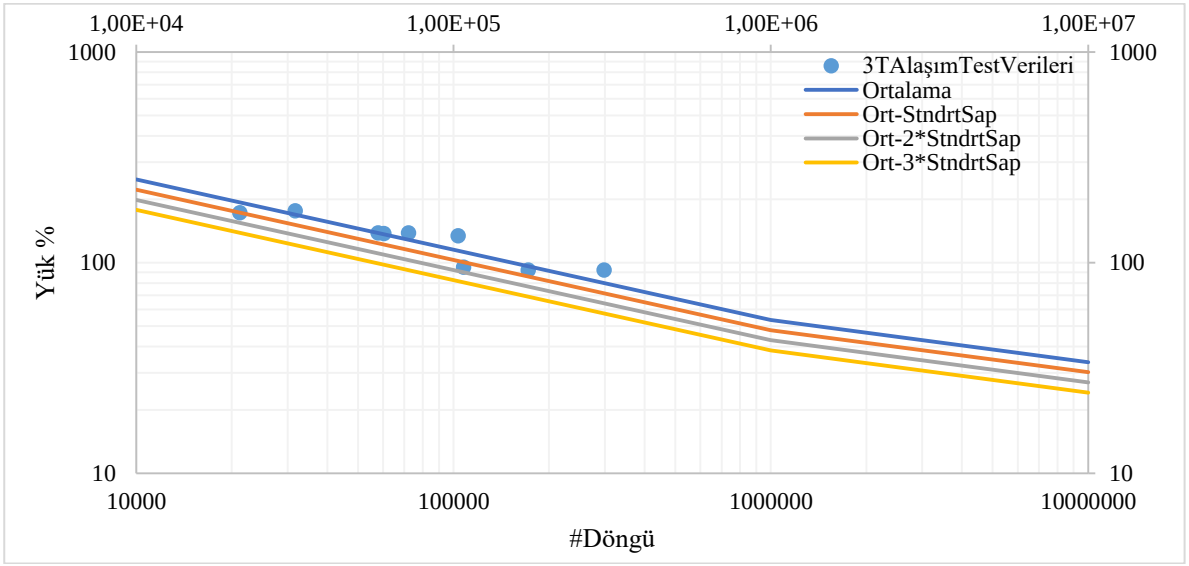
Şekil 1. 2 Ton Karbon Kanca S-N Eğrisi



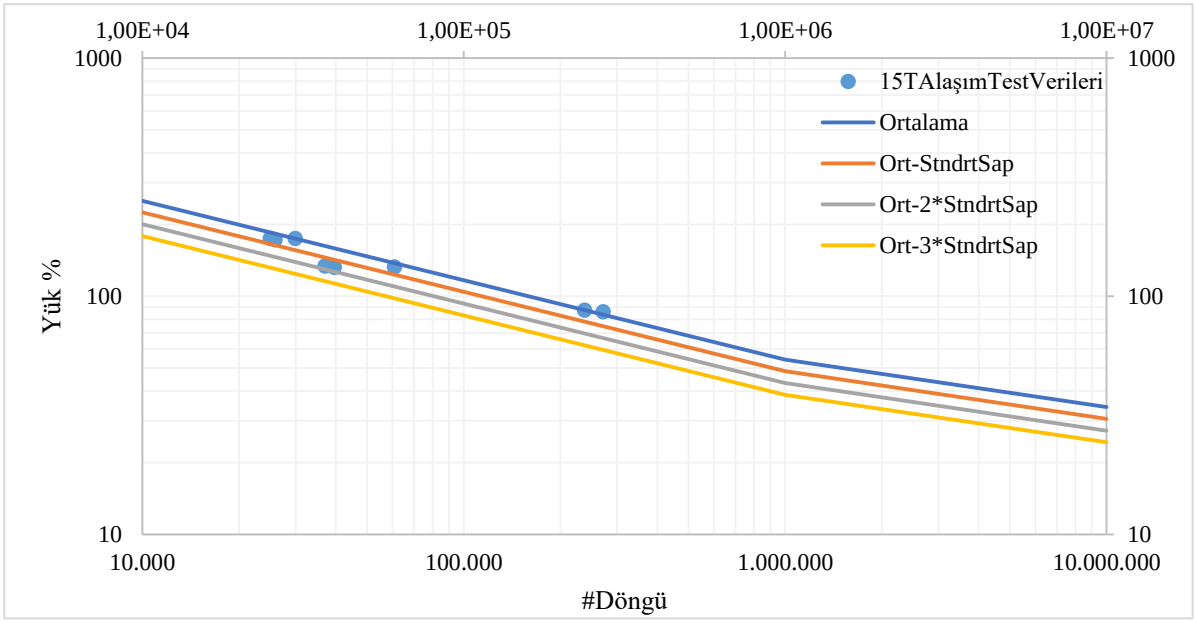
Şekil 2. 2 Ton Alaşım Kanca S-N Eğrisi



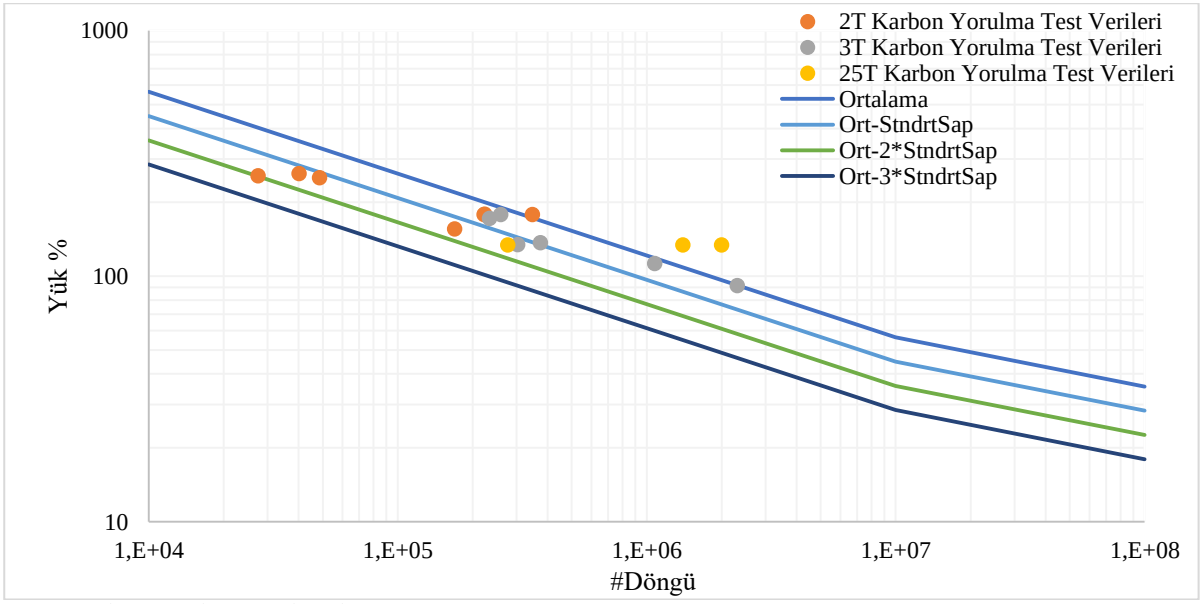
Şekil 3. 3 Ton Karbon Kanca S-N Eğrisi



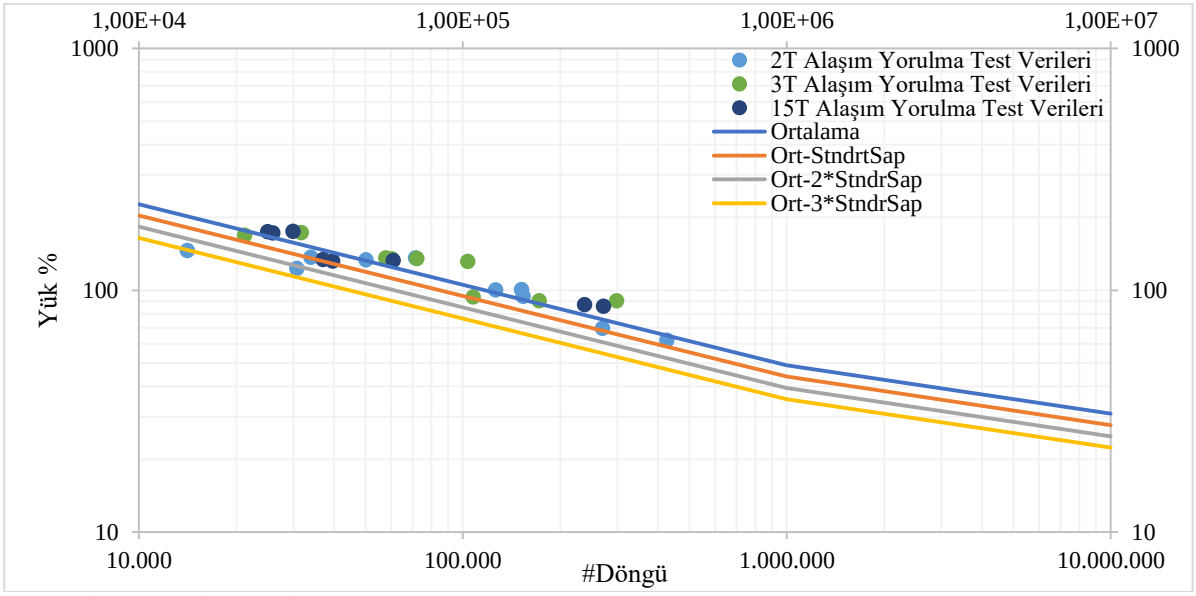
Şekil 4. 3 Ton Alaşım Kanca S-N Eğrisi



Şekil 5. 15 Ton Alaşım Kanca S-N Eğrisi



Şekil 6. Karbon Kancaların Karşılaştırılması



Şekil 7. Alaşım Kancaların Karşılaştırılması

4. SONUÇ

Bu çalışmada seçilen kanca tipleri olan 2 ton karbon, 2 ton alaşım, 3 ton karbon, 3 ton alaşım, 15 ton alaşım ve 25 ton karbon kancalar için 6 adet statik ve 47 adet yorulma testleri yapılmıştır. Statik testler ve yorulma testlerinde alaşım ve karbon malzemeden imal edilmiş kanca tipleri karşılaştırılmıştır. Yorulma testlerindeki veriler kullanılarak elde edilmiş S-N eğrileri ile kanca tiplerine göre yorulma ömürleri irdelenmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen önemli sonuçlar aşağıda verildiği gibidir:

•Statik test sonuçlarında elde edilen en büyük çekme yükü değerleri göz önüne alındığından karbon kancaların alaşım kancalara göre daha yüksek çekme kapasitelerine sahip olduğu görülmüştür.
•Yorulma testine tabii tutulmuş ve tutulmadan statik testleri yapılan kancalar incelendiğinde; bir kanca yük kapasitesinin, düşük çalışma yükü koşullarında yorulma testine tabi tutulduktan sonra önemli ölçüde değişmediği görülmüştür.
•Çalışmada meydana gelen göçmelerin genel olarak 2 farklı bölgede meydana geldiği görülmektedir. Ana göçme tipi olarak kanca gövdesinde meydana gelen göçmeler kabul edilebilir. Diğer göçme tipi ise alaşım kancalarda daha fazla gözlemlenen şaft birleşiminde meydana gelen göçmelerdir.
•Çalışmada elde edilen S-N eğrilerine bakıldığı zaman kanca kapasitesine yani kancanın boyutuna göre yorulma eğrilerinde bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bu, yorulma ömrü göz önüne alındığında kanca boyutunun küçük bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.
•S-N eğrileri incelendiğinde karbon malzemeden imal edilmiş kancaların alaşım malzemeden imal edilmiş kancalara göre daha uzun yorulma ömrüne sahip olduğu görülmektedir.
•S-N eğrileri hem ortalama hem de ortalama-1, -2, -3 standart sapma eğrilerini de içermektedir. Yorulma durumu dikkate alınarak yapılan tasarımlar için ortalama-2 veya ortalama-3 standart sapma durumlarının

dikkate alınması test numuneleri ile arasında olan uyum nedeniyle bu çalışmada önerilmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Sundriyal R. Stress Analysis of Crane Hook with Different Cross Sections Using ANSYS, Int. J. Sci. Res.2017; vol. 6, no. 8, pp. 1363–1368.

[2] Kökçü İ. Kule Vinci Tasarımı ve Analizi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.2015.

[3] Çoktu AK, Ceylan S. Kaldirma araçlarinda iş sağliği ve güvenliği.2012.

[4] Nazlioğlu A. İnşaat sektöründe kullanilan kule vinçler ile yapilan çalişmalarda karşilaşilan risklerin tespiti ve korunma yollari, Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı.2014.

[5] Urul H. Yapı İşyerlerinde Kullanılan Vinçlerle Yapılan Çalışmalarda Alınması Gereken İş Sağlığı ve Güvenliği Önlemleri.2013.

[6] Nazlioğlu A, Karakavak A, Aydos MR, Taş N. Kule vinçlerin güvenli kullanimina ilişkin uygulama rehberi.2018.

[7] Gerdemeli İ. Yük Tutma Elemanları, in Transport Tekniğinde İleri Konular,2019; pp. 1–25.

[8] Anonim. DIN-15400 Lifting hooks; materials, mechanical properties,lifting capacity and stresses. Germany.1990.

[9] Anonim. Dın-17102 Weldable Normalızed Fıne Graın Structural Steels - Technıcal Delıvery Condıtıons For Plate, Strıp, Wıde Flats, Sectıons And Bars. Germany. 1983.

[10] Anonim. Dın-17103 Weldable Fıne Graın Structural Steel Forgıngs - Technıcal Delıvery Condıtıons. Germany. 1989.

[11] Sonsino CM. Course of SN-curves especially in the high-cycle fatigue regime with regard to component design and safety, Int. J. Fatigue,2007; vol. 29, pp. 2246–2258.

[12] Qin YX, Xie WT, Ren HP, Li X. Crane hook stress analysis upon boundary interpolated reproducing kernel particle method, Eng. Anal. Bound. Elem.,2016; vol. 63, pp. 74–81.

[13] Torres Y, Gallardo JM, Domínguez J, Jiménez FJE. Brittle fracture of a crane hook, Eng. Fail. Anal., 2010; vol. 17, no. 1, pp. 38–47.

[14] Vinodh S, Ravikumar R. Application of probabilistic finite element analysis for crane hook design, J. Eng. Des. Technol., 2012; vol. 10, no. 2, pp. 255–275.

[15] Bergaley A, Purohit A. Structural Analysis of Crane Hook Using Finite Element Method, Int. J. Sci. Mod. Eng., 2013; vol. 1, no. 10, pp. 3–7.

[16] Desai N, Zeytinoglu N. Design and Optimization of the Geometric Properties of a Crane Hook, World J. Eng. Technol., 2016; vol. 4, no. August, pp. 391–397.

[17] Sahu S, Dewangan R, Patnaik M, Yadav N. Study of Crane Hook Having Trapezoidal Section by Finite Element Method & Design of Experiments, Int. J. Mod. Eng. Res., 2012; vol. 2, no. 4, pp. 2779–2781.

[18] Liu YB. Prediction of the S–N curves of high-strength steels in the very high cycle fatigue regime, Int. J. Fatigue, 2010; vol. 32, no. 8, pp. 1351–1357.

[19] Richard HA, Sander M. Fundamentals of fracture mechanics, in Solid Mechanics and its Applications. 2016.

[20] Paris WAP, Gomez M, Paris PC, Gomez MP, Anderson WEP. A Rational Analytic Theory of Fatigue, Trend Eng. 1961.

[21] Korkut S. What is a SN-Curve?, Siemens Digital Industries Software, . https :// community. sw.siemens.com/s/article/what-is-a-sn-curve (accessed Apr. 30, 2020).2019.

