

Cilt / Volume: 11, Sayı / Issue: 4

Aralık / December, 2021

ISSN 2146-0574

E-ISSN 2536-4618

FBED / JIST

Uluslararası Hakemli Dergi / International Peer Reviewed Journal

**İĞDIR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ DERGİSİ**

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



FBED / JIST

IĞDIR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

Journal of the Institute
of Science and Technology

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



İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi
Kısaltılmış Başlık: İğdır Üniv. Fen Bil. Enst. Der.

Journal of the Institute of Science and Technology
Abbreviated Title: J. Inst. Sci. and Tech.

Uluslararası Hakemli Dergi / International Peer Reviewed Journal

Basılı ISSN: 2146-0574

Elektronik ISSN: 2536-4618

Veri Tabanı / Indexed by

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

Sahibi / Owner

Doç. Dr. Ahmet TAN / Assoc. Dr. Ahmet TAN
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü / Graduate Education Institute Director

Baş Editör / Editor in Chief

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

Yardımcı Editörler / Associate Editors

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

Danışma Kurulu/ Advisory Board

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

Tasarım / Design

Prof. Dr. Bilal KESKİN
Arş. Gör. Hasan Kaan KÜÇÜKERDEM
Arş. Gör. Ramazan TOSUN

Web link: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/jist>

Mail address: fbed@igdir.edu.tr

ULUSAL EDITÖRLER KURULU
NATIONAL EDITORIAL BOARD

Doç. Dr. Beyhan KİBAR, Horticulture Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Fikret TÜRKAN, Chemistry Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Prof. Dr. Ferhat MURATOĞLU, Horticulture Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Şilan TURHAN IRAK, Chemistry Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Doç. Dr. Ersin GÜLSOY, Horticulture Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Ümit YILDIKO, Chemistry Kafkas Üniversitesi, Kars, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Gültekin IŞIK, Computer Engineering Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Harbi ÇALIMLI, Chemistry Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Prof. Dr. Ahmet ULUDAĞ, Plant Protection Düzce Üniversitesi, Düzce, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Uğur GÜLLER, Chemistry Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Doç. Dr. Celalettin GÖZÜAÇIK, Plant Protection Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Doç. Dr. Mahir UZUN, Mechanical Engineering İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Tuba GENÇ KESİMCİ, Plant Protection Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa HAMAMCI, Mechanical Engineering Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜRBÜZ, Plant Protection Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Arslan KAPTAN, Mechanical Engineering Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, Türkiye
Prof. Dr. Ümit İNCEKARA, Biology Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Raci AYDIN, Mechanical Engineering Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Prof. Dr. Hasan AKAN, Biology Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, Türkiye	Prof. Dr. Serpil HALICI, Mathematics Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Emel DIRAZ YILDIRIM, Biology Kahramanmaraş Sütçü İmam Üni. K.Maraş, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Lokman BİLEN, Mathematics Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet POLAT, Biology Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye	Doç. Dr. Aynur ŞAHİN, Mathematics Sakarya Üniversitesi, Sakarya, Türkiye
Doç. Dr. Hakan KİBAR, Biosystem Engineering Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, Türkiye	Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL, Molecular Biology and Genetic Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye
Doç. Dr. Sefa ALTIKAT, Biosystem Engineering Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Kaan HÜRKAN, Molecular Biology and Genetic Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Züleyha BİNGÜL, Environmental Engineering Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye	Doç. Dr. Can Ali AĞCA, Molecular Biology and Genetic Bingöl Üniversitesi, Bingöl, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Sinan KUL, Environmental Engineering Bayburt Üniversitesi, Bayburt, Türkiye	Prof. Dr. Mehmet Hakkı ALMA, Forestry Engineering Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Doç. Dr. Adem KOÇYİĞİT, Electrical Electronic Eng. Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Prof. Dr. Murat ZENGİN, Landscape Architecture Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye
Doç. Dr. Kenan ÇİÇEK, Electrical Electronic Eng. Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Prof. Dr. Mehmet Akif IRMAK, Landscape Architecture Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Ağah Oktay ERTAY, Electrical Electronic Eng. Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Erzincan, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Meryem Bihter BİNGÜL BULUT, Landscape Architecture Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Seda TÜRK, Industrial Engineering Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Doç. Dr. İlknur MERİÇ TURGUT, Fisheries Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Hamid YILMAZ, Industrial Engineering Bayburt Üniversitesi, Bayburt, Türkiye	Doç. Dr. Yakup Erdal ERTÜRK, Agricultural Economy Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Doç. Dr. Ferdi AKMAN, Physics Bingöl Üniversitesi, Bingöl, Türkiye	Doç. Dr. Bengü EVEREST, Agricultural Economy Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye
Doç. Dr. İkrım ORAK, Physics Bingöl Üniversitesi, Bingöl, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Tuba Pekirbizli ZEMESTANİ, Agricultural Eco. Bozok Üniversitesi, Yozgat, Türkiye
Doç. Dr. Abdulkerim KARABULUT, Physics Erzurum Teknik Üniversitesi, Erzurum, Türkiye	Prof. Dr. Bilal KESKİN, Field Crops Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Osman AĞAR, Physics Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Karaman, Türkiye	Doç. Dr. Süleyman TEMEL, Field Crops Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN, Food Engineering Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye	Doç. Dr. Tamer ERYİĞİT, Field Crops Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, Türkiye
Prof. Dr. İhsan Güngör ŞAT, Food Engineering Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye	Doç. Dr. Adem GÜNEŞ, Soil Science and Plant Nutrition Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Mubin KOYUNCU, Food Engineering Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Serdar SARI, Soil Science and Plant Nutrition Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Doç. Dr. Muhammed Yasin ÇODUR, Civil Engineering Erzurum Teknik Üniversitesi, Erzurum, Türkiye	Doç. Dr. İsa YILMAZ, Animal Science Muş Alparslan Üniversitesi, Muş, Türkiye
Doç. Dr. Rıza POLAT, Civil Engineering Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye	Doç. Dr. Ali İhsan ATALAY, Animal Science Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Alperen ÖZDEMİR, Civil Engineering Iğdır Üniversitesi, Iğdır, Türkiye	