Derleme https://doi.org/10.46810/tdfd.804336 Review

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Genetiği Değiştirilmiş Bitkilerin Biyogüvenlik Riskleri

Yunus Emre ARVAS[1*], İsmail KOCAÇALIŞKAN[2]

[1] Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
[2] Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye
Yunus Emre ARVAS ORCID No: 0000-0001-6622-5083
İsmail KOCAÇALIŞKAN ORCID No: 0000-0002-7892-206X

**Sorumlu yazar: yunusearvas@gmail.com*

(Alınış: 02.10.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Biyogüvenlik,
GD bitki,
Gen aktarımı,
Biyorisk,
GDO,

Öz: Genetiği değiştirilmiş organizmalar ve ürünleri, artan dünya nüfusu ve gıda ihtiyacından dolayı son çeyrek asırda çağın teknolojik gelişmelerinin neticesinde geliştirilen rekombinant DNA teknolojileri kullanılarak elde edilmektedir. Organizmalara aktarılan yeni kalıtsal materyalden kaynaklanan potansiyel bir riske sahip olabildikleri düşünülmektedir. Bu riskler canlı sağlığına zarar verip vermediği bulaşma veya diğer türler üzerindeki olumsuz etkileri olup olmadığıdır. Söz konusu riskler bulunmasına rağmen çeşitli stres faktörlerine karşı etkin mücadelede başarılı sonuçlar elde edilmiş ve transgenik ürünler küresel olarak büyük bir ekim alanına ve ticaret hacmine ulaşmıştır. Bütün bu olumlu ve olumsuz yanları, kamuoyunun baskısı ile bu ürünlere yönelik biyogüvenlik risklerini ve önlemlerini kapsayan kanuni uygulamaların yürürlüğe girmesine neden olmuştur. Bu kanunların uygulanmasının nedenleri bu tarz çalışmaları belli bir etik çerçeve içine almak, gıda güvenliği ve kalitesini sağlayarak canlılara olumsuz etkilerinin önüne geçmektir. Biyogüvenlik kanunlarının yasal çerçeveleri oluşturulurken bilimsel ve teknolojik gelişmelerin yanı sıra bu ürünlerin avantaj, dezavantaj veya risklerinin açığa çıkarılması ile ilgili etkin bir kamuoyu algısı oluşturma dikkate alınmalıdır. Bu çalışmada bitkisel üretimde genetiği değiştirilmiş organizmalar ve ürünleri ile ilgili yapılan bilimsel araştırma ve geliştirme, biyogüvenlik risk analizi ve önlemleri, biyogüvenlik risk yönetimi ve iletişimi, ürünlerin piyasaya sürülmesi ve izlenmesi, ithalat ve ihracatı gibi genel biyogüvenlik kurallarını kapsayan biyogüvenlik sorunları ve düzenlemeleri tartışılmaktadır.

Biosafety Risks of Genetically Modified Plants

Keywords
Biosafety,
GM plant,
Gene transfer,
Biorisk,
GMO

Abstract: Due to the increasing world population and food need, genetically modified organisms and their products are obtained by using recombinant DNA technologies developed as a result of the technological developments in the last quarter century. It is thought that they may have a potential risk from new genetic material transferred to organisms. It is whether it harms the health of living organism due to these risks, and These risks are whether there are any negative effects on other species. Despite successful results can be achieved against various stress factors, it has not been possible to prevent unintended consequences. In addition to this, productions of transgenic have reached a large plantation area and trade volume globally. All these positive and negative opinions cause legal practices covering the biosafety risks and measures for these products. The reasons for the implementation of these laws are to incorporate such studies into a certain ethical framework, prevent human health and ecological negativities by ensuring food safety and quality. Legal frameworks of biosafety laws should be taken into consideration in order to create an effective public perception regarding the discovery of the advantages, disadvantages or risks of these products as well as scientific and technological developments. In this study, the evaluation, management and communication of the biosafety risks including the research, development, placing on the market, monitoring, import and export of genetically modified organisms and their products are discussed.

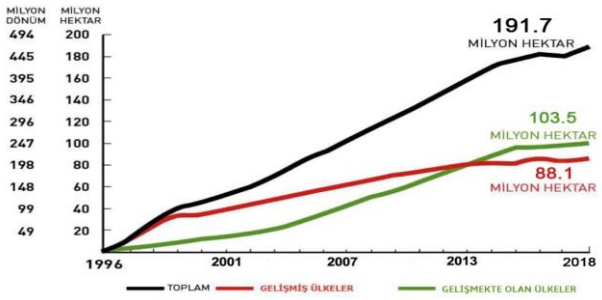
1. GİRİŞ

Tarih boyunca insanlar gıda ihtiyacını karşılamak amacıyla bitkilerden öncelikli olarak faydalanmışlardır. Bitkisel üretimi ve verimi arttırmak için "seleksiyona dayalı ıslah" yöntemi kullanılarak istenilen özelliklere sahip bitkiler yetiştirmişlerdir. Bitkisel üretimi ve verimi arttırmak için yapılan "geleneksel ıslah çalışmaları" ile birlikte ikinci dünya savaşından sonra mutagenez ve genetik mühendisliği gibi yeni biyoteknolojik yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır.

Bitkisel üretimin arttırılması için kullanılan bu metotlar ile bitkilerin zararlılara ve hastalıklara karşı direnç kazanması öncelikli çalışma alanları olmuştur. Ayrıca istenmeyen yabani otların kontrol altında tutulması için herbisitler gibi kimyasal ilaçlar da kullanılmıştır [1-3]. Günümüzde bitkisel ıslah ve gen aktarım çalışmaları genetik mühendisliği yöntemleri kullanılarak yapılmaktadır. Genetik mühendisliği yöntemlerinin kullanımı ilk olarak 1970'li yıllarda başlamasına rağmen ilk ticari bitkisel ürünler 1990'lı yıllardan itibaren ortaya çıkmıştır [4]. Genetik mühendisliği yöntemleri diğer klasik yöntemlere göre bazı avantajları bulunmaktadır. Bu yöntemde gen aktarım çalışmaları sonuçlarının geleneksel ıslah yöntemlerine nazaran daha kısa sürede alınması, daha az maliyetli olması, eşeysel uyum ve yakın akraba bitkilerinin melezlenmesi gibi kısıtlamalar bulunmaması sayılabilecek temel avantajlarıdır.

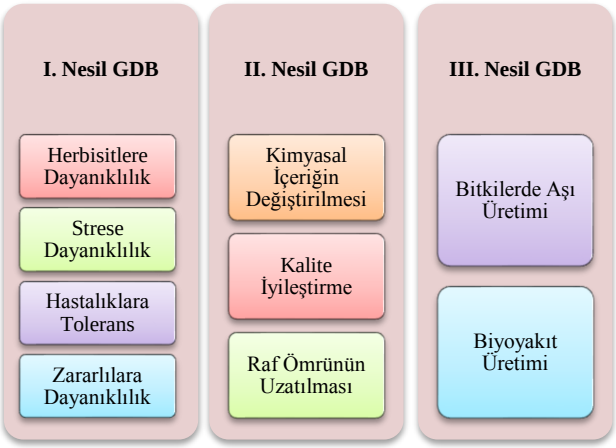
Genetik mühendisliği; modern biyoteknolojik yöntemlerle bitkilere kazandırılmak istenen özellikleri (hastalık direnci, kuraklık direnci vs.) doğadaki yabani formlarından izole edilerek transfer etmesine ya da var olan bir özellikte değişiklik yapılmasına izin vermektedir [1, 5-7]. Günümüzde genetik mühendisliği yöntemleri ile geliştirilen birçok ürün ticari olarak temin edilebilmektedir. Ticareti yapılan en önemli transgenik ürünler; kabayonca (*Medicago sativa*), elma (*Malus domestica)*, kanola (*Brassica napus*), mısır (*Zea mays* L.), pamuk, (*Gossypium hirsutum* L.) papaya (*Carica papaya*), patates (*Solanum tuberosum* L.), soya fasulyesi (*Glycine max* L), kabak (*Cucurbita pepo*), çeltik (*Oryza sativa* L.) ve şeker pancarıdır (*Beta vulgaris*) [8].

Günümüzde transgenik ürünlerin doğrudan veya dolaylı olarak ithalat ve ihracatını yapan 70 ülke bulunmaktadır. Dünya genelinde 2018 yılında 88.18 milyon hektar alanda herbisitlere dayanıklılık gösteren transgenik ürün ekimi 80.5 milyon hektar alanda kombine genler (stacked) olarak adlandırılan birden fazla gen aktarılan transgenik ürünler, 23.3 milyon hektar alanda ise böceklere dirençlilik gösteren transgenik ürün ekimi gerçekleştirilmiştir ve toplamda 191.7 milyon hektarda genetiği değiştirilmiş transgenik bitkisel ürün ekimi gerçekleştirilmiştir (Şekil 1) [9].



Şekil 1. Dünya genelinde üretimi gerçekleştirilen genetiği değiştirilmiş (GD) ürünlerin yıllara göre değişim grafiği (noktadan sonraki kısım yuvarlanmıştır)[10]

Rekombinant DNA teknolojisinin ilk uygulama alanları bitkisel ürünlere biyotik ve abiyotik stres faktörlerine tolerans sağlamak olmuştur. Fakat günümüzde altın pirinç örneğinde olduğu gibi besin içeriğinin artırılması, bitkilerde aşı üretimi ve biyoyakıt elde edilmesi gibi farklı uygulama alanlarına yönelik çalışmalar da yapılmaktadır. Bundan dolayı transgenik bitkiler üç sınıf şeklinde gruplandırılmaktadır (Şekil 2) [11].



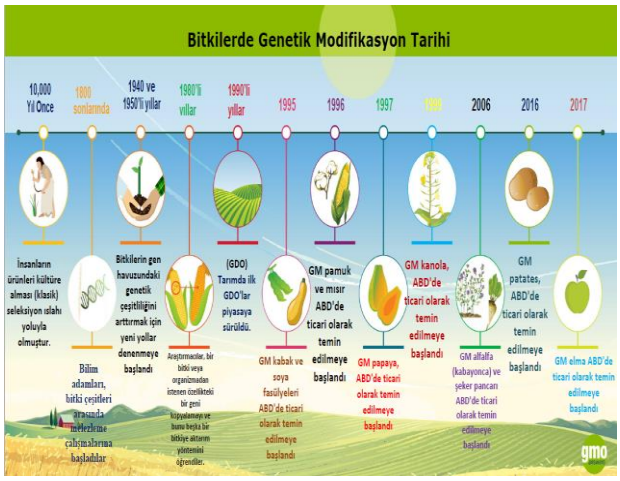
Şekil 2. GD bitkilere aktarılan özelliklere göre sınıflandırılması [11]

2. GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ BİTKİLER (GD BİTKİLER)

1990'lı yıllarda transgenik ya da genetiği değiştirilmiş olarak adlandırılan bitkisel ürünleri elde etmeye yönelik bir artan eğilim gerçekleşmiştir [12]. Çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri ile mücadele etmeye yönelik gen aktarım çalışmaları yapılmıştır [11, 13, 14]. Biyotik stres faktörlerine karşı yapılan çalışmalar çoğunlukla herbisitlere [15, 16], böceklere [17-19], virüslere ve bakterilere [20-23] karşı dirençli transgenik bitkiler elde etmeye yönelik olmuşken, abiyotik stres faktörlerine karşı dirençli transgenik ürün çalışmaları kuraklık [24] ve tuzluluk [25, 26] gibi stres faktörlerine yönelik yapılmıştır. Bunlarla beraber gen susturma yöntemleri [27] kullanılarak da bazı transgenik çalışmalar yapılmıştır. Yapılan transgenik çalışmalar incelendiği zaman yapılan çalışmaların sadece belirli patojenlere yönelik olduğu görülmektedir. Bunun nedeni ise fungal, bakteriyel ve viral patojenlerin farklı karakteristik özellikte çok büyük bir genetik varyasyona (taksonomik ve fizyolojik) ya da genetik çeşitliliğe sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Dolayısı ile bütün hastalıklar veya zararlılar ile mücadele etmeyi sağlayan

bir çözüm bulunması henüz mümkün olmamıştır [28, 29]. Bundan dolayı birden fazla stres faktörüne veya zararlılara karşı etkin dayanıklı ürün elde etmek için kombine genler olarak adlandırılan birden fazla gen aktarım çalışmaları yapılmıştır. Özellikle çeltik bitkisinde bu tarz gen aktarımlarına daha çok rastlanmaktadır [11, 13, 30, 31].

Ticareti yapılan genetiği değiştirilmiş ilk ürün "Flavr Savr" adı verilen domates olmuştur. Domates bitkisine meyvenin olgunlaşması sırasında pektin metabolizmasında rol oynayan en önemli enzimlerden birisi olan poli-galaktronaz (PG) enziminin gen anlatımını düzenleyen bir antisens RNA kullanılmıştır [11, 32-34]. Genetiği değiştirilmiş domatesi ise daha sonra soya, mısır, pamuk, kanola takip etmiştir. 2016 yılında tüm yasal izinleri alınıp piyasaya sürülmesi beklenen patates takip etmiştir [35]. En son bilim dünyasına yapılan açıklamada ise GD elmanın çalışmalarının tamamlandığını ve piyasaya sürülmesi için gerekli karar mercilerine başvuruda bulunulduğu ifade edilmiştir (Şekil 3) [1].



Şekil 3. GD ürünlerin kısa tarihçesi [1]

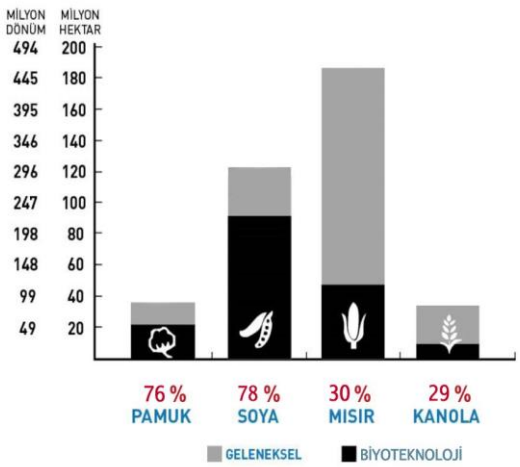
1996-2018 yılları arasında genetiği değiştirilmiş ürünlerin üretimi yaklaşık 113 kat artarak toplam üretim alanı 191.7 milyon hektara ulaşmıştır. Bu nedenle genetiği değiştirilmiş ürünler son yıllarda tarım alanlarına en hızlı adapte olan teknolojik ürünler olarak görülmektedir. 2018 yılında toplam 26 ülkede GD ürün ekimi yapılmıştır (Tablo 1) [8].

Uluslararası Tarımsal Biyoteknoloji Uygulamalarının Kazanımı Servisi (ISAAA) raporuna göre son 10 yıllık süreçte GD bitkilerden en fazla üretilen ve üretimi en fazla artış gösteren ürün soya olmuştur. GD soya çeşitleri, küresel biyoteknoloji alanının yüzde 50'sini oluşturmaktadır. 2018 yılı verilerine göre ürün bazında ise küresel olarak ekim, soya fasulyesinin yüzde 78'si, pamuğun yüzde 76'sı, mısırın yüzde 30'u ve kanola'nın yüzde 29'u GD ürünlerden oluşmaktadır (Şekil 4) [36].

Tablo 1. Dünyada en fazla GD ürün üretimi yapılan ülkeler [36]

Sayı	Ülke	Ekim alanı (milyon hektar)**	Biyoteknolojik ürün
1	**ABD***	75.0	Mısır, soya, pamuk, kanola, şeker pancarı, yonca, papaya, kabak, patates, elma
2	**Brezilya***	51.3	Soya, mısır, pamuk, şeker Pancarı
3	**Arjantin***	23.9	Soya fasulyesi, mısır, pamuk
4	**Kanada***	12.7	Kanola, mısır, soya, şeker pancarı, yonca, elma
5	**Hindistan***	11.6	Pamuk
6	**Paraguay***	3.8	Soya, mısır, pamuk
7	**Çin***	2.9	Pamuk, Papaya
8	**Pakistan***	2.8	Pamuk
9	**Güney Afrika***	2.7	Mısır, soya, pamuk
10	**Uruguay***	1.3	Soya, mısır
11	**Bolivya***	1.3	Soya
12	**Avustralya ***	0.8	Pamuk, kanola
13	**Filipinler***	0.6	Mısır
14	**Myanmar***	0.3	Pamuk
15	**Sudan***	0.2	Pamuk
16	**Meksika***	0.2	Pamuk
17	**İspanya***	0.1	Mısır
18	**Kolombiya***	0.1	Pamuk, mısır
19	**Vietnam**	<0.1	Mısır
20	**Honduras**	<0.1	Mısır
21	**Şili**	<0.1	Mısır, soya, kanola
22	**Portekiz**	<0.1	Mısır
23	**Bangladeş**	<0.1	Brinjal / Patlıcan
24	**Kosta Rica**	<0.1	Pamuk, soya
25	**Endonezya**	<0.1	Şeker pancarı
26	**eSwatini (Svaziland)**	<0.1	Pamuk
	TOPLAM	**191.7**	Mısır, soya, pamuk, kanola, şeker pancarı, yonca, papaya, kabak, patates, elma

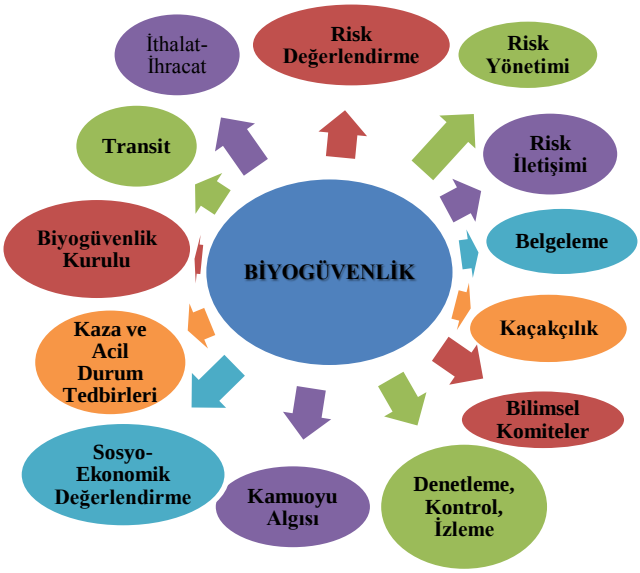
* 18 ülke, en az 50.000 hektar biyoteknolojik ürün ekimini gerçekleştirmektedir. 2017 yılında genetiği değiştirilmiş ürünlerin üretimi 189.8 milyon hektar iken bu oran 2018 yılında 191.7 milyon hektar olarak gerçekleşmiştir. 2017 yılına göre %1'lik bir artış gerçekleşmiştir.
** En yakın yüz bine yuvarlanmış hali.



Şekil 4. En fazla üretilen 4 transgenik ürün [8]

3. BİYOGÜVENLİK

Genetiği değiştirilmiş ürünlerin dünya pazarlarında yaygınlaşması ile birlikte bu ürünlerin doğal çevreye karşı risklerini gösteren olumsuz durumlar söz konusu olmuştur [11, 37, 38]. GD ürünlerin hedeflenen özelliklerin çevre, insan ve hayvan sağlığına olumsuz etkilerinin olduğunun anlaşılması üzerine dünya genelinde bu ürünlere karşı biyogüvenlik sistemi uygulanmasını kaçınılmaz hale getirmektedir [39]. Küresel anlamda genetiği değiştirilmiş ürünler için 2000 yılında "Cartagena Biyogüvenlik Protokolü" oluşturulmuştur [40]. Bu protokolün ortaya çıkış nedeni; GD ürünlerin biyolojik çeşitliliğin korunması ve sürdürülebilir kullanımı üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceğidir. Protokol gereğince; genetiği değiştirilmiş ürünlerin; nakli, üretimi, taşınması ve kullanılması için yeterli koruma düzeyinin sağlanmasına katkıda bulunmak amacıyla kurallar bulunmaktadır. Türkiye, protokole 2004 yılında taraf olmuştur [41]. Türkiye'de bu protokolün taraf olmasından sonra mevzuat ve yasal çerçevelerini oluşturmaya başlamıştır ve 2010 yılında "biyogüvenlik kanunu" olarak adlandırılan kapsamlı bir kanun yürürlüğe girmiştir [42]. Biyogüvenlik "Modern biyoteknoloji tekniklerinin uygulamalarının ve ürünlerinin insan, hayvan ve çevre sağlığı ile biyolojik çeşitlilik üzerinde oluşturabileceği olumsuz etkilerin belirlenmesi ve belirlenen risklerin meydana gelmemesi için nasıl önlemler alınacağını, belirlenen risklerin meydana gelme durumunda oluşacak zararların nasıl kontrol altında tutulması gerektiğini belirten tedbirleri" ifade etmektedir (Şekil 5) [43].



Şekil 5. Biyogüvenlik yasası ile kuralları belirlenen hususlar [39]

Bu tanım ve kanun çerçevesinde amaç; modern biyoteknoloji yöntemleri kullanılarak elde edilen GD ürünlerden dolayı ortaya çıkabilecek riskleri engellemekle birlikte insan, hayvan ve bitki sağlığı ile çevrenin ve biyolojik çeşitliliğin korunması ve bunların sürdürülebilirliğinin sağlanmasıdır. Dolayısı ile Devlet Planlama Teşkilatı tarafından biyogüvenlik "risk değerlendirme" ve "risk yönetimi" olarak tanımlanmaktadır [44].

Biyogüvenlik; GD ürünlerin biyolojik çeşitlilik ve insan sağlığına yönelik olarak doğurabileceği olumsuz sonuçların belirlenmesi sürecini (değerlendirme-izleme-kontrol sistemleri), ortaya çıkabilecek risklerin ortadan kaldırılmasını ya da ortaya çıkan olumsuz sonuçların denetim altında bulunmasını sağlayan önlemleri içerisinde bulunduran bir kavram olarak tanımlamaktadır [42, 45-49]. Sonuç itibariyle transgenik ürünlerin olası risk değerlendirmelerinin yapılıp, kontrol altında tutulması ve bu ürünlerden doğabilecek risklerin minimize edilmesi ya da ortadan kaldırılması ve beklenen azami faydanın sağlanması mümkün hale gelmiştir [39, 50]. Ayrıca genetiği değiştirilmiş ürünlerin üretimi, ithalatı ve ticareti yapılırken transgenik ürünlerin faydaları ve olası riskleri göz önünde bulundurularak, sosyo- ekonomik etkilerinden dolayı etiketlendirilmeleri sağlanarak tüketicinin tercihleri ve talepleri yasal güvence altına alınmıştır [39, 51, 52]. Biyogüvenlik yasası genel olarak; risk tanımı, risk analizi, risk değerlendirme, risk yönetimi ve risk iletişimi olmak üzere beş önemli ana maddeden oluşan tedbirleri ihtiva etmektedir [53-55].

4. BİYOGÜVENLİK RİSKLERİ

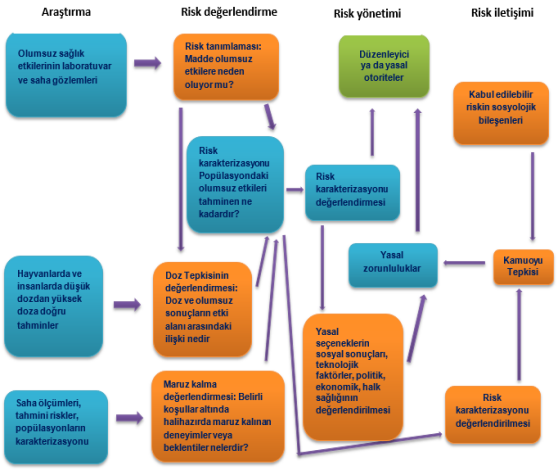
Genetiği değiştirilmiş ürünlerin biyogüvenlik risklerinin olduğu ortaya çıkan olumsuz sonuçlarla tespit edilince bazı yasal düzenlemeler yapılması gerekmiştir [55-57]. Yasal düzenlemelerde ayrıntılı olarak belirtilen en önemli madde "risk"tir. Risk kavramının elbette ki küresel olarak ortak bir tanımının olduğunu söylemek güç olsa da yapılan veya yapılabilecek tanımları mevcuttur. Risk kavramı kısaca "GD bitkilerin ve ürünlerin belli bir süre sonra nasıl bir tehlike oluşturabileceğinin belirlenmesi" olarak tanımlanabilir. Risk olumsuz bir sonuç gerçekleşmesi durumunda büyüklüğünün ve potansiyel sonuçlarının ne olabileceği tahmin edilip önlem alınmasını gerektirir [58-60]. Risk EFSA (European Food Safety Authority) tarafından; zehirlenme gibi hayati olabilecek ani sağlık riskleri, kanserojenler gibi hayati olabilecek ani olmayan riskler, alerjenler ve obezite hastalıkları gibi kronik ve uzun vadeli sağlık riskleri ve son olarak risk olmadığına inanılan ürünler olarak dört kategoride tanımlanmıştır [59]. Risk değerlendirilmesi "tehlike" olarak adlandırılan gerçekleşebilecek olası zararlı özellikleri ve ortaya çıkan tehlikenin etkileri ile büyüklüğünü dikkate almaktadır. Bu nedenle "Risk" bir tehlikenin "büyüklük" ve "muhtemel sonuçlarının" bir ürünüdür [58, 60].

4.1. Risk Değerlendirilmesi

Biyogüvenlik protokolünde risk değerlendirmesi dört aşamalı bir süreç olarak tanımlanmıştır. Belirtilen bu süreçler; olası risklerin ve risk kaynaklarının test, analiz, deneme gibi bilimsel yöntemlerle tanımlanması, niteliklerinin belirlenmesi, değerlendirilmesi ve risk unsurlarının belirlenmesidir. Amaç; Genetiği değiştirilmiş ürünlerin yapısında meydana gelen genetik değişiklikten dolayı, insan, hayvan ve bitki sağlığı, biyolojik çeşitlilik ve çevre üzerinde sebep olabileceği muhtemel etkiler değerlendirilmekte ve sürdürülebilir kullanım için tedbirler alınmasıdır [3, 42, 53, 61, 62].

GD bitkilerinden üretilen ve türetilen ürünler ile ilgili bazı temel endişeler veya problemler bulunmaktadır. Endişelerden bazıları patojenite, toksisite veya alerjenler sebebiyle insan, hayvan veya çevre sağlığına zarar verip vermediği ve süreklilik, bulaşma veya aynı ekolojik bölgede bulunan diğer türler üzerindeki olumsuz etkileri olup olmadığıdır [39, 57, 58, 63-65]. GD ürünlerin geliştirilmesi ve yaygınlaşmasında gıda güvenliği ve çevre sağlığı bakımından bahsi edilen risklerin değerlendirilmesi ve önlemlerin alınması büyük önem arz etmektedir. Risk değerlendirmesinin anlamlı olması için bilimsel dayanaklar içermeli ve yüksek bilimsel standartlar kullanılmalıdır. Tarımsal üretimde Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) ve ürünlerinin kullanımı veya varlığından kaynaklanan risklerin değerlendirmeleri bilimsel yöntemler ve çağın teknolojik imkânları kullanılarak, ilgili konularda disiplinler arası uzman bilim insanlarının karar vermeleri gerekmektedir [11]. Yaygın olarak kullanılan en eski risk değerlendirme yöntemi "vaka- durum" ya da "duruma göre" kabul görmüştü. Bu yöntemde öncelikle problemin ortaya çıkması beklenmekte daha sonra ise bu problemin ortadan kaldırılması sağlanmaktadır. Dolayısıyla bu değerlendirme yöntemi aşamalı olarak azalan fiziksel önlemeye yönelik bir "adım adım" prosedürü içeren risk analizi olarak da görülebilir. Risk değerlendirmesi, sadece ortaya çıkması muhtemel risklerin önlemini almak için değil aynı zamanda olumsuz bir olayın tekrarını önlemek için, nedenini belirlemek veya muhtemel tehlikeli sonuçları tahmin etmek gibi nedenlerden dolayı geriye dönük olabilir [50, 58].

Son yıllarda uygulanan yasal protokoller ve mevzuatlarda belirtilen diğer bir husus ise; bir problem olması durumunda, bütün GD ürünlerin çevreye verilen hasarı geriye döndürmek /elimine etmek ya da tersine çevirmek mümkün olmayabilir bunun için bu ürünlerin ticaretinin yapılması için bazı tedbirler öngörmektedir [42, 66]. Bu tedbirin uygulanmasının amacı ise GDO'ların genetik özelliklerini ve bulunduğu çevre ekolojisi gibi bazı özellikleri temel alınarak sonuçları doğru bir şekilde tahmin edilebilmesidir [59]. GD ürün eldesi için bazı basamaklar belirlenip çalışmaların aşamalı olarak yapılması sağlanmaktadır [18, 52, 67]. Bu aşamalar ise şu şekildedir; İlk önce laboratuvar şartlarında testler yapılır ve düzey belirlenir. Sonraki aşamalarda ise testler daha büyük çapta yapılır. Bu ön testlerden sonra küçük ölçekli bir arazi denemesinin ardından daha geniş ölçekli arazi denemesi yapılır ve yasal düzenleyici otoritenin değerlendirmesine sunulur. Buna göre izin alınabilirse piyasada serbest satışlarına izin verilir (Şekil 6) [32, 39, 58].



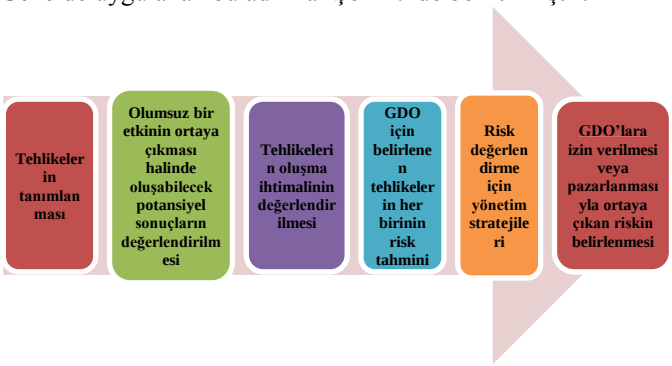
Şekil 6. GD ürünlerde kullanılan risk analizi şeması [58]

Birleşmiş Milletler Çevre Programı Biyoteknoloji Güvenlik Yönergesi (UNEP) organizmaların kullanımını ihtiva eden biyoteknoloji bağlamında, risk değerlendirmesinde aşağıdaki bileşenleri ve aralarındaki etkileşimi içerdiğini düşünmektedir [40].

1. Yeni katılan özelliklerin de dâhil olduğu organizmaların özellikleri
2. Organizmaların nasıl kullanılacağı
3. Etkilenebilecek alanın ve diğer organizmaların özellikleri.

4.1.1. GDO üretiminde risk değerlendirme aşamaları

Netice itibarı ile risk değerlendirmesi yapılırken GDO'ların hem doğrudan (örn; toksik etki ve alerji) hem de dolaylı etkileri (örn; çevredeki diğer organizmalar ile etkileşimden dolayı) göz önünde bulundurulmalıdır. Genelde uygulanan bu adımlar Şekil 7'de belirtilmiştir.



Şekil 7. GDO üretiminde 6 aşamalı risk değerlendirme süreci (UNEP 2003)

4.1.2. Tehlikelerin tanımlanması

Tarımsal üretimde genetiği değiştirilmiş organizmaların rekombinant DNA teknolojileri kullanılarak "yabancı" gen eklendiği göz önünde bulundurularak GDO oluşturulmasında kullanılan vektör ve yöntem, dikkate alınarak olumsuz etkilere sebep olabilecek özelliklerin tespiti yapılır [68]. Transfer edilen genlerin ve/veya kalıtsal materyallerin potansiyel tehlikelerinin tanımlanması yapılır.

4.1.3. Olumsuz bir etkinin ortaya çıkması halinde oluşabilecek potansiyel sonuçların değerlendirilmesi

Bu adımda, GD ürünlerin insanlara veya başka bir türe toksik veya alerjen etkiye sebep olabilecek maddeler tahmin edilmektedir. Ayrıca, toprak / su kimyasındaki değişiklikler veya azot ve karbon geri dönüşümündeki değişiklikler gibi çevresel etkiler, GDO'nun ayrışma süreçleri ile ortaya çıkmaktadır [69]. Aynı derecede endişe duyulan başka bir özellik ise, çevredeki kalıcılığın devam edip etmeyeceğidir yani GDO'ya aktarılan genin herhangi bir ekolojik denge için avantaj sağlayıp sağlayamayacağı ve böylece alıcı ortamın ekolojik dengesini değiştirip değiştirmeyeceğidir [58, 70].

4.1.4. Tehlikelerin oluşma ihtimalinin değerlendirilmesi

Bu basamakta da GDO'ların ıslah çalışmalarının yanı sıra, dikey gen aktarımı ve yatay gen aktarımına neden olup olmayacağıdır. Dolayısı ile genin kaynağı ve muhtemel etkilerinin ne/ler olacağı hakkında net bilgilere sahip olunmalıdır [71]. Ayrıca, gen ifadesinin nesiller boyunca sabit olup olmadığı da anlaşılmalıdır. Aktarılan genin kararlılığı yani nesiller boyunca kalıtımda sürekli görülmesi GDO'nun ortamdaki kalıcılığının ve diğer canlılara olası etkilerinin tahmininde kullanılmaktadır [54, 59, 72].

4.1.5. GDO için belirlenen tehlikelerin her birinin risk tahmini

Risk, tehlikenin büyüklüğünün ve ortaya çıkabilecek muhtemel tehlikelerin bir birleşimidir. Risk büyüklüğü derecelendirilmesi ihmal edilebilir, düşük, orta ve ciddi olarak tanımlanabilir. Ayrıca, tehlikenin gerçekleşme ya da ortaya çıkma ihtimali de aynı şekilde derecelendirilmektedir. Bu derecelendirmeye göre belirlenen "risk yönetim stratejisi" karar vermede yardımcı olmaktadır [59, 67]. Bu değerlendirmeler ülkeden ülkeye farklılık göstermekle birlikte minimum sonuçların görüldüğü GDO'ların marketlerde satılmasına bazı ülkeler izin vermektedir. Örneğin, bazı ülkelerde ortaya çıkabilecek ciddi bir olumsuz etki bile göz ardı edilme ihtimaline sahiptir [60]. Dolayısıyla düşük/orta düzeyler dâhil hatta serbest bırakılan GDO'lar dâhil bütün GD ürünler "risk" kapsamındadırlar. Çünkü herhangi özel bir yönetim uygulamasını garanti edemeyebilirler. Bu nedenle, risk değerlendirmesi çoğu GDO için vaka bazında yapılması gerekmektedir [67].

4.1.6. Risk değerlendirilme için yönetim stratejileri

GDO'larla çalışırken güvenlik sağlamak için fiziksel ve biyolojik koruma stratejileri tasarlanmıştır. Laboratuvar ortamında GDO elde edilirken güvenlik ve performans bakımından kapalı alanlar (seralar), küçük ölçekli saha testleri için alanlar ve son olarak piyasaya sürülmeden önce büyük ölçekli saha denemelerine kadar farklı aşamalar geliştirilmiştir. Risk yönetimi için genellikle bu aşamalar "adım adım prosedür" kullanılır. Bu aşamalardan herhangi birinde olumsuz etki tespit edilmesi halinde transgenik çalışma daha yüksek koruma şartları oluşturularak geri alınıp tekrar çalışılır veya deneme durdurularak çalışma sonlandırılmalıdır [73].