ULUSLARARASI EDİTÖRLER KURULU

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Muhammad HANIF, Mathematic Lahore Üniversitesi, Lahore, Pakistan	Assist. Prof. Dr. Christina BENEKI, Dep. of Bus. Admin. Tech. Educ. Inst. of Ionian Islands, Cephalonia, Greece
Prof. Dr. Muhammad SARWAR KHAN, Agri. Biotechnology University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan	Dr. Abdul WAHEED, Animal Science Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan
Prof. Dr. Tan YANWEN, Economics South China Agricultural University, Guangzhou, China	Dr. Snezana ANDJELKOVIC, Forage Crops Institute for Forage Crops(IFC), Krusevac, Republic of Serbia
Prof. Dr. Abdul WAHID, Department of Botany University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan	Dr. Ferhat ABBAS, Vet- Animal Science, CASVAB University of Balochistan, Balochistan, Pakistan
Prof. Dr. Zafar IQBAL, Veterinary Science University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan	Dr. Naveen KUMAR, Horticulture University of Florida, Florida, USA
Prof. Dr. Khalid JAVED, Dep. of Livestock Prod. University of Vet. & Animal Sciences, Lahore, Pakistan	

DİL EDİTÖRLERİ
LANGUAGE CONSULTANTS

Prof. Dr. Guang Jie ZHAO, Forestry, Beijing Forestry University, China	Dr. Öğr. Üyesi Didem ERDEL, İğdır Üniversitesi, İğdır, Türkiye
Prof. Dr. Vaqif ABBASOV, Chemistry, Neft Kimya Prosesleri Institutu, Azərbaycan	Uzm. Handan YILDIZ, Milli Eğitim Müdürlüğü, İğdır, Türkiye
Prof. Dr. Emanuele BOSELLI, Food Science and Technology Free University of Bozen, Bolzano, Italy	Öğr. Gör. Talha YILDIZ, İğdır Üniversitesi, İğdır, Türkiye
Prof. Dr. Lenka KOURIMSKA, Food and Nutrition, Czech Uni. of Life Sciences Prague, Suchdol, Czech Republic	

BU SAYININ HAKEM LİSTESİ
REFeree LIST IN THIS ISSUE

Prof. Dr. İlhan ÜREMİŞ, Plant Protection	Doç. Dr. Mehmet BİLİM, Electrical Electronic Engineering
Prof. Dr. Rıdvan POLAT, Landscape Architecture	Doç. Dr. Mehmet KAPLAN, Plant Protection
Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN, Biology	Doç. Dr. Beyhan KİBAR, Horticulture
Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP, Aquaculture	Doç. Dr. Neşe OKUT, Field Crops
Prof. Dr. Alper NUHOĞLU, Environmental Engineering	Doç. Dr. Gül KUŞAKSIZ, Biology
Prof. Dr. Emine MALKOÇ, Environmental Engineering	Doç. Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU, Biology
Prof. Dr. Filiz Nuran ACAR, Environmental Engineering	Doç. Dr. Adem ZENGİN, Chemistry
Prof. Dr. Fatih UNGAN, Physics	Doç. Dr. Rövsen GULİYEV, Environmental Engineering
Prof. Dr. Figen BOZ, Physics	Doç. Dr. Vedat ÇELİK, Electrical Electronic Engineering
Prof. Dr. Bekir ÇAKIR, Physics	Doç. Dr. Ercan İZGİ, Electrical Electronic Engineering
Prof. Dr. Nurcan DEĞİRMENCİOĞLU, Food Engineering	Doç. Dr. Mehmet Ali ÖZÇELİK, Electrical Electronic Eng.
Prof. Dr. Kanat Burak BOZDOĞAN, Civil Engineering	Doç. Dr. Mürşide HACIİSMAİLOĞLU, Physics
Prof. Dr. Yadigar GÜLSEVEN SIDIR, Physics	Doç. Dr. Murat YILDIRIM, Physics
Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU, Chemistry	Doç. Dr. Hüseyin OVALIOĞLU, Physics
Prof. Dr. Yunus KARA, Chemistry	Doç. Dr. Murat ÇELTEK, Physics
Prof. Dr. Gülderen UYSAL AKKUŞ, Chemistry	Doç. Dr. Ömer DÖNMEZ, Physics
Prof. Dr. Ömür DEVECİ, Mathematics	Doç. Dr. İkrım ORAK, Physics
Prof. Dr. Şevket GÜR, Mathematics	Doç. Dr. Onur ŞAHİN, Physics
Prof. Dr. Hacı Halil BIYIK, Biology	Doç. Dr. Resul SEVİNÇEK, Physics
Prof. Dr. Mustafa OSKAY, Biology	Doç. Dr. Ebru AKKEMİK, Food Engineering
Prof. Dr. Özlem BARIŞ, Biology	Doç. Dr. Ahmet TOPAL, Biology
Prof. Dr. Arzu GÖRMEZ, Molecular Biology and Genetic	Doç. Dr. Ebru BOZKURT, Chemistry
Prof. Dr. Latif Gürkan KAYA, Landscape Architecture	Doç. Dr. Özlem GÜRsoy KOL, Chemistry
Prof. Dr. Vedat DAĞDEMİR, Agricultural Economy	Doç. Dr. Zuhıl ALİM, Chemistry
Prof. Dr. Hakan GEREN, Field Crops	Doç. Dr. Murat ŞENTÜRK, Chemistry
Prof. Dr. Kağan KÖKTEN, Field Crops	Doç. Dr. Fevzi TOPAL, Chemistry
Prof. Dr. Zeki ACAR, Field Crops	Doç. Dr. Serdar MERCAN, Metallurgical and Mat. Eng.
Prof. Dr. Mevlüt TÜRK, Field Crops	Doç. Dr. Levent UĞUR, Mechanical Engineering
Prof. Dr. İlknur AYAN, Field Crops	Doç. Dr. Şerif ÇİTİL, Mechanical Engineering
Prof. Dr. Nutullah ÖZDEMİR, Soil Sci. and Plant Nut.	Doç. Dr. İshak Gökhan AKSOY, Mechanical Engineering
Prof. Dr. Vecihi AKSAKAL, Animal Science	Doç. Dr. Selçuk DARICI, Mechanical Engineering

- Doç. Dr. Zeki CANDAN, Forest Industrial Engineering
Doç. Dr. Mehmet KODAL, Chemistry
Doç. Dr. Nihal YOKUŞ, Mathematics
Doç. Dr. Abdullah KABLAN, Mathematics
Doç. Dr. Can KIZILATEŞ, Mathematics
Doç. Dr. Murat BEŞENK, Mathematics
Doç. Dr. Faruk KARAASLAN, Mathematics
Doç. Dr. Hacı Mehmet BAŞKONUŞ, Mathematics
Doç. Dr. Erdoğan ŞEN, Mathematics
Doç. Dr. Özkan ÖZDEN, Biology
Doç. Dr. İlhami GÖK, Biology
Doç. Dr. Murat ÖZDAL, Biology
Doç. Dr. Ömer ATABEYOĞLU, Landscape Architecture
Doç. Dr. Zuhâl KARAKAYACI, Agricultural Economy
Doç. Dr. Yusuf ARSLAN, Field Crops
Doç. Dr. Gülsüm YALDIZ, Field Crops
Doç. Dr. Sezer ŞAHİN, Soil Science and Plant Nutrition
Doç. Dr. Ayhan HORUZ, Soil Science and Plant Nutrition
Doç. Dr. Aslıhan ESRİNGÜ, Soil Science and Plant Nutrition
Doç. Dr. Turgay DİNDAROĞLU, Forest Engineering
Doç. Dr. Hacı Ahmet DEVECİ, Nutrition and Dietetics
Doç. Dr. Yahya ÖZTÜRK, Animal Science
Doç. Dr. Tugay AYASAN, Animal Science
Doç. Dr. Selçuk ÖZYÜREK, Animal Science
Doç. Dr. Sabri GÜL, Animal Science
Doç. Dr. İsmail ÜLGER, Animal Science
Doç. Dr. Çağrı Özgür ÖZKAN, Animal Science
Doç. Dr. A. Onur GİRİŞGİN, Veterinary Medicine
Dr. Öğr. Üyesi Serhat HIZLISOY, Computer Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Murat TAŞYÜREK, Computer Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Reyhan YERGİN ÖZKAN, Plant Protection
Dr. Öğr. Üyesi Koray KAÇAN, Plant Protection
Dr. Öğr. Üyesi Murat KARACA, Plant Protection
Dr. Öğr. Üyesi Tarkan AYZ, Plant Protection
Dr. Öğr. Üyesi Fatih DEMİREL, Agricultural Biotechnology
Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz KAYA, Molecular Biology and Genetic
Dr. Öğr. Üyesi Fatma MUNGAN KILIÇ, Biology
Dr. Öğr. Üyesi Osman YILMAZ, Veterinary Medicine
Dr. Öğr. Üyesi Muhittin KULAK, Biology
Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ, Biology
Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ÇAKIR, Food Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Emrah KUŞ, Biosystem Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Necla BARLIK, Environmental Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Şahset İRDEMEZ, Environmental Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Fatma EKMEKYAPAR TORUN, Environ. Eng.
Dr. Öğr. Üyesi Aytaç ALTAN, Electrical Electronic Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Fatih Yavuz ILGIN, Elec. Elect. Eng.
Dr. Öğr. Üyesi N. Özlem UNVERDİ, Elec. Elect. Eng.
Dr. Öğr. Üyesi Yunus DEMİR, Industrial Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ATALAY, Civil Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Merve Kayacı ÇODUR, Industrial Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Sinan ÖZTAŞ, Industrial Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Fatma KOÇAK, Physics
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet TEBER, Electrical Electronic Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Yalçın KALKAN, Physics
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ÖZER, Physics
Dr. Öğr. Üyesi Yunus Onur YILDIZ, Mechanical Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Ali İhsan MEŞE, Physics
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Murat CEYLAN, Food Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Mubin KOYUNCU, Food Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Harun URAN, Food Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKŞİT, Food Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Veysel AKYÜNCÜ, Civil Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Suat Gökhan ÖZKAYA, Civil Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Sevinç AYDIN, Biology
Dr. Öğr. Üyesi Bedia BATI, Biology
Dr. Öğr. Üyesi Güzin PIHTILI, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Furkan ÖZEN, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Ümit YILDIKO, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Hilal MEDETALİBEYOĞLU, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Ramazan KALIN, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Musa ERDOĞAN, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Onur AKYILDIRIM, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Erdem ERGAN, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Özlem GÜNDOĞDU, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Sevda MANAP, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Büşra DİNÇER, Pharmacy
Dr. Öğr. Üyesi Emre GÖRGÜN, Mechanical Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Tarkan KOCA, Mechanical Engineering
Dr. Öğr. Üyesi İrfan UÇKAN, Mechanical Engineering
Dr. Öğr. Üyesi Tülay YAĞMUR, Mathematics
Dr. Öğr. Üyesi Abdullah ÇAĞMAN, Mathematics
Dr. Öğr. Üyesi Serbay DURAN, Mathematics
Dr. Öğr. Üyesi Onur SALDIR, Mathematics
Dr. Öğr. Üyesi Berrak ÖZGÜR, Mathematics
Dr. Öğr. Üyesi Adnan AYDIN, Agricultural Biotechnology
Dr. Öğr. Üyesi Barış EREN, Agricultural Biotechnology
Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ, Biology
Dr. Öğr. Üyesi Abdussamed Yasin DEMİR, Medical Genetics
Dr. Öğr. Üyesi Hediye KUMBASAROĞLU, Agric. Economy
Dr. Öğr. Üyesi Esra KADANALI, Economics and Administrative
Dr. Öğr. Üyesi Kasım ŞAHİN, Agricultural Economy
Dr. Öğr. Üyesi İlhan SUBAŞI, Field Crops
Dr. Öğr. Üyesi Nizamettin TURAN, Field Crops
Dr. Öğr. Üyesi Fevzi ALTUNER, Field Crops
Dr. Öğr. Üyesi Doğan ARSLAN, Field Crops
Dr. Öğr. Üyesi Ayşe USTA, Chemistry
Dr. Öğr. Üyesi Semiramis KARLIDAĞ, Animal Science
Dr. Öğr. Üyesi Esra GÜRSOY, Animal Science
Dr. Öğr. Üyesi Özer KURT, Animal Science
Dr. Öğr. Üyesi Dilek KABAKCI, Animal Science
Dr. Öğr. Gör. Derviş ÖZTÜRK, Biology
Dr. Öğr. Gör. Adil UMAZ, Chemistry
Dr. Öğr. Gör. Sevtap TIRINK, Environmental Engineering
Dr. Öğr. Gör. Merve Tuğçe TUNÇ ODABAŞ, Food Engineering
Dr. Öğr. Gör. Elvan HASANOĞLU ÖZKAN, Chemistry

Dr. Cihangir UYGUN, Biology

Dr. Neslihan BAL, Biology

Dr. Tufan SALAN, Material Science and Engineering

Dr. Ceren KARAMAN, Chemistry Engineering

Dr. Seçkin KARASU, Electrical Electronic Engineering

Dr. Fatma KURŞUN BAYSAK, Chemistry

Dr. Yusuf SICAK, Chemistry

Dr. Beste GİZEM, Biology

Dr. Gökhan DERVİŞOĞLU, Molecular Biology and Genetic

Dr. Vildan GÜDER, Physics

Dr. Ünal DÖMEKELİ, Physics

Dr. Aybek YİĞİT, Chemistry

Dr. Sema KAPLAN, Soil Science and Plant Nutrition

Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi (FBED)