4.1.7. GDO'lara izin verilmesi veya pazarlanmasıyla ortaya çıkan riskin belirlenmesi

Risk kapsam olarak "riskin değerlendirilmesi" ve "etkin risk yönetimi"ni içermektedir. Bu bir anlamda "genel risk" olarak da adlandırılabilir. GDO'ların veya ürünlerinin kasti salınımından kaynaklanan genel risk, GDO'nun alıcı ortamdaki diğer organizmalar ile etkileşimi nedeniyle hem kısa hem de uzun vadeli etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle, genel riskin tahmini, GDO'nun zaman içindeki etkilerinin dikkatli bir şekilde izlenmesine ve belgelenmesine bağlıdır [44].

4.2. Risk Yönetimi

Risk yönetimi ise risk değerlendirme sonucunda öngörülen olumsuz etkilerin ortaya çıkması halinde etki alanının yayılmasını önlemek, oluşacak zararı en aza indirgeyecek şekilde ortadan kaldırmak, ortadan kaldırılamayacak şekilde ise kontrol altında tutmaktır. Ayrıca transgenik olduğu belli olan ürünün izin verilen amaç ve kurallar içerisinde kullanılmasını sağlamak amacıyla alınan tedbirleri ifade etmektedir [74]. Risk yönetiminin amacı, GDO'ları veya ürünlerini piyasaya sürmek için değerlendirilen riskin asgariye indirilmesi veya azaltılmasıdır [59]. Risk yönetimi ile ilgili yapılan uygulamaların en önemli parçasını ise izleme ve belgeleme (kayıt tutma) oluşturmaktadır. GDO'ların alıcı ortamdaki öngörülemeyen etkilerini ve/veya uzun vadeli etkilerini tanımlamak ve kontrol etmek için bu yöntem kullanılmaktadır. İzleme ve belgelemenin diğer önemli bir boyutu ise sosyo- ekonomik boyutudur ki doğrudan tüketicilerin talepleri doğrultusunda kullanılmaktadır [59, 75].

4.3. Risk İletişimi

GDO çalışmalarının en önemli aşamalarından birisini risk iletişimi oluşturmaktadır. Risk iletişimi kısaca kamuoyu algısı olarak ifade edilebilmektedir. Kullanımda güvenlik sorunları olan ancak yüksek güvenlikli gizli tesislerde geliştirilmiş olan nükleer teknolojinin aksine, rekombinant DNA teknolojisinin önde gelen bilim insanları, gelişimin gidişatını ve teknolojinin uygulamalarını belirlemeye halkın katılımını teşvik etmiştir [60]. Bu teşvikler neticesinde özellikle Türkiye gibi bazı ülkelerin kamuoylarında yüksek kaygının oluşması sağlanmış ve GDO'ların düzenlenmesinde, GDO'lardan kaynaklanan ürünlerinin piyasaya güvenli bir şekilde sürülmesinde önemli bir rol oynamıştır [58]. 2000 yılında düzenlenen biyogüvenlik protokolü ve sonrasında geliştirilen veya düzenlenen bütün yasal düzenlemelerde kamuoyunun etkisi çok büyük olmuştur [76]. Çünkü bitkisel üretimde genetiği değiştirilmiş ürünler doğrudan ve/veya dolaylı insan hayatını ve diğer canlı hayatlarını önemli şekilde etkilemektedir. Bundan dolayı tüm paydaşlarla risk iletişimi kamuoyundaki risk algısı için çok önem arz etmektedir. Bu sürecin etkili olması için ister istemez bu süreç amacına uygun, şeffaf ve kesin olmalıdır [58]. GD

ürünler ve genetiği değiştirilmeyen ürünlerin karşılaştırmalı analizleri yapılmalı ve sonuçların açık bir şekilde paylaşılması sağlanmalıdır [77]. Günümüzde yapılan bu tarz çalışmalar neticesinde bir çok ülkede GD ürünlerin etiketlendirilmeleri sağlanmıştır ve tüketimi tüketicinin tercihine bırakılmıştır [11, 13, 58, 78].

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitkisel üretimde kalite ve verimin arttırılması tarih boyunca hep önemini muhafaza etmiştir. Son yüzyılda özellikle ikinci dünya savaşından sonra bitkisel üretim sistemli ve dinamik bir yapıya kavuşmuştur. Tarihte görülen kıtlık ve yokluklardan dolayı ortaya çıkan felaketlerin tekrar etmemesi için kamu otoriteleri sürekli olarak tarımsal stratejiler geliştirmekte ve arz talep dengesini korumaya çalışmaktadırlar. Bundan dolayı mevcut ekilebilir alanların arttırılmaya çalışılması ile beraber bitkisel verim artışı daha önemli hale gelmiştir. Rekombinant DNA teknolojileri kullanılarak elde edilen GD bitkiler de verim artırmak için ortaya çıkan en önemli biyoteknolojik ürünlerdendir. İlk ticareti yapılan transgenik üründen günümüze kadar devam edegelen genetiği değiştirme çalışmaları, beraberinde birçok olumlu ve olumsuz durum getirmiştir. İlk yıllarda gıda güvenliği ile beraber insan, hayvan ve çevre sağlığını tehdit eden çalışmaların yapılması bu transgenik çalışmalar için bazı güvenlik önlemlerinin alınmasını gerekli kılmıştır. 2000 yılında Cartagena Biyogüvenlik Protokolünün imzalanması ile resmen bütün dünya ülkelerinde gen aktarım çalışmalarının dikkat edilmesi gereken çalışmalar olduğu ilan edilmiş ve gerekli tedbirlerin alınması önerilmiştir. Bu kapsamda gıda ve tohum ticareti için yeni bir süreç başlatılmış ve GD ürünlerin kontrolleri daha sıkı bir şekilde takip edilmeye başlanmıştır. Nitekim 2015 yılında 28, 2016 yılında 26, 2017 yılında 24, 2018 yılında 26 (ülke sayısı 2018 yılında artmasına rağmen bazı ülkeler GD ürün ekimini durdurmuş ve farklı ülkeler ilk kez GD ürün ekimi yapmıştır) ülkenin ürün ekimi yapması gösteriyor ki transgenik çalışmaların insan, hayvan ve çevre sağlığı üzerinde istenmeyen yan etkileri bulunmaktadır. Fakat ürün verimi bakımından avantajları bulunduğundan transgenik ürün ekim alanı yıllar geçtikçe artış göstermektedir. Ülkemiz 2003 yılında "Cartagena Biyogüvenlik Protokolü"ne taraf olmuştur. Ayrıca 2010 yılında yürürlüğe giren ve *"GDO ve ürünleri ile ilgili olarak araştırma, geliştirme, işleme, piyasaya sürme, izleme, kullanma, ithalat, ihracat, nakil, taşıma, saklama, paketleme, etiketleme, depolama ve benzeri faaliyetlere dair hükümlerini"* kapsayan biyogüvenlik kanunu gereğince ülkemizde GD ürünlerin ithal edilmesi, ekiminin ve satışının yapılması kanun ile kurulan "biyogüvenlik kurulu"nun iznine tabi tutulmuş olup kanun gereği GD ürünlerin ekimi ve satışı ise yasaklanmıştır. Netice itibari ile Türkiye'de genetiği değiştirilmiş ürünlerden dolayı insan, hayvan ve çevre sağlığı üzerinde kısa vadede ortaya çıkması beklenen herhangi bir olumsuz durum öngörülmemektedir. Fakat yurt dışından ithal edeceğimiz her bir ürünün GD ürün olma ihtimali her geçen gün artış göstermektedir. Bundan dolayı ülkemiz içerisinde ekim yapılabilen alanların tekrar gözden geçirilmesi ve gerekli olan tedbirlerin alınması için yeni bir tarım reformuna ihtiyaç bulunmaktadır. Son yıllarda küresel çapta meydana gelen Coronavirüs (COVID-19) gibi aynı salgın hastalıklar problemin artık bir ülkenin meselesi olmaktan çıkabildiğini göstermektedir. GD bitkiler kıtlık gibi önemli güncel sorunları çözmek için çok etkili yöntemler olarak ortaya çıkmaktadır; ancak biyogüvenlik de aynı derecede önemli bir konudur. Tarımsal Biyoteknoloji araştırmalarının, bilinçli ve güvenli bir şekilde kullanılması durumunda insan yaşamının kalitesini artıracağı bu çalışmamızda belirtildiği gibi çok iyi anlaşılmıştır. Fakat kontrolsüz, sorumsuzca ve biyogüvenlik riskleri dikkate alınmadan kullanılması durumunda; çevre ve insan hayatı başta olmak üzere ekolojik denge üzerinde yıkıcı olumsuz etkileri olabilmektedir. GD bitkilerinde biyogüvenlik sadece güvenli ürün geliştirme açısından değil aynı zamanda teknolojinin güvenli kullanımı için de önem arz etmektedir. Bu nedenle tarımsal üretimde rekombinant teknolojisinin yararlarını en üst düzeye çıkarmak için biyogüvenlik risklerinin ve önlemlerinin kabul edilmesi sağlanmalıdır. GD bitkiler üretiminde karşılaşılacak genel riskler ve tehlikeler; sağlık, sürdürülebilir ekoloji ve sürdürülebilir tarımsal üretim için uzun vadeli biyogüvenlik risklerinin uygun bir şekilde ortadan kaldırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Folta K. What is a GMO? 2018 [Available from: https://gmoanswers.com/what-gmo [Erişim tarihi: 06.07.2018].

[2] Schütte G, Eckerstorfer M, Rastelli V, Reichenbecher W, Restrepo-Vassalli S, Ruohonen-Lehto M, et al. Herbicide resistance and biodiversity: agronomic and environmental aspects of genetically modified herbicide-resistant plants. Environmental Sciences Europe. 2017;29(1):5.

[3] Tappeser B, Reichenbecher W, Teichmann H. Agronomic and environmental aspects of the cultivation of genetically modified herbicide resistant plants. A joint paper of BfN (Germany), FOEN (Switzerland) and EAA (Austria). BfN-Skripten (Bundesamt für Naturschutz). 2014(362).

[4] Rangel G. GMOs SEo, editor. Harvard University2015. [cited 2019]. Available from: http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2015/from-corgis-to-corn-a-brief-look-at-the-long- history-of-gmo-technology/.

[5] Kaya Y, Yilmaz S, Marakli S, Gozukirmizi N, Huyop F. Transformation of Nicotiana tabacum with dehE gene. Journal of Food Agriculture and Environment. 2013;11(3-4).

[6] Kaya Y, Marakli S, Gozikirmizi N, Mohamed E, Javed M, Huyop F. Herbicide tolerance genes derived from bacteria. The Journal of Animal and Plant Sciences. 2013;23(1):85-91.

[7] Aksoy HM, Kaya Y, Tengku Abdul Hamid TH. Expression of the dspA/E gene of Erwinia amylovora in non-host plant *Arabidopsis thaliana*. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2017;31(1):85-90.

[8] ISAAA. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2019: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years. . Ithaca, NY. : The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). 2019.
[9] ISAAA. GM Aproval Database 2019 [Available from: http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/default.asp [Erişim Tarihi: 10.12.2020].
[10] James C. Gobal status of commercialized biotech/GM crops 2017 [Available from: http://www.isaaa.org/default.asp [Erişim Tarihi: 10.12.2020].
[11] Arvas YE. Genetiği Değiştirilmiş Bitkiler ve Tanısı: LAP Lambert Academic Publishing; 2017.
[12] Haspolat I. Genetiği değiştirilmiş organizmalar ve biyogüvenlik. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2012; 59:75-80.
[13] Arvas YE, Kaya Y. Genetiği Değiştirilmiş Bitkilerin Biyolojik Çeşitliliğe Potansiyel Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi. 2019;29(1):168-77.
[14] Ansari MuR, Shaheen T, Bukhari S, Husnain T. Genetic improvement of rice for biotic and abiotic stress tolerance. Turkish Journal of Botany. 2015; 39(6):911-9.
[15] Messeguer J, Marfa V, Catala M, Guiderdoni E, Melé E. A field study of pollen- mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. Molecular Breeding. 2004;13(1):103-12.
[16] Zhang JZ, Creelman RA, Zhu J-K. From laboratory to field. Using information from Arabidopsis to engineer salt, cold, and drought tolerance in crops. Plant physiology.2004; 135(2):615-21.
[17] Wang Y, Li Y, Romeis J, Chen X, Zhang J, Chen H, et al. Consumption of Bt rice pollen expressing Cry2Aa does not cause adverse effects on adult Chrysoperla sinica Tjeder (Neuroptera: Chrysopidae). Biological Control. 2012; 61(3):246-51.
[18] Wang Y, Zhang L, Li Y, Liu Y, Han L, Zhu Z, et al. Expression of Cry1Ab protein in a marker free transgenic Bt rice line and its efficacy in controlling a target pest, Chilo suppressalis (Lepidoptera: Crambidae).Environmental entomology. 2014; 43(2): 528- 36.
[19] Rahman M, Zaman M, Shaheen T, Irem S, Zafar Y. Safe use of *cry* genes in genetically modified crops. Environmental chemistry letters. 2015; 13(3): 239-49.
[20] Tu J, Datta K, Khush G, Zhang Q, Datta S. Field performance of Xa21 transgenic indica rice (Oryza sativa L.), IR72. TAG Theoretical and Applied Genetics. 2000;101(1):15-20.
[21] Tu J, Zhang G, Datta K, Xu C, He Y, Zhang Q, et al. Field performance of transgenic elite commercial hybrid rice expressing Bacillus thuringiensis δ-endotoxin. Nature biotechnology. 2000; 18(10):1101-4.
[22] Rai A, Singh A, Syiem M. Plant Growth-Promoting Abilities in Cyanobacteria.Cyanobacteria: Elsevier; 2019. p. 459-76.
[23] Mukhtar Z, Hasnain S. Transgenic basmati rice transformed with the Xa21 gene shows resistance against bacterial leaf blight. Turkish Journal of Botany. 2017;41(1):1-10.
[24] Jung S, Chung JS, Chon S-U, Kuk YI, Lee HJ, Guh JO, et al. Expression of recombinant protopor phyrinogen oxidase influences growth and morphological characteristics in transgenic rice. Plant growth regulation. 2004;42(3):283-8.
[25] Hur J, Jung K-H, Lee C-H, An G. Stress-inducible OsP5CS2 gene is essential for salt and cold tolerance in rice. Plant Science. 2004; 167(3):417-26.
[26] Matsumura H, Nirasawa S, Kiba A, Urasaki N, Saitoh H, Ito M, et al. Overexpression of Bax inhibitor suppresses the fungal elicitor- induced cell death in rice (Oryza sativa L.) cells. The Plant Journal. 2003;33(3):425-34.
[27] Gupta M, Ram R. Development of genetically modified agronomic crops. The GMO Handbook: Springer; 2004. p. 219-41.
[28] Dickey AS, Spada ARL. Huntington's Disease and Other Polyglutamine Repeat Diseases: Molecular Mechanisms and Pathogenic Pathways. In: Wolfe MS, editor. The Molecular and Cellular Basis of Neurodegenerative Diseases, Underlying Mechanisms: Academic Press. Elsevier; 2018. p. 145-88.
[29] Sandberg MK, Al-Doujaily H, Sigurdson CJ, Glatzel M, O'Malley C, Powell C, et al. Chronic wasting disease prions are not transmissible to transgenic mice overexpressing human prion protein. Journal of General Virology. 2010; 91(10): 2651.
[30] Kok EJ, Pedersen J, Onori R, Sowa S, Schauzu M, De Schrijver A, et al. Plants with stacked genetically modified events: to assess or not to assess? Trends in biotechnology. 2014;32(2):70
[31] Agapito-Tenfen SZ, Vilperte V, Benevenuto RF, Rover CM, Traavik TI, Nodari RO. Effect of stacking insecticidal cry and herbicide tolerance epsps transgenes on transgenic maize proteome. BMC plant biology. 2014;14(1):346.
[32] Arvas YE. Türkiye'deki Yabancı Çeltik ve İşlenmiş Çeltik Ürünlerinde Genetiği Değiştirilmiş Organizmalarla İlgili Genetik Analizler. Yüksek lisans tezi. Samsun- Türkiye: Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2017.
[33] Brady C, McGlasson W, Pearson J, Meldrum S, Kopeliovitch E. Interactions between the amount and molecular forms of polygalacturonase, calcium, and firmness in tomato fruit. Journal of the American Society for Horticultural Science (USA). 1985.
[34] Sheehy RE, Pearson, Judith., Brady, Colin J., Hiatt, William R. Molecular characterization of tomato fruit polygalacturonase. Molecular and General Genetics MGG. 1987;208(1):30-6.
[35] Arvas, YE., Aksoy, HM, Kaya, Y., Patates Bitkisinde Biyoteknolojik Çalışmalar. International