YAYIN İLKELERİ

1. FBED, Uluslararası hakemli bir dergi olup yılda dört kez yayınlanır. Dergimiz herhangi bir ücret talep etmemektedir. Makalelerin tümüne açık erişimle ulaşılabilir ve tam metin olarak indirilebilir.
2. Dergiye gönderilebilecek makale konuları Bahçe bitkileri, Bilgisayar mühendisliği, Bitki koruma, Biyoloji, Biyosistem mühendisliği, Çevre mühendisliği, Elektrik elektronik mühendisliği, Endüstri mühendisliği, Fizik, Gıda mühendisliği, İnşaat mühendisliği, Kimya, Makina mühendisliği, Matematik, Moleküler biyoloji ve genetik, Orman mühendisliği, Peyzaj mimarlığı, Su ürünleri, Tarım ekonomisi, Tarla bitkileri, Toprak bilimi ve bitki besleme ve Zootekni'dir. Dergide orijinal araştırma makalesi, derleme, teknik not yayımlanabilir.
3. Tüm yazılar iki profesyonel hakem tarafından değerlendirilir, Editör ve Yayın Kurulu tarafından incelenir.
4. FBED Türkçe ve İngilizce dillerinde yazılmış orijinal araştırma makalesi, teknik not ve derleme (toplam yayınların %20) yayınlamaktadır.
5. Yayınlanması istenilen eserlerin herhangi bir yerde yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur.
6. Dergiye yayınlanmak üzere gönderilen eserlerle birlikte Telif Hakkı Devir Sözleşmesi de tüm yazarlarca (farklı adreslerde bulunan yazarlar forma ait tüm bilgileri doldurarak ayrıca imzalamak suretiyle gönderebilirler) imzalanarak gönderilmelidir.
7. Eserlerin tüm sorumluluğu yazarlarına aittir.
8. Aynı sayıda ilk isim olarak bir yazarın en çok iki makalesi basılır.
9. Eserler bilim etiği ilkelerine uygun olarak hazırlanmalı, gerekliyse Etik Kurul Raporu'nun bir kopyası eklenmelidir.
10. Herhangi bir sorunuz için lütfen fbed@igdir.edu.tr adresine başvurun.

Journal of the Institute of Science and Technology (JIST)

PUBLISHING POLICIES

1. JIST is International Peer Reviewed Journal and published four times a year. Our journal does not charge any fees. All of the articles are accessible by open access and can be downloaded in full text.
2. The articles that can be sent to the journal are Horticulture, Computer engineering, Plant protection, Biology, Biosystem engineering, Environment engineering, Electrical-electronic engineering, Industrial engineering, Physics, Food engineering, Civil engineering, Chemistry, Mechanical engineering, Mathematics, Molecular biology and genetic, Forestry engineering, Landscape architecture, Fisheries, Agricultural economy, Field crops, soil science and plant nutrition and animal science.
3. All the manuscripts submitted to our journal are peer reviewed by two professional referees, Editor in Chief, and Editorial Board.
4. JIST intends to publish original research papers, technical notes, and reviews (20% of total papers) written in Turkish and English languages.
5. Manuscripts and communications are accepted on the understanding that these have not been published nor are being considered for publication elsewhere.
6. All the authors should submit their manuscript with transfer form of copyright for potential publication. The transfer form of Copyright should be signed by all authors.
7. All the authors will be responsible contextually for contents of their manuscripts.
8. Only two manuscripts of each author as first author can be published in same issue of JIST.
9. Manuscripts should be prepared in accordance with scientific ethic rules. When required, ethical committee reports with the related documents should be submitted to JIST.
10. Please contact for any question to fbed@igdir.edu.tr

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Bilgisayar Mühendisliği / Computer Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

A High Available Multi-Controller Structure for SDN and Placement of Multi-Controllers of SDN with Optimized K-means Algorithm
Bilal BABAYİĞİT, Banu ULU

2456

Bitki Koruma / Plant Protection

Araştırma Makalesi / Research Article

A weedy species in agricultural areas and an attractive wildflower in nature: Common poppy (*Papaver rhoeas* L.) – Can it be used for fruit preservation in the future?
İbrahim KAHRAMANOĞLU, Ramazan GÜRBÜZ, Harun ALPTEKİN

2467

Araştırma Makalesi / Research Article

Bazı Yabancı Ot ve Kültür Bitkisi Tohumlarının Çimlenmesine Yarpuz (*Mentha pulegium* L.) Uçucu Yağının Etkileri
The Effects of Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) Essential Oil on the Germination of Some Weed and Cultivated Seeds
Yücel KARAMAN, Ayşe YAŞAR, Nihat TURSUN

2477

Araştırma Makalesi / Research Article

Thymus sipyleus (Boiss.) subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas ve *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* (Lamiaceae) Ait Uçucu Yağların Bazı Depolanmış Ürün Zararlılarına Karşı Fumigant Etkileri
Fumigant Effects of Essential Oils of *Thymus sipyleus* (Boiss.) subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas and *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* (Lamiaceae) Against Some Stored Product Pests
Seliha AKKUŞ, Celalettin GÖZÜAÇIK, Levent GÜLTEKİN

2487

Araştırma Makalesi / Research Article

Physiological and Genetic Variation of *Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L. Lines Planted in Turkey
Emre YÖRÜK, Esra Nur KELEŞ, Semih ERLİK, Seçil YILDIZ, Esmâ ÖZSOY, Gizem KOCABAŞ

2498

Biyoloji / Biology

Araştırma Makalesi / Research Article

Variation of Minerals Content and Some Bioactive Compound in Some Wild and Cultivated Edible Plants Grown Naturally in Kastamonu Region
Nezahat TURFAN

2506

Araştırma Makalesi / Research Article

Isatis quadrialata Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae)'nin anatomik, morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri
Anatomical, morphological and micromorphological characteristics of *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae)
Burcu YILMAZ ÇITAK, Emrah ŞİRİN, Kuddisi ERTUĞRUL

2518

Araştırma Makalesi / Research Article

Anatomy, Palynology and Micromorphology of the Genus *Astragalus* L. (Fabaceae) Section *Uliginosi* Gray in Turkey
Funda ÖZBEK, Murat EKİCİ, Hatice Nurhan BÜYÜKKARTAL, Nur Münevver PINAR