Journal of Life Sciences and Biotechnology, 2018. 1(1): p. 37-47..
[36] ISAAA. Brief 53: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2019.
[37] Falkner R. Biosafety. Essential Concepts of Global Environmental Governance: Routledge; 2020. p. 24-.
[38] Mahmood-ur-Rahman NM, Shahid A, Rao A, Husnain T. Field performance and biosafety studies of segregating generations of transgenic basmati rice (Oryza sativa L.) containing multiple genes from Bacillus thuringiensis. Annals of Agriculture Science (Special Issue). 2014; 1:39-42.
[39] Yılmaz F. Bitkisel Üretimde Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünleri ile Biyogüvenlik. Uzmanlık tezi. Kalınma bakanlığı. Ankara 2014.
[40] UNEP (n.d.) Biosafety and the environment An Introduction to the Cartagena Protocol on Biosafety United Nations Environmental Programme, Nairobi. 2003 [Available from: http://www.unep.org/resources/report/biosafety-and-environment- introduction-cartagena-protocol-biosafety [Erişim Tarihi:10.12.2020].
[41] Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi. Temel Dış Politika Konuları, Türkiye'nin Çevre Politikası, Uluslararası Süreçler ve Türkiye. Biyolojik Çeşitlilik. Dışişleri Bakanlığı. 2011 [Available from: http://www.mfa.gov.tr/biyolojik-cesitlilik.tr.mfa [Erişim Tarihi: 10.12.2020].
[42] Resmi Gazete Biyogüvenlik Kanunu, Sayı: 27533 (2010).
[43] Kefi S. Modern Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik. Bitki Biyogüvenlik Araştırmaları Uygulamalı Eğitim Programı III. Kocaeli: Gebze TÜBİTAK Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü; 2002.
[44] Anonim. (DPT) VIII. Beş Yıllık Kalkınma Planı, Biyoteknoloji Özel İhtisas Komisyonu Raporu: Ulusal Moleküler Biyoloji Modern Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Atılım Projesi Önerisi, Ankara. DPT; 2000.
[45] Kıvılcım Z. Cartagena Protokolü ve Türkiye Biyogüvenlik Mevzuatı. Marmara Avrupa Araştırmaları Dergisi. 2012;1(20):99-121.
[46] Anonim. (DPT) Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı Kırsal Kalkınma Özel İhtisas Komisyonu Raporu. In: Devlet Planlama Teşkilatı KKÖİK, editor. Ankara: DPT; 2000.
[47] Eryurt OM. GDO'lu Gıda ve Yem Ticaretinde Yaşanan Sorunlar ve Çözüm Önerileri. Ankara 2015.
[48] Güngören AV. Genetiği Değiştirilmiş Tarım Ürünlerinin Türkiye Açısından Değerlendirilmesi. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2012.
[49] Alamnie G, Andualem B. Biosafety Issues of Unintended Horizontal Transfer of Recombinant DNA. Genetic Transformation in Crops: Intech Open; 2020.
[50] Domingo JL. Safety assessment of GM plants: An updated review of the scientific literature. Food and chemical toxicology. 2016;95:12-8.
[51] Erdoğdu MS. Cartagena Biyogüvenlik Protokolünün Getirdikleri ve Türk Mevzuatına Etkileri. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2004.
[52] Schnell J, Steele M, Bean J, Neuspiel M, Girard C, Dormann N, et al. A comparative analysis of insertional effects in genetically engineered plants: considerations for pre- market assessments. Transgenic research. 2015;24(1):1-17.
[53] Başkaya R, Keskin Y, Karagöz A, Koç Hİ. Biyogüvenlik. TAF Preventive Medicine Bulletin. 2009;8 (2) s 177-86.
[54] Layton R, Smith J, Macdonald P, Letchumanan R, Keese P, Lema M. Building better environmental risk assessments. Frontiers in bioengineering and biotechnology. 2015;3:110.
[55] ACRE. Advisory Committee on Releases to the Environment (ACRE) Report 3 (2013). Towards a more effective approach to environmental risk assessment of GM crops under current EU legislation. 2013 [Available from: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/239893/more-effective-approachgmo-regulation.pdf. [Erişim Tarihi: 10.12.2020].
[56] Kaya Y, Yilmaz S, Gozukirmizi N, Huyop F: Evaluation of transgenic Nicotiana tabacum with dehE gene using transposon based IRAP markers. American Journal of Plant Sciences 2013, 4(08):41.
[57] De Schrijver A, De Clercq P, de Maagd RA, van Frankenhuyzen K. Relevance of Bt toxin interaction studies for environmental risk assessment of genetically modified crops. Plant biotechnology journal. 2015;13(9):1221-3.
[58] Nambisan P. An Introduction to Ethical, Safety and Intellectual Property Rights Issues in Biotechnology: Academic Press; 2017.
[59] EFSA. When Food is Cooking up a Storm. Proven Recipes for Risk Communications 2012 [Available from: https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/riskcommguidelines170524.pdf [Erişim Tarihi: 10.12.2020].
[60] Aytekin ND. AB Gida Güvenilirliğinde Risk İletişimi, Kamuoyunun Bilgilendirilmesi ve Türkiye'nin Durumu. Ankara 2015.
[61] Bardocz S, Pusztai A. Post-commercialization testing and monitoring (or post-release monitoring) for the effects of transgenic plants. Biosafety First Holistic Approaches to Risk and Uncertainty in Genetic Engineering and Genetically Modified Organisms (edited by Traavik T, Ching LL) Trondheim, Tapir. 2007:507-20.
[62] Heinemann JA, Agapito-Tenfen SZ, Carman JA. A comparative evaluation of the regulation of GM crops or products containing dsRNA and suggested improvements to risk assessments. Environment International. 2013; 55:43-55.
[63] Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, Gress S, Defarge N, Malatesta M, et al. Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerantgenetically modified maize. Environmental Sciences Europe. 2014;26(1):14.

[64] Samsel A, Seneff S. Glyphosate's suppression of cytochrome P450 enzymes and amino acid biosynthesis by the gut microbiome: pathways to modern diseases. Entropy. 2013;15(4):1416-63.
[65] Baktavachalam GB, Delaney B, Fisher TL, Ladics GS, Layton RJ, Locke ME, et al. Transgenic maize event TC1507: Global status of food, feed, and environmental safety. GM crops & food. 2015;6(2):80-102.
[66] ICH. Guideline for good clinical practice E6(R1). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R1_Guideline.pdf [Erişim Tarihi: 10.12.2020]
[67] Institute T. Protocol risk assessment and monitoring guidelines. Clinical and Translational Research Center 2008 [Available from: https://tracs.unc.edu/docs/regulatory/CTRC_Protocol_Risk_Assessment_Guidelines.pdf. [Erişim Tarihi:10.12.2020].
[68] Bergeson LL, Campbell LM, Dolan SL, Engler RE, Baron KF, Auerbach B, et al. The DNA Of the U.S. Regulatory System: Are We Getting It Right for Synthetic Biology? 2015 http://www.synbioproject.org/site/assets/files/1388/synbio_reg_report_final.pdf? [Erişim Tarihi:10.12.2020].
[69] Kesselman VSG, Ojeda ODC. Risk assessment of a genetically modified Escherichia coli bacteria to a biosensor for the detection of copper in water for educational and research purposes. 2014.
[70] Pellegrino E, Bedini S, Nuti M, Ercoli L. Impact of genetically engineered maize on agronomic, environmental and toxicological traits: a meta-analysis of 21 years of field data. Scientific reports. 2018;8(1):1-12.
[71] Krimsky S. Risk assessment of genetically engineered microorganisms: From genetic reductionism to ecological modelling. Coping with Deliberate Release: The Limits of Risk Assessment, Tilberg, ICHPA. 1996:33-45.
[72] Ellstrand NC. Is gene flow the most important evolutionary force in plants? American journal of botany. 2014;101(5):737-53.
[73] Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council (2001). Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC - Commission Declaration., (2001).
[74] Gözükırmızı N. Biyogüvenlik Sistemlerinin oluşmasında Türkiye'deki durum., Bitki Biyogüvenlik Araştırmaları Uygulamalı Eğitim Programı III. Gebze-Kocaeli: TÜBİTAK Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü; 2002.
[75] Türkoğlu S. Avrupa Birliğinde Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Yeni Gıdalara İlişkin Yasal Düzenlemeler. Ankara2007.
[76] Myhr AI. The precautionary principle in GMO regulations. Biosafety First. 2007:457.
[77] Querci M, Mazzara M. Characteristics of RoundUp Ready Soybean, MON810 maize and Bt-176 maize. The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms (Querci M, Jermini M and Eede Den GV, eds) European Commission Joint Research Centre, Luxemburg. 2006:11-6.
[78] Anonymous. (United Nations) World Urbanization Prospects: The 2017 Revision Population Database, New York. 2017 https://esa.un.org/unpd/wpp/DVD/ Erişim Tarihi [10.12.2020].

Cilt 9, Sayı 2, Sayfa 211-220, 2020 Volume 9, Issue 2, Page 211-220, 2020

Derleme https://doi.org/10.46810/tdfd.810214 Review

Türk Doğa ve Fen Dergisi
Turkish Journal of Nature and Science
www.dergipark.gov.tr/tdfd

Gıdaların Raf Ömürleri İçin Yeni Bir Yaklaşım: Arı Ürünleri İle Yenilebilir Kaplamalar

Esra MESCİ [1*], Nevzat ESİM [2]

[1] Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Arı ve Arı Ürünleri Ana Bilim Dalı, Bingöl, Türkiye
[2] Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl, Türkiye
Esra MESCİ ORCID No: 0000-0003-2020-9891
Nevzat ESİM ORCID No: 0000-0001-5121-092X

**Sorumlu yazar: nesim@bingol.edu.tr*

(Alınış: 13.10.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler
Arı ürünleri, Raf ömrü, Gıda, Yenilebilir kaplama, Propolis

Öz: Arıcılık faaliyetleri sonucu üretilen ürünler hem insan beslenmesi için hem de ekonomik olarak büyük önem taşır. Bu ürünler gıda, kimya, sağlık, kozmetik alanlarında geniş kullanıma sahiptir. Arıcılıkta üretimi en çok bilinen ve yapılan ürünler bal ve bal mumudur ancak polen, propolis, arı sütü, arı zehri ve arı ekmeği (perga) ticari değeri olan diğer önemli arı ürünlerdir. Yenilebilir ambalajlar; gıdaların raf ömürlerinin uzatılması özelliklerine sahip olan ve kapladıkları gıdalarla tüketilebilir olan ambalajlardır. Bunlar; film, kaplama, tabaka ya da torba olarak üretilebilir. Yenilebilir kaplamada polisakkaritler, lipidler, proteinler, organik çözücüler, plastikleştiriciler, antioksidan ajanlar, antimikrobiyal ajanlar ve yüzey aktif maddeleri kullanılmaktadır. Yenilebilir kaplamalar, işlenmiş gıdalarda duyusal özellikleri iyileştirilmek için renk ve aroma bileşiklerinin taşıyıcısı olarak da kullanılabilir. Son yıllarda yenilebilir kaplamalarda etkili ve güvenilir kaplamalar yapmak için arı ürünleri de kullanılmaktadır. Mevcut kaplama materyalleri arı ürünleriyle birleştirilerek kaplamanın işlevsel özellikleri geliştirilebilir. Arı ürünleri içeriğindeki biyoaktif bileşenler kaplama materyalleri ile etkileşime girerek mevcut kaplamanın bariyer özelliklerini, esnekliğini, yapısal özelliklerini arttırmaktadır. Arı ürünleri; antibakteriyel, antioksidan, antitümoral ve antiviral özellikteki aktif ajanlar içerir. Aktif ajanlar için taşıyıcı sistemler olarak kullanılan yenilebilir film ve kaplamaların etkinliği kullanılacak arı ürünlerinden dolayı daha da artabilir. Bu nedenle, bu makalede arı ürünlerinden hazırlanan yenilebilir kaplama materyalleri üzerine yapılan literatür çalışmalarının gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

A New Approach to Shelf Life Of Food: Edible Coatıngs With Bee Products

Keywords
Bee products, Shelf life, Food, Edible coating, Propolis

Abstract: Products produced as a result of beekeeping activities are great importance both human nutrition and economically. These products are widely used in food, chemistry, health and cosmetics. The most known and produced products in beekeeping are honey and wax, but pollen, propolis, royal jelly, bee venom and bee bread (perga) are important bee products with commercial value. Edible packaging are packages that extending the shelf life of foods and can be consumed with the food they cover. These can be produced as a film, coating, layer or bag. Polysaccharides, lipids, proteins, organic solvents, plasticizers, antioxidant agents, antimicrobial agents and surfactants are used in edible coating. Edible coatings can also be used as carriers of color and flavor compounds to improve sensory properties in processed foods. In recent years, bee products have also been used to form effective and reliable coatings for edible coatings. The functional properties of the coating can be enhanced by combining existing coating materials with bee products. Bioactive components in bee products interact with coating materials and increase the barrier properties, flexibility and structural properties of the existing coating. Bee products contain active agents with antibacterial, antioxidant, antitumoral and antiviral properties. The efficiency of edible films and coatings used as carrier systems for active agents can further increase due to the bee products to be used. Therefore, it is aimed to review the literature on edible coating materials prepared from bee products in this article.

1. GİRİŞ

1.1. Arıcılık

Arıcılık, toprağa doğrudan gereksinim duymayan bir tarımsal iş kolu olup arının genelde bitkisel kaynakları kullanılarak bal, balmumu, polen, propolis, arı sütü, arı ekmeği, arı zehri, gibi ürünler üretme faaliyetidir. Canlılığın gelişim süreçleri incelendiğinde 100 milyon yıldan beri bal arıları bal yaptıkları tahmin edilmektedir. İspanya'nın Valencia bölgesinde elde edilen ilk kayıtlara göre, arıcılık ile ilgili bilgiler MÖ 7.000'li yıllarına kadar gidilmektedir. Gezgin arıcılık ile ilgili kayıtlar Mısır'da Nil Nehri civarında yapıldığına dair kanıtlar bulunmaktadır. Ayrıca yapılan incelemelerde firavun mezarında 3200 yıllık kurumuş bal tespit edilmiştir. Kayıtlara göre Anadolu'da 3000 yıl önce Sümerler ilaç olarak balı kullandıkları tespit edilmiştir. Günümüzde bile kullanılan 'Bal gibi adam' deyiminin Sümerlerden kalan tabletlerde geçtiği tespit edilmiştir. Bal arıları Kuzey Amerika'ya 1638, Avustralya'ya 1822 ve Yeni Zelanda'ya 1842 yıllarında özellikle Avrupa'dan göç eden insanlar tarafından götürülmüştür [64]. Tüm bu veriler arıcılığın insanlık tarihinin en eski mesleklerinde biri olduğunu göstermektedir.

Arıcılık az sermaye ve işgücüne ihtiyaç duyulan tarımsal ekonomik faaliyettir. Verimli ve sulanabilen toprağa doğrudan gereksinim duyulmadığından tarımsal amaçlı kullanılmayan ve işlenmeyen alanların değerlendirilmesine olanak sağlar. Arıcılık diğer üretim alanlarıyla kıyaslandığında kolayca pazarlanabilir ve oldukça kısa sürede gelir getiren bir meslektir. Arıcılık faaliyetleri sonucu üretilen ürünler hem insan beslenmesi hem de ekonomik olarak büyük önem taşır. Bu ürünler gıda, kimya, sağlık, kozmetik alanlarında geniş kullanıma sahiptir. Bal arıları polinasyona katkısı ile bitkisel verimliliğe doğrudan katkı sağlar. Gerek doğal gerekse tarımı yapılan bitkilerde arıların sağladığı tozlaşma hizmetleri tarımsal ürünlerin kalite ve verimini artırır. Bal ve diğer arı ürünleri, canlı materyaller, arıcılık ekipmanları sanayi iş kolları ve istihdam oluşumuna yol açarak ülkelerin ekonomilerine büyük katkı sağlar.

Dünya genelinde dünya gıda örgütünün verilerine 2018 yılı verilerine göre dünya genelinde toplam 92 milyon koloni ile kovan başına ortalama 20 kg bal üretilmektedir. Toplam üretilen bal miktarının 1 milyon 850 bin ton olduğu belirtilmiştir. Dünyada koloni sayısı bakımından 13 milyon koloni ile Hindistan en fazla kolonin olduğu ülke konumundadır. Üretilen bal miktarı bakımından ise yaklaşık 450 bin ton ile Çin birinci sıradadır. Türkiye sahip olduğu 8 milyon koloni ile dünyada üçüncü sıradayken yaklaşık 115 bin ton bal üretimi ile dünyada Çin'den sonra ikinci sıradadır.

Türkiye'nin sahip olduğu zengin bitki örtüsü, doğa koşulları, iklimsel özellikleri nedeniyle arıcılık önemli faaliyetlerden biri olup gezgin ve sabit arıcılığa uygundur. Türkiye konumu itibariyle üç farklı fitocoğrafik bölgenin kesişimde bulunduğundan florası oldukça zengindir. Bal arıları için nektar ve polen kaynağı olabilen çok sayıda bitki bulunmakta ve bunlar içinde çok sayıda endemik tür de vardır. Arıcılık faaliyetlerinde bu zengin floral kaynak Türkiye arıcılığına çok büyük avantajlar sağlamaktadır. Dünyada bilinen bal arısı ırklarının yaklaşık %20'sinin anavatanı Anadolu'dur. Türkiye dünyada iyi bilinen *Apis mellifera anatolica*'nın gen merkezi konumundadır. Türkiye de arıcılık faaliyetlerinde Kafkas, Karniol, Anadolu, İtalyan ve Hibrit Belfast başta olmak üzere farklı arı ırkları kullanılmaktadır. Ayrıca son zamanlarda Muğla arısı olarak tescillenen ve çam balı üretiminde kullanılan yeni bir arı ırkı da kullanılmaktadır.

1.2. Arı ürünleri

Bal arıları çevre dengesi ve besin sağlayan pek çok bitkinin polinasyonun yanı sıra ürettiği bal ve diğer arı ürünleri ile insanlara pek çok yarar sağlar. Arıcılıkta üretimi en çok bilinen ürünler bal ve bal mumudur ancak polen, propolis, arı sütü, arı zehri ve arı ekmeği (perga) ticari değeri olan önemli arı ürünlerdir.

1.2.1. Bal

Arılarının genel olarak bitkilerin generatif organları olan çiçeklerin nektarlarını ve bitkilerin veya üzerlerinde yaşayan bazı canlıların salgılarını toplayıp bir seri işlemden geçirdikten sonra petek gözelerinde depoladığı maddeye bal denir [1]. Bal, başta karbohidrat ve su olmak üzere mineraller, proteinler, aminoasitler (prolin, alanin, lisin), serbest yağ asitleri, enzimler (invertaz, diastaz, glukoz oksidaz), vitaminler (B1, B2, B3, C) organik asitler (glukonik, formik, asetik asit), fenolik bileşikler (flavonoidler, fenolik asitler) içerir [2]. İçeriğinde bulunan aktif bileşenlerle bal antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antiviral, yara iyileşme, sindirim sistemi üzerine, kalp ve damar hastalıklarına karşı olumlu etkileri olduğu rapor edilmiştir [3].

1.2.2. Polen

İşçi arıların topladıkları bitki polenleri ile oral salgıların birleştirmesiyle oluşturdukları polen topağını kovana getirmesi sonucu arı poleni oluşmaktadır. Arı poleni işçi arılar tarafından kovan girişinde toplanırlar. Arı kolonileri protein kaynağı olarak arı poleni kullanırlar [4]. Polen kompleks bir yapı olup içerisinde 250'den fazla madde bulunmuştur [5]. Su, protein, aminoasit (prolin, hidroksiprolin), karbohidrat, lipitler, mineraller, flavonoidler, polifenoller, vitaminler ve karotenoidler arı poleninde bulunan bileşenlerdir [6]. Polenin antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antiinflomatuvar, antitümoral, hücre duvar koruyucu gibi pek çok özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucu bulunmuştur [7,8].

1.2.3. Propolis

Propolis, arıların bitki tomurcukları ve diğer bitki dokularından reçine toplayarak, balmumu, polen ve arı tükürüğündeki bazı enzimlerle karıştırıp değişikliğe uğrattığı bir maddedir [9]. Propolis içeriğinde pek çok biyo-aktif madde bulunmuştur. İçeriği yüksek miktarda reçine ve balsamdan oluşur. Bu reçinemsi kısımda

fenolik bileşikler, esterler, alkoller, aldehitler, aminoasitler, çeşitli mineral, vitaminler, aminoasitler, yağ asitleri ve bazı enzimler bulunur [10]. İçeriğinde bulunan bileşikler ve miktarlarına bağlı olarak propolis; antikanser, antiinflomatuvar, antibakteriyel, antiviral, antifungal, anestetik, sitostatik ve antioksidan etkiler gösterir [11].

1.2.4. Arı sütü

Arı sütü (royal jelly), genç işçi arıların hipofarengial ve mandibular salgı bezlerinden salgılanan ve larvaları beslemek için kullanılan bir salgıdır. Kraliçe arı ömrü boyunca arı sütü ile beslenirken, bakıcı arılar sadece 3 gün arı sütü ile beslenirler. Arı sütü beyazımsı sarı renktedir. Kokusu keskin olup tadı ekşidir [12]. Arı sütü kuru maddesinin büyük kısmını karbohidrat ve proteinler oluşturur. İnsanlar için gerekli tüm esansiyel aminoasitleri içerir. Lipitler, yağ asitleri, mineraller, organik asitler, polifenolik bileşenler, eser elementler ve vitaminler de bulunur [13]. Arı sütün içeriğindeki bileşenler antibakteriyal, antiviral, fungisidal, sinir sistemi düzenleyici, antidiyabetik, antitümör, antioksidan, bağışıklık sistemini düzenleyici gibi pek çok etkilere sahiptir [14].

1.2.5. Arı zehri (venom)

Arı zehri (apitoksin), arıların karın boşluğunda yer alan zehir bezlerinde üretilen kompleks bir kimyasaldır. İçeriğinde önemli biyo-aktif bileşenler bulunur. Arı zehri, %88 su ve sadece 0.1 µg zehirden oluşur. Ayrıca peptitler (mellitin, apamin vb.), enzimler (fosfolipaz A2, hiyaluronidaz vb.) ve aktif aminler, aminoasitler, glukoz, fruktoz, uçucu bileşenler arı zehrinde bulunur [15]. Arı zehri, içeriğinde bulunan bu bileşenler sayesinde antimikrobiyal, sinir sistemini düzenleyici ve radyasyondan koruyucu etki göstertir. Dahası, başta multiple skleroz (MS) ve romatoid artrit olmak üzere, ortopedik hastalıkların tedavisinde, deri kanseri, egzama, radyasyondan kaynaklanan hasarı azaltmada, epilepsi, damar tıkanıklığı, migren ve sinüzit tedavisinde de kullanılmaktadır [16,17].

1.2.6. Arı ekmeği (perga)

Arı ekmeği (perga), arılar tarafından toplanan ve çeşitli salgılarla karıştırılarak kovana taşınan polenin, bal ve balmumu ile korunmasıyla yapılır. Bu karışımın, çeşitli enzimler, mikroorganizmalar, nem ve sıcaklığın etkisi ile fermantasyonu gerçekleşir ve oluşan ürüne arı ekmeği adı verilir [18]. Arı ekmeğinin içeriği biyokimyasal olarak üretildiği polene benzemektedir. Su, protein, esansiyel aminoasitler, lipit, karbohidrat, mineraller, vitaminler, laktik asit, karotenoidler, antosiyanin, flavonoid gibi polifenoller, doymamış alifatik asitler, alkoller, aldehitler ve ketonlar perga içeriğinde bulunur [19]. Antimikrobiyal, antioksidan, hepatoprotektif, immünmodülatör, adaptojenik ve radyasyon önleyici özelliklere sahiptir. İnsan vücudundaki koruyucu mekanizmaları uyarır, metabolizmayı normalleştirir, karaciğer, sinir ve endokrin sistem fonksiyonları üzerinde pozitif etkiye sahiptir [20].

Ticari değeri olan arı ürünlerini insanlar genel olarak gıda, kozmetik, sağlık vb. alanlarda kullanmaktadırlar. Arı ürünlerinin sahip olduğu antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı son zamanlarda diğer gıda maddelerinin raf ömrünü uzatmak için kullanımı da ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada arı ürünlerinin diğer gıda maddelerinin korunması ve raf ömrünün uzatılması için kullanılma potansiyelleri daha önce yapılan çalışmalar incelenerek genel bir değerlendirme yapılmıştır.

2. YENİLEBİLİR KAPLAMA/FİLM

Gıdaların ambalajlanmasında kullanılan malzemelerin gıdalarla tüketilmesi ve kaplandıkları gıdaların raf ömürlerini uzatması özelliklerine sahip olan ambalajlara yenilebilir ambalajlar denilir. Bunlar; film, kaplama, tabaka ya da torba olarak üretilebilir. Yenilebilir filmler, önce ince katı tabaka oluşturulur daha sonra gıda ürününe bir sargı olarak uygulanır. Yenilebilir kaplamalar, gıdanın kaplama çözeltisi içine daldırılmasıyla veya püskürtülmesiyle uygulanır. Gaz, nem ve çözünenlerin hareketine karşı bir bariyer sağlayan ve yenebilen doğal koruyucu mumsu kaplamalara veya gıdalara uygulanan yenilebilir malzemeden oluşan ince bir tabakadır [21]. Yenilebilir kaplama, gıda ile çevre arasında tüm ürünün bir parçası olarak yenebilecek bir bariyer oluşturur. İdeal bir yenilebilir kaplama gıda yüzeyinden nem kaybını azaltmak, gıda çevresindeki atmosferi gaz değişimine karşı bariyer oluşturmak ve su hareketine kısmi bir bariyer sağlayabilme özelliklerini taşır. Gıda yüzeyindeki mikrobiyal gelişimin yavaşlatılması, özelde meyve dışının iyileştirilmesi ve ayrıca solunumun yavaşlatılmasına da katkı sağlar [22].

2.1. Yenilebilir kaplamada kullanılan materyaller

Özellikle hayvansal ve bitkisel kaynaklı proteinler, polisakkaritler ve lipitler ayrı ayrı veya belirli oranlarda karışım halinde kullanılarak yenilebilir kaplamalar oluşturulur. Bunların dışında çözücü, plastikleştirici, emülsifiyer, antimikrobiyal, antioksidan ajanlardan faydalanılır [23]. Yenilebilir kaplamada polisakkaritler, lipidler, proteinler, organik çözücüler, plastikleştiriciler, antioksidan ajanlar, antimikrobiyal ajanlar ve yüzey aktif maddeler kullanılmaktadır.

2.1.1. Polisakkaritler

Polisakkaritler, yapı taşı monosakkaritler olan büyük yapılı karbohidratlardır. Yenilebilir kaplamalarda polisakkaritler; düşük maliyetleri, kolay elde edilebilmeleri ve iyi film oluşturma özellikleri nedeniyle kullanılma potansiyelleri yüksektir [56, 57]. Polisakkarit temelli yenilebilir kaplamalar yapısal olarak dayanıklı olup yüksek oksijen bariyer özelliğine sahiptir. bu özelliklerinden dolayı gaz bariyeri olarak değerlendirilmektedir. Oksijen geçişine karşı olduğu gibi su geçişine karşıda dayanıklıdırlar [56, 57]. Bu özelliği de gıdaların depolanması sürecinde meydanda gelen ağırlık kayıplarını engellemektedir. Nişasta, selüloz ve bunların türevleri, aljinat, gam, pektin ve kitosan gibi

polisakkaritler yenilebilir film ve kaplama üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır [56-58].

2.1.2. Proteinler

Hem bitkisel kaynaklı (zein, gluten, soya vb.) hem de hayvansal kaynaklı (kollajen, keratin, jelatin, propolis vb.) proteinler kullanılabilir. Meydana getirilen filmin özellikleri, proteinin içsel özellikleri ve dış işleme faktörlerinden etkilenir. Proteinin içsel özellikleri aminoasit bileşimi, kristallik (protein, plastikleştirici), hidrofobik/hidrofiliklik, yüzey yükü, molekül boyutu ve üç boyutlu yapısıdır [56,58,59]. Yenilebilir film ve kaplama yapımında kullanılan proteinin aminoasit bileşimi filmlere çeşitli özellik kazandırır. Kaplama yapımındaki dışsal faktörler işleme sıcaklığı, kurutma koşulları, pH, iyonik güç, işleme ve depolama sırasındaki bağıl nemdir. Protein bazlı kaplamalar çok iyi gaz ve lipit bariyeri özelliği gösterebilir [56]. Ayrıca güçlü bağlayıcı özellikleri nedeniyle çatlamaya yatkın olabilir ve yüksek su buharı geçirgenliğine sahiptir. Bu özellikler protein kompozisyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir [24].

2.1.3. Lipitler

Lipitler hidrofobik olup iyi nem bariyerleri olarak işlev görür. Bununla birlikte, mekanik özellikleri protein ve polisakkarit bazlı filmlerden daha düşüktür [57]. Depolama sırasında su, ışık, oksijen ve diğer dış faktörlerin gıda kalitesi üzerine etkilerini azaltmaya yardımcı olur. Ayrıca meyve ve sebzelerde yüzey parlaklığını sağlamak için kullanılır. Doğal ve sentetik mumlar, gliseritler, yağ asitleri gibi lipit bileşenleri kaplama materyali olarak kullanılır [58, 59].

2.1.4. Çözücüler

En yaygın olarak kullanılan çözücüler su ve etanoldür. Bitkisel kaynaklı proteinden üretilen kaplamalarda diğer organik çözücüler de kullanılabilir. Çözücü olarak etanol kullanılarak elde edilen kaplamalar, aseton kullanılarak hazırlananlara göre daha iyi gerilme kuvveti gösterir. Ayrıca etanol kullanılarak hazırlanan film veya kaplamalar nemli ortamlarda daha iyi davranış gösterir [58, 60].

2.1.5. Plastikleştiriciler

Film ve kaplamalara mekanik özelliklerini geliştirmek amacıyla katılan düşük molekül ağırlıklı bileşiklere plastikleştirici denir. Gliserol, sorbitol, asetilenmiş monogliserit, polietilen glikol, sükroz ve lipit türevleri plastikleştirici ajanlar olarak kullanılır. Plastikleştiricinin etkinliği boyut, şekil ve film matrisi ile uyumluluğuna bağlıdır. Plastikleştiricinin normal depolama koşullarındaki durumu geçirgenlik ve esnekliği etkileyebilir. Polisakkarit bazlı filmlerin parlaklığını sağlamak için gereklidir. Protein bazlı filmlerde ise kırılgan yapının sağlamlaştırılmasında kullanılır [58, 60].

2.1.6. Antimikrobiyal ajanlar

Birçok gıda ürünü için bozulmanın temel nedeni yüzeydeki mikrobiyal büyümedir. Ürün depolama ve dağıtımı sırasında maya, küf ve bakterilerin büyümesi gıda kalitesini ve gıda güvenliğini olumsuz etkiler. Bu durumun önüne geçmek için gıda yüzeyinde su aktivitesinin azaltılması, neme dayanıklı ambalajla koruma ve çeşitli antimikrobiyaller (benzoik asit, sorbik asit, propinoik asit gibi) uygulanabilir [25,26]. Yenilebilir kaplamalar, katkı maddelerini gıda yüzeyinde tutmadaki etkinlikleri nedeniyle antimikrobiyal taşıyıcılar olarak kullanım potansiyeline sahiptir. Yapılan çalışmalarda antimikrobiyal ajanlarla birleştirilmiş kitosan filmlerin çilekte, hamurda ve somondaki patojenik *Listeria monocytogenes*, *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*' e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur [27,28].

2.1.7. Antioksidanlar

Antioksidanlar, gıda bileşenlerinin, özellikle lipitlerin stabilitesini artırır ve oksidatif ekşimeyi, bozulmayı ve renk bozulmasını önleyerek besin değerini ve rengini korur. Yenilebilir kaplamalara fenolik bileşikler, sitrik asit, askorbik asit, tokoferoller gibi antioksidan maddeler dahil edilebilir [29].

2.1.8. Yüzey aktif maddeleri

Emülgatörler ya da sürfaktanlar olarak da adlandırılır. Matris bileşenleri suda çözünür olan film ve kaplamalar genellikle iyi su bariyer özelliklerine sahip değildir. Bu nedenle kompozit kaplamalar geliştirilmiştir [61]. Kompozit kaplamalar, bir hidrofilik matriks içindeki hidrofobik parçacıkların heterojen dağıldığı filmlerdir. Bu durumda, yüzey aktif maddeler, filmi kurutmadan veya gıda yüzeyine uygulanmadan önce polimerik bir çözelti içinde dağılmış fazı stabilize etmek için kullanılır. Çok katmanlı film ve kaplamalarda, lipitlerin iyi su bariyer özellikleri ve hidrofilik polisakkarit veya proteinlerin iyi kohezyon ve gaz geçirgenlik özellikleri, gelişmiş özelliklere sahip malzemeler oluşturmak için ayrı katmanlar olarak birleştirilebilir. Emülgatörler, gıda ve kaplama arasındaki ara yüzde veya çok katmanlı bir filmde farklı polaritedeki iki film tabakası arasındaki yapıştırmayı geliştirmek için kullanılabilir [60,61].