2525

Araştırma Makalesi / Research Article

Cittaslow Şehri Halfeti (Şanlıurfa)'nin "Meyve Yemekleri Festivali"nin Etnobotanik Açısından Değerlendirilmesi
Ethnobotanical Evaluation of "Fruit Food Festival" of Halfeti (Şanlıurfa), Cittaslow City
Emine ATÇI, Hasan AKAN

2537

Araştırma Makalesi / Research Article

Bir Azo Boyası Olarak Maxilon Blue 5G'nin Solucanlar Üzerindeki Akut Ekotoksikolojik ve Histopatolojik Etkileri
Acute Ecotoxicological and Histopathological Effects of Maxilon Blue 5G as an Azo Dye on Earthworms
Mine KOKTURK, Fikret ALTINDAG

2549

Araştırma Makalesi / Research Article

Tuz ve Kuraklık Stresi Altında Yetiştirilen Buğday Bitkisine (*Triticum aestivum* L.) Silikon Uygulamalarının Bazı Stres Parametreleri Üzerine Etkisi
The Effect of Silicon Applications on Some Stress Parameters of Wheat Plant (*Triticum aestivum* L.) Grown Under Salt and Drought Stres
Emel DIRAZ YILDIRIM, Hakan GÜNEŞ

2559

Araştırma Makalesi / Research Article

Jipsli Habitatlarda Doğal Olarak Yetişen *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon (Fabaceae)'nin Ultrayapısal Bulguları ve Uyarlanabilir Yanıtları
Adaptive Responses and Ultrastructural Findings of *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon (Fabaceae) Growing Naturally at Gypsum Habitats
Ayşenur KAYABAŞ

2573

Derleme Makalesi / Review Article

Fenolik Bileşiklerden Sinamik Asit, Kafeik Asit ve p-kumarik Asit'in Bazı Biyolojik Aktiviteleri
Some Biological Activities of Phenolic Compounds Cinnamic Acid, Caffeic Acid and p-Coumaric Acid
Kadriye Ashıhan ONAT, Merve SEZER KÜRKCÜ, Bekir ÇÖL

2587

Biyosistem Mühendisliği / Biosystem Engineering

Derleme Makalesi / Review Article

Biyokömür ve Toprak Fiziksel Özellikleri
Biochar and Soil Physical Properties
Alperay ALTIKAT, Mehmet Hakkı ALMA

2599

Çevre Mühendisliği / Environmental Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Sulfur Removal from Coal with The Basic Extraction Liquid of Oak Ash
Gizem Hazan CAGLAYAN, Ubeyde İPEK

2613

Araştırma Makalesi / Research Article

Gürültünün Hasta ve Hemşirelerin Durumluluk Kaygı Düzeyleri Üzerine Etkisinin Karşılaştırılması
Comparison of Noise Effects to State Anxiety Levels of Patients and Nurses
Bahanur MALAK AKGÜN, Mustafa AKGÜN

2621

Araştırma Makalesi / Research Article

Kalsiyum Aljinatta Tutuklanmış Paracoccus denitrificans ile Sabit Yatak Biyoreaktörde İçme Sularından Nitrat Giderimi
Nitrate Removal from Drinking Water by Calcium Alginate Immobilized Paracoccus denitrificans in a Packed Bed Bioreactor
Emine KURU KAÇMAZOĞLU

2632

Araştırma Makalesi / Research Article

The Use of Waste Green Tea Leaves for Crystal Viyole Adsorption: Kinetic, Equilibrium and Thermodynamics Studies
Züleyha BİNGÜL

2645

Elektrik Elektronik Mühendisliği / Electrical Electronic Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Osteoporozla Bağlı Kifozlu Hastalara Uygulanan Egzersizlerin Oluşturduğu Denge Değişikliklerine İlişkin Veriler Kullanılarak Yapay Sinir Ağlarının Diğer Sınıflandırma Algoritmalarıyla Karşılaştırılması
Comparison of artificial neural networks with other classification algorithms using data on balance changes caused by exercises applied to patients with kyphosis due to osteoporosis
Serdar GÜNDOĞDU

2660

Araştırma Makalesi / Research Article

Kesir Dereceli Hiperkaotik Osilatörlerde Trigonometrik Fonksiyon ile Çoklu Çeker Üretimi
Generation of Multi Scroll Attractor with Trigonometric Function in Fractional-Order Hyperchaotic Oscillators
Kenan ALTUN

2673

Araştırma Makalesi / Research Article

Fotovoltaik Hücre I-V ve P-V Eğrileri Üzerine Sıcaklığın Etkisi
Effect of Temperature on The I-V and P-V Curves of The Photovoltaic Cell
Hasan CANGI, Süleyman ADAK, Ahmet Serdar YILMAZ

2682

Araştırma Makalesi / Research Article

Comparison of the Mobile and Fixed Nano/Micro-Scale Systems by Using Monte Carlo Simulation for Different Viscosity Values
İbrahim ISIK, Esme ISIK

2695

Endüstri Mühendisliği / Industrial Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Ulaştırma Enerji Talebinin Yapay Sinir Ağları ile Modellenmesi
Transportation Energy Demand Modeling with Artificial Neural Networks
Merve KAYACI ÇODUR

2706

Derleme Makalesi / Review Article

Tekrarlı Açgözlü Algoritma Üzerine Kapsamlı Bir Analiz
A Comprehensive Analysis on the Iterated Greedy Algorithm
Yunus DEMİR

2716

Fizik / Physics

Araştırma Makalesi / Research Article

Overhauser Dynamic Nuclear Polarization Parameters of a Nitroxide Radical in Liquid
Handan ENGİN KIRIMLI

2729

Araştırma Makalesi / Research Article

Synthesis and Investigation of Structural and Magnetic Properties of Nickel Doped BiFeO₃
Ramazan TOPKAYA, Kenan ÇİÇEK, Adem KOÇYİĞİT

2737

Araştırma Makalesi / Research Article

1-100 MeV Enerjili Proton-Silikon Etkileşmeleri ile Geritepen Üretimine GEANT4 Benzetimi
GEANT4 Simulation of Recoils Production with Proton-Silicon Interactions with 1- 100 MeV Energy
Adnan KILIÇ

2746

Araştırma Makalesi / Research Article

Uygulanan Çekme Deformasyonu Altında Niyobyum Nano Telinin Mekanik Özelliklerinin Moleküler Dinamik Benzetimi ile İncelenmesi
Investigation of Mechanical Properties of Niobium Nanowire Under Applied Tension Deformation by Molecular Dynamics Simulation
Sefa KAZANÇ

2746

Araştırma Makalesi / Research Article

Polarization Effects on Intersubband Absorption in GaN/ZnGeN₂ Quantum Wells
Raşit ÇAKIR