2.2. Yenilebilir kaplamalara gıda katkı maddelerinin eklenmesi

2.2.1. Mikrokapsüller

Mikrokapsülleme, partiküllerin, damlacıkların veya gazların gıdalara uygulanan polimerik bir kaplamaya dahil edilmesidir. Asitlendiriciler, aromalar, renkler, mayalama bileşenleri, tuzlar, enzimler, yapay tatlandırıcılar, mineraller ve vitaminler mikrokapsüllenmiş bileşenlerdir. Mikrokapsülleme işlemiyle, gıda ürünlerinin içinde veya gıda yüzeyinde bir dizi canlı probiyotik için dağıtım sistemleri oluşturulabilir. Bu teknik ile yenilebilir film üzerinde yaşayabilir mikroorganizmalar kontrol edilebilir. Ayrıca

gıda üretimi, depolanması, tüketimi ve sindirimi sırasında da sıcaklık, pH, kimyasal ve enzimatik değişikliklere karşı koruma sağlayabilir. Mikrokapsüllerin üretiminde zamklar, nişasta ve türevleri, selüloz ve türevleri, lipitler ve proteinler kullanılır [30].

2.2.2. Lipozomlar

Lipozomlar, iki tabakalı küresel, polimoleküler kümelerdir. Doğada bol miktarda bulunan polar lipitlerden, fosfolipitlerden oluşur. Lipozomların iç kısmına fonksiyonel bileşenler dahil edilerek hem suda hem de lipitte çözünür bileşiklerin kapsüllenmesi için kullanılabilir. Gıda ürünlerinde antibakteriyel ve antioksidan bileşenlerin kapsüllenmesi amacıyla kullanılabilir.

Bileşikleri pH, ışık ve bazı enzimler gibi çeşitli etkilerden koruyan, bunu sulu iç dolgusunda veya çift katmanlı zarı içine alan yapılardır [62,63]. Daha önce yapılan bazı çalışmalara göre lipozomun fenolik bileşiklerin biyoyararlılığını arttırdığı belirtilmiştir [62,63].

2.3. Gıda katkı maddesi içeren yenilebilir kaplamaların/film fonksiyonel özellikleri

Yenilebilir film ve kaplamalara gıda katkı maddeleri ilave edilerek bu film ve kaplamaların**,** bariyer özellikleri, mekanik özellikleri ve duyusal özellikleri değiştirilebilir. Yenilebilir filmlere ilave edilen maddeler filmlerin bariyer özelliklerine etki edebilir. Kalsiyum tuzları ve gluko delta lakton içeren soya protein izolat filmleri, sadece soya protein izolatı ile hazırlanan filmlerinden daha düşük buhar geçirgenliğine sahip olduğu belirlenmiştir [31]. Bir diğer çalışmada farklı esansiyel yağların kitosan filme ilave edilmesi ile su buhar geçirgenliğinin azaldığı ve sosis dilimlerine uygulandığında antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur [32]. Bir katkı maddesi ilavesi yenilebilir film ve kaplamaların mekanik özelliklerini değiştirebilir. Meydana gelen değişikliklerde ise katkı maddesinin molekül boyutu, polaritesi, şekli ve afinitesi gibi parametreler etkili olmaktadır. Yenilebilir filmlere tuz ve organik asitlerin ilavesi, çapraz bağlama etkisinden dolayı daha iyi mekanik özelliklere sahip bir film oluşabilir [33]. Yenilebilir kaplamalar, işlenmiş gıdalarda duyusal özelliklerin iyileştirilmek için renk ve aroma bileşiklerinin taşıyıcısı olarak kullanılabilir. Tat bileşenleri depolama süreci boyunca korunmalıdır. Bu yüzden yenilebilir kaplamalara lezzet kapsülleme uygulaması yapılabilir. Lezzet kapsülleme, aromalardan tatlar üretilmesidir. Bu işlem, depolama sürecinde olumsuz etki oluşturabilecek diğer gıda bileşenleri ile etkileşimi önleyerek lezzetin stabilize edilmesini sağlar.

2.4. Yenilebilir kaplamaların etkileri

2.4.1. Sertlik ve ağırlık kaybının korunması

Gıdaların özelliklerini etkileyen sertlik ve ağırlık kaybı birbiriyle yakından ilişkilidir. Sertlik kaybının nedeni meyvelerin kesilmesi sırasında açığa çıkan hidrolitik enzimdir. Nem kaybı nedeniyle meydana gelen büzülme sertlik kaybının göstergesidir [34]. Meyve ağırlık kaybının temel nedeni su geçişi ve terleme sürecidir. Yapılan çalışmalarda yenilebilir kaplamanın meyvelerde hücreler arası boşluklardaki iç gaz atmosferinin kısıtlayarak terleme sürecini yavaşlattığı bildirilmiştir [35]. Jongsri ve ark. [36] tarafından yapılan bir çalışmada kitosan yenilebilir kaplamanın, taze kesilmiş meyvelerde stomal açıklığını kapatarak, terleme sürecini ve solunum hızını azalttığı bulunmuştur. Böylece ağırlığın muhafaza edilebileceği bildirilmiştir.

2.4.2. Esmerleşmeyi önleme ve renk muhafazası

Genel olarak yenilebilir kaplamalar, esmerleşme önleyici etki gösterip, rengi ve parlak yüzeyi koruyarak meyvelerin görünümünü iyileştirir. Yapılan çalışmalar, yenilebilir kaplamaların meyvelerdeki enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşmenin yanı sıra klorofilin feofitine indirgenmesiyle oluşan esmerleşme sürecini geciktirebileceğini belirtmektedir. Bu kaplamalar depolama sırasında kaplama nedeniyle meyvelerde solunum hızını düşürerek etilen üretimini azaltmakta ve böylece meyvelerdeki renk değişimlerini yavaşlamaktadır [37]. Pastor ve ark. [38] tarafından yapılan bir çalışmada propolis özütü içeren hidroksipropil metilselüloz (HPMC) ile kaplanmış üzümlerde 1-2 °C'de 24 günlük depolama sürecinde daha az kahverengileşme olduğu belirlemiştir.

2.4.3. Bitkisel besleyiciler ve antioksidan içeriğin korunması

Yenilebilir kaplamalar, solunum hızının yavaşlatılmasıyla titre edilir asitlik ve çözünür katı içeriğinin etkin şekilde korunmasını sağlar [39]. Depolama sürecinde, meyvelerde karbohidrat, yağ asitleri, aminoasitler, terpenoid, karetonoid, flavonid gibi içeriklerde azalma meydana gelir. Yenilebilir kaplama uygulaması taze/taze kesilmiş meyvelerde meydana gelen bitkisel besin içeriğinin korunmasını sağlar [40]. Taze ürünlerde antioksidan özellik fenolikler, flavonodiler, flavonoller, karotenoidler ve glukozinatların varlığından kaynaklanır. Fakat bu bileşenler meyve olgunlaşma sürecinde azalabilir. Yenilebilir kaplama kullanılarak depolama sürecinde meydana gelen fenolik içerik kaybı ve metabolizma oranları kontrol edilerek yaşlanma süreci geciktirilebilir. Mannozzi ve ark. [41] tarafından yapılan çalışmada prosiyanidin ile zenginleştirilmiş kitosan bazlı kaplamaların, taze yaban mersininin antioksidan özelliklerini +4 °C'de 14 gün boyunca koruduğu bildirilmiştir.

2.4.4. Antimikrobiyal aktivite

Gıdalarda meydana gelen bozulmaların nedenlerinden biriside, gıda yüzeyindeki mikrobiyal gelişimdir. Yenilebilir kaplamalar, nem bariyeri oluşturarak gıda yüzeyindeki mikroorganizma gelişimini önleyebilir. Ayrıca yenilebilir kaplamalara, uçucu yağlar, bitki özütleri, bal gibi antimikrobiyal aktivite gösteren ürünler

ilave edilebilir. Bu kaplamalar uygulandığı meyve yüzeyinde bulunan mikroorganizmaların büyümesini engelleyebilir [42].

Yukarıda da belirtildiği gibi yenilebilir bir kaplama, gıda kalitesini korumak için umut verici sonuçlar veren önemli yöntemlerden birisidir [43]. Bu yöntemin özelliklerinden biriside, gaz değişimini önlemek için ürünün yüzeyinde kaplama tabakası oluşturmak için biyolojik veya kimyasal malzemeler kullanır ve böylece meyve gibi gıdaların olgunlaşma sürecini yavaşlatır. Son yıllarda yenilebilir kaplamalarda etkili ve güvenilir kaplamalar yapmak için arı ürünleri de kullanılmaktadır. Mevcut kaplama materyalleri arı ürünleriyle birleştirilerek kaplamanın işlevsel özellikleri geliştirilebilir. Arı ürünleri içeriğindeki biyoaktif bileşenler kaplama materyalleri ile etkileşime girerek mevcut kaplamanın bariyer özelliklerini, esnekliğini, yapısal özelliklerini arttırabilir. Ayrıca arı ürünleri; antibakteriyel, antioksidan, antitümoral ve antiviral özellikteki aktif ajanlar içerir. Aktif ajanlar için taşıyıcı sistemler olarak kullanılan yenilebilir film ve kaplamaların etkinliği kullanılacak arı ürünlerinden dolayı bu etkinliği daha da arttırabilir. Bu nedenle, bu makalede arı ürünlerinden hazırlanan yenilebilir kaplama materyalleri üzerine yapılan literatür çalışmaların gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

3. ARI ÜRÜNLERİ VE YENİLEBİLİR KAPLAMA/FİLM

Son yıllarda yapılan çalışmalarla yenilebilir kaplamalarda etkili ve güvenilir kaplamalar yapmak için arı ürünleri de kullanıldığı anlaşılmaktadır [38,44,45]. Bu çalışmalarda da ifade edildiği gibi mevcut kaplama materyalleri arı ürünleriyle birleştirilerek kaplamanın işlevsel özellikleri geliştirilebilir. Arı ürünleri içeriğindeki biyoaktif bileşenler kaplama materyalleri ile etkileşime girerek mevcut kaplamanın bariyer özelliklerini, esnekliğini, yapısal özelliklerini arttırmaktadır. Uygulandığı gıdanın duyusal özelliklerini daha cazip hale getirebilir. Arı ürünleri antibakteriyel, antioksidan, antitümoral, antiviral vb. özellikleri nedeniyle taşıyıcı sistemler olarak kullanılabilir. Bal, polen, propolis, arı ekmeği kullanılarak oluşturulmuş yenilebilir kaplamalar üzerine çalışmalar bulunmaktadır [46]. Literatür incelendiğinde bu konuda en çok çalışılan arı ürününün propolis olduğu anlaşılmaktadır.

Aktif gıda ambalajı olarak kitosan filmlerin işlevsel özelliklerinin propolis ile birleştirilerek nasıl bir değişim geçirdiği ile ilgili Siripatrawan ve Vitchayakitti [47] tarafından yapılan bir çalışmada; propolisin kaplanabilir filmlerde önemli derece olumlu etkiler yaptığı tespit edilmiştir. İlgili çalışmada polifenol içeriği yüksek olan farklı konsantrasyonlardaki propolis özütlerin kitosan filmlere eklenmesi sonucunda, filmlerin mekanik özellikleri, oksijen ve nem bariyerleri, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinde meydana gelen değişikler incelenmiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlara göre; kitosan filmlere propolis ilavesi su buhar geçirgenliğinde azalmaya yol açmıştır. Bu durum kitosan ağı ve proplis içeriğindeki polifenolik bileşikleri arasındaki etkileşim sonucunda kitosanın suya afinitesini azaltarak filmlerin su buhar geçirgenliğinde azalmaya yol açtığı ifade edilmiştir. Bu durumda taze gıdaların ihtiva ettikleri suyunu kaybetmesinin önüne geçerek gıdanın raf ömrünün uzatılmasına yol açabilir. Aynı çalışmada kitosan filme propolis ilavesi oksijen geçirgenliğinde de azalmaya yol açmıştır. Propolis eklenmesi muhtemelen kitosan monomerleri arasındaki etkileşimlerin artmasıyla sonuçlanarak oksijen geçirgenliğinde azalmaya yol açmış olabilir. Bununla birlikte propoliste bulunan bazı pigment kaynaklarından dolayı kitosan temelli kaplamalara propolis eklenmesi sonucunda açık sarı kontrol filmlerine kıyasla daha koyu turuncu renkli filmlerin oluştuğu sonucuna varılmıştır.

Siripatrawan ve Vitchayakitti [47] tarafından yapılan çalışmada farklı propolis konsantrasyonları (2.5, 5, 10 ve 20%) çalışılmıştır. Propolis konsantrasyonu arttıkça kitosan filmlerin gerilme kuvvetinin arttığı tespit edilmiştir. Uzama oranı ise propolis konsantrasyonu %10 olana kadar artmış fakat %20 propolis içeren filmlerde önemli ölçüde azalmıştır. Yüksek konsantrasyonda propolis bileşiklerinin kristal oluşumu nedeniyle filmin esnekliğinde azalmaya yol açmış olabilir. Kitosan filmi ile propolisten gelen polifenolik bileşenler arasında moleküller arası etkileşim olduğu belirlenmiştir. Bu durumun kitosan filmin özelliklerinde değişikliklere yol açabileceğini göstermektedir. Propolis genel olarak sahip olduğu yüksek fenolik maddelerden dolayı kitosan temelli filmlere propolis ilavesi sonucu oluşan filmlerde hem total fenolik içerik ve antioksidan aktivitede de önemli artış gözlenmiştir.

Propolisin yüksek oranda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinen bir gerçekliktir [48]. Yapılan çalışmalarda propolis ilave edilmiş kitosanın bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Propolis özütü içermeyen kitosan filmlerin test edilen bakteriler üzerinde herhangi bir inhibisyon göstermediği, ancak propolis eklenmiş film disklerinin altındaki temas yüzeyinde tüm bakterilere karşı antimikrobiyal etkinin oluştuğu tespit edilmiştir. Kitosan filmleri propolis ile birleştirildiğinde, mekanik ve bariyer özelliklerinin yanında antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri geliştirebilir. Propolis ilavesi filmlerin gaz ve nem bariyeri özelliklerini iyileştirmiştir. Belirli miktarda eklenen propolis, film esnekliğinde artış sağlamıştır. Antioksidan aktivite ve toplam fenolik içerikte artış olmuştur. Ayrıca antibakteriyel aktivite görülmüştür. Yapılan analizler, kitosan ile propoliste bulunan aktif bileşenler arasındaki etkileşimler, filmlerdeki değişikliklerin kaynağı olarak gösterilebilir.

Yenilebilir propolis-kitosan nanopartikül filmlerinin fizikokimyasal karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktivitesi başlıklı bir diğer çalışmada ise propolis-kitosan nanopartikül filmlerinin fizikokimyasal özelliklerini ve antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiştir. Kitosan, kitosan nanopartükül ve farklı konsantrasyonlarda propolis özütü içeren (%10, %20 ve %30) kitosan filmler hazırlanmıştır. Elde edilen filmler çileğe uygulanarak

meyvenin mekanik özellikleri ve antimikrobiyal aktivitide meydana gelen değişiklikler incelenmiştir [49]. Yapılan temas açısı tayininde kitosan nanopartikülü ve propolisin kitosan filmlere dahil edilmesi sonucu filmlerin hidrofobiklik özelliği artırmıştır. Kitosan ve propolis arasında moleküler etkileşimler sonucunda kitosanın suya afinitesi azalmış olabilir. Şişme derecesi, suda çözünürlük, su buharı difüzyon hızı kitosan nanopartikül ve propolis ilavesi ile azalmıştır. Bu durum propolisin lipofilik doğasından kaynaklanabilir. Kitosan nanopartikülleri varlığı suyun film içinde difüzyonunu azaltarak kitosanın su ile etkileşimi engellemiş olabilir. Optik mikroskopi incelemesiyle kaplamaların çileğe iyi yapıştığını; gaz ve nem bariyeri için uygun kalınlıklara sahip olduğu bulunmuştur [49]. Film özelliklerinde meydana gelen farklılıklar, kitosan ve propolisin fonksiyonel grupları arasındaki etkileşimlerle açıklanır. Ayrıca atomik güç mikroskobu (AFM) çalışmaları film morfolojisindeki değişikliklerin anlaşılması için yapılmıştır. Kitosan nanopartikülleri ve propolisin eklenmesi film yüzeyindeki pürüzleri azaltarak filmin daha homojen hale gelmesine katkıda bulunmuştur [49]. Bu durum kitosan nanopartikülleri için boşlukların arasını doldurarak, propolis için ise kitosanla fonksiyonel grupları arasındaki etkileşimiyle gerçekleşmiş olabilir. Antibakteriyel aktivite için test edilen filmlerde kitosan nanopartikülü ve propolis ilave edilmiş filmlerde, bakteri inhibisyonu görülmüştür. En düşük bakteri inhibisyonu kitosan nanopartikül içeren filmde görülmüştür. Propolis ilave edilmiş filmlerin bakteri inhibisyonu için en etkili olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlar kitosan nanopartikülü ve propolisin filme dahil edilmesiyle filmin işlevsel özelliklerini iyileştirebileceğini göstermektedir. Filmlere nanopartikül ilavesi, pürüzsüzlük ve hidrofobik/hidrofilik davranışı etkilediği bilinmektedir. Kitosan nanopartikülleri boşlukların doldurulmasını sağlayarak pürüzlülük azalmasına ve filmin daha homojen hale gelmesini sağlamıştır. Ayrıca suyla etkileşimi azalttığı için hidrofilik davranışta azalma saptanmıştır. Propolis lipofilik doğasıyla hidrofobik davranış gösterir. Bu nedenle propolisin filmlere ilavesi şişme derecesi, suda çözünürlük, su buhar difüzyon hızını azaltmıştır. Böylece filmin nem bariyer özellikleri iyileştirilmiştir [49]. Kitosan ve propolisin fonksiyonel grupları arasında meydana gelen etkileşimler filmlerdeki farklılıkların kaynağıdır. Propolis ilavesi pürüzlerde azalmaya yol açmış ve filmler daha homojen hale gelmiştir. Kitosan nanopartikülü-propolis içeren filmlerin antibakteriyel aktiviteleri sayesinde mikrobiyal gıda bozulmalarının önüne geçileceği ve yenilebilir kaplama yapımında kullanılabilme potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Nanoyapılı kitosan kaplamalarına propolis ilavesiyle oluşan yeni kaplamaların depolama koşullarında çileklerin kalitesi ve antioksidan kapasitesine etkisi üzerine yapılan bir başka çalışmada da propolisin kitosan temelli kaplamaların özelliklerini daha da iyileştirerek meyvenin raf ömrüne önemli katkılar yaptığı tespit edilmiştir [50]. İlgili çalışmada farklı konsantrasyonlarda (10, 20 ve 30%) propolis ilave edilmiş kitosan temelli nano-kaplamalar çilek meyvesi üzerine uygulanarak 8 gün depolama sonunda meyvede meydana gelen değişimler ve meyvenin antioksidan aktivitesi incelenmiştir. En düşük meyve ağırlık kaybı ve en yüksek meyve sertliği %10 propolis ilave edilmiş nano yapılı kitosan kaplamalarda meydana gelmiştir. Bunun nedeni, yenilebilir kaplamaların oksijen, karbon dioksit ve nem kaybı arasında yarı geçirgen bir bariyer görevi görmesi ve bu da solunumu, su kaybını ve oksidasyon reaksiyonlarını azaltması olabilir.