2772

Araştırma Makalesi / Research Article

Eş-eksenli Al, As ve Ga Alaşım Katmanlarından Oluşan Silindirik Kuantum Tellerinde Eksiton Bağlanma Enerjilerinin Dış Elektrik Alanlar Altında İncelenmesi
An Investigation of Exciton Binding Energies in Cylindrical Quantum Wires Consist of Various Coaxial Al, As and Ga Alloys under External Electric Fields
Abdullah BİLEKKAYA

2782

Araştırma Makalesi / Research Article

Investigation of I-V-T Characteristics of Cr/Indigo Carmine/p-Si/Al Heterojunction Diode
Ali Rıza DENİZ

2790

Araştırma Makalesi / Research Article

3-Piridin Boronik Asit ve PtCN₄ İçeren Yeni [HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂[Pt(CN)₄] Bileşiğinin Sentezi ve Kristal Yapısı
Synthesis and Crystal Structure of New [HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂[Pt(CN)₄] Compound of Containing Pyridine-3-Boronic Acid and PtCN₄
Elif GÜNGÖR, Hülya KARA SUBAŞAT

2803

Gıda Mühendisliği / Food Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Antioxidant Capacity, Fatty Acid Profile and Volatile Components of the Onopordum Anaticum and Onopordum Heteracanthum Species Seeds Grown in Van, Turkey
Ayhan BAŞTÜRK, Sümeye PEKER

2810

Araştırma Makalesi / Research Article

Scolymus hispanicus L. Unu İlavasının Hamurun Reolojik Özellikleri Üzerine Etkisi
Effect of *Scolymus hispanicus* L. Flour Supplementation on Rheological Properties of Dough
Dilek DÜLGER ALTINER, Yasemin ŞAHAN

2823

Derleme Makalesi / Review Article

Et ve Et Ürünlerinin Tekstürel Özelliklerini Enstrümantal Olarak Tespit Etme Yöntemleri ve Tekstür Profil Analizi Üzerine Bir Derleme
A Review on Methods of Determining Textural Properties of Meat and Meat Products Instrumentally and Texture Profile Analysis
Ebru ERDEMİR, Mehmet Murat KARAOĞLU

2836

İnşaat Mühendisliği / Civil Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Farklı Agregalarla Üretilen Silindirik Sıkıştırılmış Betonların Donma-Çözülme Direncinin Araştırılması
Investigation of Freeze-Thaw Resistance of Roller Compacted Concretes Produced with Different Aggregates
İsmail KILIÇ, Saadet Gökçe GÖK

2849

Kimya / Chemistry, Kimya Mühendisliği / Chemical Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Farmasötik Preparatlarda Ondansetron Tayini İçin Elektrokimyasal Sensör Geliştirilmesi
Development of Electrochemical Sensor for Determination of Ondansetron in Pharmaceutical Preparations
Zehra Özden ERDOĞAN, Mustafa Barış KOÇER, Serkan SAYIN, Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI

2860

Araştırma Makalesi / Research Article

4-((3-(Triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit Birimi İçeren Yeni Hidrazon Türevlerinin Sentezi
Synthesis of New Hydrazone Derivatives Bearing 4-((3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)oxy)benzohydrazide
Aytekin KÖSE

2870

Araştırma Makalesi / Research Article

The Effect of *Rosa Pisiformis* (Christ) D.Sosn on Some Metabolic Enzyme Activities in STZ Applied Diabetic Rats
STZ İle Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Rosa Pisiformis(Christ) D.Sons'un Bazı Metabolik Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi
Mahire Bayramoğlu AKKOYUN, Aydın Şükrü BENGÜ, Yusuf TEMEL, Hurrem Turan AKKOYUN, Suat EKİN, Mehmet CIFTCI 2880

Araştırma Makalesi / Research Article

PCL Makro Başlatıcı Kullanarak ATRP ve ROP ile Blok Kopolimerlerin Tek Basamakta Sentezi
One-Pot Synthesis of Block Copolymers via ATRP and ROP Using PCL Macroinitiator
Sema ALLI 2890

Araştırma Makalesi / Research Article

Kalkon Grubu Taşıyan Yeni Akrilamid Polimerinin Hazırlanması, Kinetik ve Dielektrik Özelliklerinin İncelenmesi
Preparation of a New Acrylamide Polymer Containing Chalcone Croup, Investigation of Its Kinetic and Dielectric Properties
Eray ÇALIŞKAN, Fatih BİRYAN, Kenan KORAN 2903

Araştırma Makalesi / Research Article

Bimolecular Interactions Between Graphene Oxide and a New Aza-BODIPY Derivative
Mustafa ARIK, Serhat Salih BAŞAR, Demet DEMİRCİ GÜLTEKİN, Serkan ŞEN 2916

Araştırma Makalesi / Research Article

Fenazin Tabanlı Bileşiklerin OLED ve TADF Özelliklerinin İncelenmesi
Investigation of OLED and TADF Properties of Phenazine Based Compounds
Zeynep Şilan TURHAN 2926

Araştırma Makalesi / Research Article

Ege Bölgesinde Yetişen Antiviral M. parviflora L (Ebegümeçi) Bitkisi Kullanılarak Demir oksit (γ -Fe₂O₃) Nanopartiküllerin Sentezi ve Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi
Synthesis of Iron Oxide (γ -Fe₂O₃) Nanoparticles Using Antiviral M. Parviflora L (Mallow) Plant Growing in the Aegean Region and Investigation of Antibacterial Properties
Mine SULAK 2937

Araştırma Makalesi / Research Article

Investigation of the Inhibition Effects of Some Antidepressants on Lactoperoxidase Enzyme
Zeynep KÖKSAL, Ali ATASEVER 2947

Araştırma Makalesi / Research Article

THBF Bileşiğinin İnsiliko Moleküler Yerleştirme Çalışmaları: TD-DFT Simülasyonları ve İlaç Tasarımı
Insilico Molecular Docking Studies of THBF Compound: TD-DFT Simulations and Drug Design
Ahmet Turan TEKEŞ, Ahmet Çağrı ATA, Aslihan Aycan TANRIVERDİ, İsmail ÇAKMAK 2955

Araştırma Makalesi / Research Article

Some Aryl Sulfonyl Ester-Based Heterocyclic Schiff Bases: Synthesis, Structure Elucidation and Antioxidant Activity
Eyüp BAŞARAN 2967

Araştırma Makalesi / Research Article

Schiff Bazı Bileşiklerinin Çevreci Bir Yöntemle Yeniden Sentezi
Re-synthesis of Schiff Base Compounds by an Environmental Method
Sertan AYTAÇ 2979

Araştırma Makalesi / Research Article

Hippophae Rhamnoides L. (Yabani İğde) Bitkisinin Meyve Ekstraktlarının *In Vitro* Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması
Investigation of *In Vitro* Antioxidant Properties of Fruit Extracts of *Hippophae Rhamnoides* L.
Bilal HAYTA, Mine GULABOGLU, Zerrin KUTLU 2992

Makina Mühendisliği / Mechanical Engineering

Araştırma Makalesi / Research Article

Strenx 1100 Çeliğinin MMY Yardımıyla Sert Frezelenmesinde Enerji Tüketimi Üzerine Çalışma
Study on Consumed Energy of Strenx 1100 Steel During MQL Assisted Hard Milling
Mustafa KUNTOĞLU 3003

Araştırma Makalesi / Research Article

Transient structural analysis of a Turbula mixer
Hüseyin BEYTUT, Mahir UZUN, Şemsettin TEMİZ 3014

Araştırma Makalesi / Research Article

Benzinli Bir Motorda Kullanılan Alkol Katkılı Yakıtların Motor Performans ve Egzoz Emisyonlarına Etkisi
Effect of Alcohol Additive Fuels Used in a Gasoline Engine on Engine Performance and Exhaust Emissions
Rasim BEHÇET, Ahmet YAKIN 3024

Derleme Makalesi / Review Article

Yeşil Kompozit Malzemelerin Performans Özellikleri ve Otomotiv Endüstrisinde Kullanımı
A Review Of Performance Of Green Composites And Using In Automotive Industry
Ali AVCI, Ayşegül AKDOĞAN EKER, Mehmet Safa BODUR

3035

Matematik / Mathematics

Araştırma Makalesi / Research Article

Spectrum of Discrete Sturm-Liouville Equation with Self-adjoint Operator Coefficients on the Half-line
Gökhan MUTLU

3055

Araştırma Makalesi / Research Article

On Some Identities Involving Cauchy Products of Central Delannoy Numbers
Serpil HALICI

3063

Araştırma Makalesi / Research Article

Computing the Forgotten Topological Index for Zero Divisor Graphs of MV-Algebras
Necla KIRCALI GÜRSOY

3072

Araştırma Makalesi / Research Article

Simulation of Wave Solutions of a Mathematical Model Representing Communication Signals
Özlem KIRCI, Tolga AKTÜRK, Hasan BULUT

3086

Araştırma Makalesi / Research Article

On Schur Stability and Oscillation of Second Order Difference Equations
Ramazan ÇAKIROĞLU, Ahmet DUMAN, Kemal AYDIN

3098

Moleküler Biyoloji ve Genetik / Molecular Biology and Genetic

Araştırma Makalesi / Research Article

Determination of Total Xylanase Activities of Various Thermophilic Bacteria
Orhan ULUCAY, Arzu GORMEZ, Cem OZIC

3111

Araştırma Makalesi / Research Article

Genetic Diversity of Turkish Cultivated Emmer (*Triticum dicoccum Schrank*) Revealed by Microsatellite Markers
Hatice DEMİR, Dogan ILHAN

3119

Araştırma Makalesi / Research Article

Phylogeographic Structure of Kars Emmer Wheat (*Triticum dicoccum Schrank ex Schübl*) in Turkey Explained by SSR Markers
Dogan ILHAN, Hatice DEMİR

3128

Araştırma Makalesi / Research Article

Gümüş Nanoparçacıklarının *Kribbella turkmenica* 16K104 Aracılığıyla Sentezi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi ve Genotoksik Potansiyelinin Değerlendirilmesi
Synthesis of Silver Nanoparticles by *Kribbella turkmenica* 16K104, Their Characterization, Antimicrobial Properties and Genotoxic Potential
Tuğba ÇELİK, Serpil KÖNEN ADIGÜZEL, Ali Osman ADIGÜZEL

3138

Peyzaj Mimarlığı / Landscape Architecture

Araştırma Makalesi / Research Article

Akarsu ve Vadi Peyzajlarında Bir Tasarım Yaklaşımı: Denizli Zindan Deresi Örneği
A Design Approach in Stream and Valley Landscapes: The Case Study of Zindan Stream, Denizli-Turkey
Murat ZENGİN, Sinem ÖZDEDE, Duygu DOĞAN, Tolga AYDAR

3152

Tarım Ekonomisi / Agricultural Economy

Araştırma Makalesi / Research Article

Economic Analysis and Marketing Margin of Walnut Market In Turkey
Emine ASKAN

3163

Araştırma Makalesi / Research Article

Erzurum İlindeki Tüketicilerin Bal Tüketim Tercihlerinin İncelenmesi
Investigation of Honey Consumption Preferences of Consumers in Erzurum
Gökçe DENİZLİ AKDEMİR, Vedat DAĞDEMİR

3172

Derleme Makalesi / Review Article

Kamu Desteklerinin Tarımsal Ürün Piyasalarına Bozucu Etkisi
Dissolving Effect of Public Support on Agricultural Product Markets
Zeki BAYRAMOĞLU, Kemalettin AĞIZAN, Süheyla AĞIZAN

3184

Tarla Bitkileri / Field Crops

Araştırma Makalesi / Research Article

Distilasyon Yöntemlerinin, Sürelerinin ve Fraksiyonlarının Kekik (*Origanum onites* L.) Uçucu Yağ Oranları ve Bileşenleri Üzerine Etkisi

Influence of Distillation Methods, Times and Fractions on Essential Oil Contents and Compounds in Turkish Oregano (*Origanum onites* L.)

Ümmü TUĞLU, Hasan BAYDAR, Sabri ERBAŞ

3195

Araştırma Makalesi / Research Article

Farklı Sulama Seviyelerinin Bazı Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Çeşitlerinde Kök ve Sürgün Gelişmesine Etkileri

Effects of Different Irrigation Levels on Shoot and Root Development of Some Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Genotypes

Emre AKÇAY, Mustafa TAN

3203

Araştırma Makalesi / Research Article

Şeker Mısırdaki Çimlenme ve Erken Fide Gelişimi Döneminde Tuz Stresine Karşı Salisilik Asit Ön Uygulamasının Etkisi

The Effect of Salicylic Acid Pre-Application Against Salt Stress During Germination and Early Seedling Development in Sugar Corn

Elif ÖZTÜRK, Hasan AKAY, İsmail SEZER

3213

Araştırma Makalesi / Research Article

Vermikompostlu Ortamda Yetiştirilen *Calendula officinalis* L. Bitkisinde Tuz Stresinin Morfolojik ve Anatmik Gelişim Parametreleri Üzerindeki Etkisi

Effect of Salt Stress on Morphological and Anatomical Growth Parameters of *Calendula officinalis* L. Plant Grown in Vermicompost Medium

Ezelhan ŞELEM, Lütfi NOHUTÇU, Rüveyde TUNÇTÜRK, Murat TUNÇTÜRK

3222

Araştırma Makalesi / Research Article

The Effect of Seed Priming Applications on Germination Parameters of Red Clover (*Trifolium pratense* L.)