Benzer şekilde Bodini ve ark. [51], propolis ekstraktının (% 5) dahil edilmesinin, bir kontrol filmine göre su buharı geçirgenliğini önemli ölçüde azalttığını bulmuştur. Siripatrawan ve Vitchayakitti [47] propolisin (% 2) kitosan filmlerin fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisini incelemişler ve bunun filmlerdeki su buharı geçirgenliğini azalttığını bulmuşlardır. Bunun nedeni, propolisin polifenolik bileşiklerinin kitosan matriksine yapışması ve hidrojen veya kitosan reaktif gruplarıyla kovalent bağlanmasından kaynaklanabilir.

Kitosan ve propolisin antioksidan kapasiteyi artırmada etkili olduğu ayrı ayrı kanıtlanmıştır [52-55]. Kitosan temelli nano-kaplamalara propolisin ilavesi ile 8 gün saklama süresinin sonunda çilekte toplam fenol, flavonoid ve antioksidan kapasitesi kontrole göre daha yüksek seviyelere çıkmıştır. Kaplamaların uygulanması, çileğin duyusal özellikleri değiştirmemiştir [50].

Arı ürünleri (özellikle propolis) ile birleştirilmiş kitosan temelli aktif bir film, geliştirilmiş fonksiyonel özelliklerle elde edilebilir. Yukarıdaki çalışmalar göz önüne alındığında propolisin kitosan filmlere dahil edilmesi yenilebilir kaplamaların mekanik ve bariyer özelliklerinin yanı sıra antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini geliştirdiği belirlenmiştir. Değişen film özellikleri, FTIR analizi ile doğrulanan fonksiyonel kitosan ve polifenol grupları ile propolisin diğer bileşenleri arasındaki etkileşimlere bağlanmıştır. Propolis ve daha sonra diğer arı ürünleri ile geliştirilebilecek yeni kaplamalar, gıda endüstrisinde geniş bir uygulama alanına sahip olmasının yanında antimikrobiyal ve antioksidan ambalaj malzemesi olarak kullanılma potansiyeline sahip olacaktır. Arı ürünlerinin sağlık ve gıda olarak tüketilmesinin yanında diğer gıdaların raf ömürlerinin artırılmasında kullanılması ekonomik olarak arıcılık yapan üreticilerin ürünlerinin daha çok değerlenmesine ve yeni bir gelir getirici alanın oluşmasına neden olacaktır. En etkili ve kullanılabilir arı ürünlü yenilebilir kaplamaların yapılması ve gıdaların raf ömürlerinin artırılmasında kullanılabilmesi için yeni çalışmaların yapılması gereklidir.

KAYNAKLAR

[1] Cimpoiu C, Hosu A, Miclaus V. and Puscas A. Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2013;100:149-154.Carlson BM. Human embryology and developmental biology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2009.

[2] Chua, LS, Lee, JY and Chan, GF. Characterization of the proteins in honey. Analytical Letters. 2015;48(4):697-709.
[3] Boukraâ, L. Healing properties of honey. Honey In Traditional and Modern Medicine. 2014; 37-52.
[4] Zuluaga, C, Martínez, A, Fernández, J, López-Baldó, J, Quiles, A and Rodrigo, D. Effect of high pressure processing on carotenoid and phenolic compounds, antioxidant capacity, and microbial counts of bee-pollen paste and bee-pollen-based beverage. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 2016;37:10-17.
[5] Komosinska-Vassev, K, Olczyk, P, Kaźmierczak, J, Mencner, L and Olczyk, K. Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015;2015:1-6.
[6] Campos, MGR, Bogdanov, S, de Almeida-Muradian, LB, Szczesna, T, Mancebo, Y, Frigerio, C and Ferreira, F. Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research. 2008;47(2):154-161.
[7] Carpes, ST, Begnini, R, Alencar, SMd and Masson, ML. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. Ciência e agrotecnologia. 2007;31(6):1818-1825.
[8] Pascoal, A, Rodrigues, S, Teixeira, A, Feás, X and Estevinho, LM. Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. Food and Chemical Toxicology. 2014;63:233-239.
[9] Pietta, P, Gardana, C and Pietta, A. Analytical methods for quality control of propolis. Fitoterapia. 2002;73:S7-S20.
[10] Walker, P and Crane, E. Constituents of propolis. Apidologie. 1987;18(4):327-334.
[11] Serkedjieva, J, Manolova, N and Bankova, V. Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). Journal of Natural Products. 1992;55(3):294-297.
[12] Simuth, J. Some properties of the main protein of honeybee (Apis mellifera) royal jelly. Apidologie. 2001;32(1):69-80.
[13] Ramadan, MF and Al-Ghamdi, A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. Journal of Functional Foods. 2012;4(1):39-52.
[14] Nagai, T, Inoue, R, Suzuki, N and Nagashima, T. Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly. Journal of Medicinal Food. 2006;9(3):363-367.
[15] Raghuraman, H and Chattopadhyay, A. Melittin: a membrane-active peptide with diverse functions. Bioscience Reports. 2007;27(4-5):189-223.
[16] Socarras, KM, Theophilus, PA, Torres, JP, Gupta, K and Sapi, E. Antimicrobial activity of bee venom and melittin against Borrelia burgdorferi. Antibiotics. 2017;6(4):31
[17] Wehbe, R, Frangieh, J, Rima, M, El Obeid, D, Sabatier, J-M and Fajloun, Z. Bee venom: overview of main compounds and bioactivities for therapeutic interests. Molecules. 2019; 24(16):2997.
[18] Fuenmayor, B, Zuluaga, D, Díaz, M, Quicazán de C, M, Cosio, M and Mannino, S. Evaluation of the physicochemical and functional properties of Colombian bee pollen. Revista MVZ Córdoba. 2014;19(1):4003-4014.
[19] Urcan, AC, Al Marghitas, L, Dezmirean, DS, Bobis, O, Bonta, V, Muresan, CI and Margaoan, R. Chemical composition and biological activities of beebread–review. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies. 2017;74(1):6-14.
[20] Kolayli, S and Keskin, M. 2020. Natural bee products and their apitherapeutic applications. Eds. Studies in Natural Products Chemistry, Elsevier. 2020;Vol.66:175-196.
[21] Dhall, R. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2013;53(5):435-450.
[22] Rai, M, Ingle, AP, Gupta, I, Pandit, R, Paralikar, P, Gade, A, Chaud, MV and dos Santos, CA. Smart nanopackaging for the enhancement of food shelf life. Environmental Chemistry Letters. 2019;17(1):277-290.
[23] Hassan, B, Chatha, SAS, Hussain, AI, Zia, KM and Akhtar, N. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. International Journal of Biological Macromolecules. 2018;109:1095-1107.
[24] Damodaran, S. Amino acids, peptides and proteins. CRC Press: Boca Raton, FL. 2008.
[25] Torres, JA, Motoki, M and Karel, M. Microbial stabilization of intermediate moisture food surfaces I. Control of surface preservative concentration. Journal of Food Processing and Preservation. 1985;9(2):75-92.
[26] Vojdani, F and Torres, JA. Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coatings: Effect of fatty acids. Journal of Food Science. 1990;55(3):841-846.
[27] Rodriguez, M, Ramos, V and Agulló, E. Antimicrobial action of chitosan against spoilage organisms in precooked pizza. Journal of Food Science. 2003;68(1):271-274.
[28] Park, SI, Stan, SD, Daeschel, MA and Zhao, Y. Antifungal coatings on fresh strawberries (Fragaria× ananassa) to control mold growth during cold storage. Journal of Food Science. 2005;70(4):M202-M207.
[29] Nisperos-Carriedo, M O, Shaw, PE and Baldwin, E. Changes in volatile flavor components of pineapple orange juice as influenced by the application of lipid and composite films. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1990;38(6):1382-1387.
[30] Pech-Canul, AdlC, Ortega, D, García-Triana, A and González-Silva, N. A Brief Review of Edible Coating Materials for the Microencapsulation of Probiotics. Coatings. 2020;10(3): 197.
[31] Park SK, Rhee CO, Bae DH, Hettiarachchy NS. Mechanical properties and water-vapor

permeability of soy-protein films affected by calcium salts and glucono- d -lactone. J Agric Food Chem. 2001;49:2308-2312.
[32] Zivanovic S, Chi S, Draughon AE. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils . J Food Chem. 2005;70(1):M45-M51.
[33] Hoagland, PD and Parris, N. Chitosan/pectin laminated films. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1996;44(7):1915-1919.
[34] Shao, P, Zhang, H, Niu, B and Jiang, L. 2018. Antibacterial activities of R-(+)-Limonene emulsion stabilized by Ulva fasciata polysaccharide for fruit preservation. International Journal of Biological Macromolecules. 2018;111:1273-1280.
[35] Khaliq, G, Mohamed, MTM, Ali, A, Ding, P and Ghazali, HM. Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (Mangifera indica L.) fruit during low temperature storage. Scientia Horticulturae. 2015;190:187-194.
[36] Jongsri, P, Wangsomboondee, T, Rojsitthisak, P and Seraypheap, K. Effect of molecular weights of chitosan coating on postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruit. LWT. 2016;73:28-36.
[37] Maringgal, B, Hashim, N, Tawakkal, ISMA and Mohamed, MTM. Recent advance in edible coating and its effect on fresh/fresh-cut fruits quality. Trends in Food Science & Technology.2020;96:253-267.
[38] Pastor, C, Sánchez-González, L, Marcilla, A, Chiralt, A, Cháfer, M, & González-Martínez, C. Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. Postharvest Biology and Technology. 2011;60(1):64-70.
[39] Melo, NFCB, de MendonçaSoares, BL, Diniz, KM, Leal, CF, Canto, D, Flores, MA, da Costa Tavares-Filho, JH, Galembeck, A, Stamford, TLM and Stamford-Arnaud, TM. Effects of fungal chitosan nanoparticles as eco-friendly edible coatings on the quality of postharvest table grapes. Postharvest Biology and Technology. 2018;139:56-66.
[40] Yan, J, Luo, Z, Ban, Z, Lu, H, Li, D, Yang, D, Aghdam, MS and Li, L. The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage. Postharvest Biology and Technology. 2019;147:29-38.
[41] Mannozzi, C, Tylewicz, U, Chinnici, F, Siroli, L, Rocculi, P, Dalla Rosa, M and Romani, S. Effects of chitosan based coatings enriched with procyanidin by-product on quality of fresh blueberries during storage. Food Chemistry. 2018;251:18-24.
[42] Maringgal, B, Hashim, N, Tawakkal, ISMA., Mohamed, MTM, Hamzah, MH and Shukor, NIA. The causal agent of anthracnose in papaya fruit and control by three different Malaysian stingless bee honeys, and the chemical profile. Scientia Horticulturae. 2019;257:108590.
[43] Guimaraes, A, Abrunhosa, L, Pastrana, L M, & Cerqueira, M A. Edible films and coatings as carriers of living microorganisms: a new strategy towards biopreservation and healthier foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2018;17(3):594-614.
[44] Jafarin, S, & Mohammadnejad, P. Effect of propolis coating on oil uptake and quality properties of fried potato (Solanum tuberosum) strips. Asian Food Science Journal. 2020;1-8.
[45] Mladenoska, I. The potential application of novel beeswax edible coatings containing coconut oil in the minimal processing of fruits. Advanced Technologies. 2012;1(2):26-34.
[46] Mironescu, M, Fratila, L, Hupert, A, & Mironescu, I D. Obtaining and characterisation of starch-based edible films ıncorporating honey, propolis and bee bread. Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology. 2019;23(2):193-198.
[47] Siripatrawan, U and Vitchayakitti, W. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. Food Hydrocolloids. 2016;61:695-702.
[48] Pobiega, K, Kraśniewska, K, & Gniewosz, M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality–A review. Trends in Food Science & Technology. 2019;83:53-62.
[49] Correa-Pacheco, ZN, Bautista-Baños, S, de Lorena Ramos-García, M, del Carmen Martínez-González, M and Hernández-Romano, J. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of edible propolis-chitosan nanoparticle films. Progress in Organic Coatings. 2019;137:105326.
[50] Martínez-González, M D C, Bautista-Baños, S, Correa-Pacheco, Z N, Corona-Rangel, M L, Ventura-Aguilar, R I, del Río-García, J C, & Ramos-García, MDL. Effect of nanostructured chitosan/propolis coatings on the quality and antioxidant capacity of strawberries during storage. Coatings. 2020;10(2):90.
[51] Bodini, R B, Sobral, PJA, Favaro-Trindade, C S, & Carvalho, RA. Properties of gelatin-based films with added ethanol–propolis extract. LWT-Food Science and Technology, 2013;51(1):104-110.
[52] Siripatrawan, U, & Harte, B R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids. 2010;24(8): 770-775.
[53] Yen M T, Yang, J H, & Mau, J L.n Antioxidant properties of chitosan from carb shells. Carbohydrate Polymers. 2008;74(4):840-844.
[54] Kumazawa, S, Hamasaka, T, & Nakayama, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food Chemistry. 2004;84(3):329-339.
[55] Nagai, T, Inoue, R, Inoue, H, & Suzuki, N. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. Food Chemistry. 2003;80(1):29-33.
[56] Robertson, GL, Food Packaging: Principle and Practice. Third Edition, CRC Press, Boca Raton, 2013. 703.
[57] Pavlath, AE, Orts, W, Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In Edible Films and Coatings for Food Applications, Edited by Milda E.

Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 2009. 403.

[58] Tural, S, Sarıcaoğlu FT, & Turhan, S, Yenilebilir Film ve Kaplamalar: Üretimleri, Uygulama Yöntemleri, Fonksiyonları ve Kaslı Gıdalarda Kullanımları. Academic Food Journal/Akademik Gıda, 2017. 15:1, 84-94.

[59] Dursun, S, Erkan, N, Yenilebilir protein filmler ve su ürünlerinde kullanımı. Journal of Fisheries Science, 2009. 3(4): 352-373.

[60] Üstünol, Z, Edible Films and Coatings for Meat and Poultry. In Edible Films and Coatings for Food Applications, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 2009. 403p.

[61] Gennadios, A, Milford, AH, Lyndon, BK, Application of edible coating on meats, poultry and seafoods: a review. LWT - Food Science and Technology 1997. 30(4): 337-350

[62] Gibis, M, Zeeb, B, & Weiss, J, Formation, characterization, and stability of encapsulated hibiscus extract in multilayered liposomes. Food Hydrocolloids, 2014. 38, 28-39.

[63] Özgüven, M, Beyde, B, & Özçelik, B, Atıkların Değerlendirmesi: Fındık (Corylus avellana L.) ve Antep Fıstığı (*Pistacia vera* L.) İç Zarlarından Elde Edilen Fenolikçe Zengin Ekstraktlara Lipozomal Taşıma Sistemlerinin Uygulanabilirliği. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2020. (19), 241-246.

[64] Sancak, K, Sancak, A, & Aygören, E, Dünya ve Türkiye'de Arıcılık. Arıcılık Araştırma Dergisi, 2013. 5(10), 7-13.