Mehmet Arif ÖZYAZICI, Semih AÇIKBAŞ

3232

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme / Soil Science and Plant Nutrition

Araştırma Makalesi / Research Article

Farklı Toprak İşleme Sistemlerinde Yetiştirilen Buğday Bitkisinin Farklı Gelişim Dönemlerinde Toprakların Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Determination of Soil Enzyme Activities in Different Wheat Growing Stages under Different Tillage Systems

Erhan ERDEL

3243

Araştırma Makalesi / Research Article

Determining The Effect of Different Tillage Methods on Soil Penetration Resistance During Wheat Growing Season

Erhan ERDEL

3254

Zootekni / Animal Science

Araştırma Makalesi / Research Article

The Effect of Trolox on Oxidative Stress Index and Nitric Oxide Levels

Ahmet HARMANKAYA, Ayla OZCAN, Kezban YILDIZ DALGINLI, Dincer ERDAG, Yesim AYDIN DURSUN, Büsra MERT

3262

Araştırma Makalesi / Research Article

Malatya İli Koyunculuk İşletmelerinde Yetiştiricilik Uygulamalarına Ait Özelliklerin Belirlenmesi

Determination of Features of Breeding Practices in Sheep Farms in Malatya Province

İbrahim ŞEKER, Selim KUL, Abdurrahman KÖSEMAN, Emre ELÇİ

3269

Araştırma Makalesi / Research Article

Muş İli Damızlık Sığır/Manda Yetiştiricileri Birliklerine Üye İşletmelerin Yem Temini ve Hayvan Besleme Alışkanlıkları

Feedstuff Supplying and Animal Feeding Habits of Businesses That Are Members of the Associations of Cattle Breeders and Water Buffalo Breeders of Muş Province of Turkey

Serhat YILDIZ, Suphi DENİZ

3280

Araştırma Makalesi / Research Article

Morkaraman ve İvesi Erkek Kuzularında Bazı Et Kalite Özellikleri Üzerine Olgunlaştırma Süresi ve Irkın Etkisi

The Effect of Aging Time and Breed on Some Meat Quality Traits in Morkaraman and Awassi Ram Lambs

Doğan TÜRKYILMAZ, Şeyma ŞİŞİK OĞRAŞ, Ülkü DAĞDELEN, Mustafa YAPRAK, Nurinisa ESENBÜĞA

3292

Araştırma Makalesi / Research Article

Iğdır İli Hayvancılığında Kullanılan Bazı Kaba ve Kesif Yem Kaynaklarının Besin Madde Kompozisyonları, Metabolik Enerji, Organik Madde Sindirim Derecesi ve *In Vitro* Gaz Üretim Kapasitelerinin Belirlenmesi

Determination of Chemical Composition, Metabolisable Energy, Organic Matter Digestibility and *In Vitro* Gas Production of Some Forages and Concentrates In Iğdır

Ali İhsan ATALAY, Adem KAMALAK

3300

Derleme Makalesi / Review Article

Arıcılıkta Bazı Biyoteknolojik Gelişmelere Bakış

A Summary of Some Recent Biotechnological Advancements in Beekeeping

Erkan TOPAL, Aybike SARIOĞLU, Devrim OSKAY, Ralitsa BALKANSKA, Nazmiye GÜNEŞ, Raşan İVGİN TUNCA

3308

Atf İçin: Babayigit B, Ulu B, 2021. Yüksek kullanılabilirliğe sahip SDN çoklu-denetleyici yapısı ve optimize edilmiş k-means algoritması ile SDN'nin çoklu-denetleyicilerinin yerleştirilmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2456-2466.

To Cite: Babayigit B, Ulu B, 2021. A high available multi-controller structure for SDN and placement of multi-controllers of SDN with optimized k-means algorithm. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2456-2466.

A High Available Multi-Controller Structure for SDN and Placement of Multi-Controllers of SDN with Optimized K-means Algorithm

Bilal BABAYİĞİT¹, Banu ULU^{1*}

ABSTRACT: Facilitating the management of the traditional networks, Software Defined Networking (SDN), separates data plane and control plane, so providing advantages such as programmability, flexibility, and cost-effective configuration. But, SDN has some problems such as security, infrastructure, single-point-of-failure, and controller placement. A single-point-of-failure problem can be solved with a multi-controller; however, it needs to be improved. The most critical issue in solving the multi-controller placement problem is minimizing latency between controllers and their associated switches. In this paper, an SDN-based multi-controller system using Docker-swarm mode is presented to solve the single-point-of-failure problem, and using the presented system, the multi-controller placement problem is solved with optimized k-means (Opk-means) in order to reduce the end-to-end latency. The experimental results show that the proposed testbed provides a high availability control plane for multi-controller, and the Opk-means algorithm significantly reduces the latency when compared to the standard k-means in the testbed.

Keywords: Software defined network, docker swarm mode, multi-controller, controller placement, optimized k-means

¹Bilal BABAYİĞİT ([Orcid ID:0000-0002-2923-5263](https://orcid.org/0000-0002-2923-5263)), Banu ULU ([Orcid ID:0000-0002-3593-0756](https://orcid.org/0000-0002-3593-0756)), Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Kayseri, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Banu ULU, e-mail: banudaglioglu@hotmail.com

* Bu çalışma BU'nun Doktora tezinden üretilmiştir.

INTRODUCTION

Big data, cloud services, and the Internet of Things (IoT) are new computing and information technologies. These technologies fundamentally change the way we store, obtain, and transfer information and data. However, these changes are increasing the requirement for a new network because traditional network architectures have several limitations such as complicated management, seller dependent network, predefined policies of communication devices (such as layer three switches and the router), and also they are improper for the dynamic computing, communication technologies, and source capabilities. Software defined networking (SDN) (McKeown, 2009; Nunes et al., 2014) is a promising network technology that eliminates the limitations of the traditional network. The main idea of SDN is to achieve a programmable network and to improve the network performance by decoupling the control plane and data plane. The planes have different responsibilities; while the overall behavior of the network is managed by the control plane, the process of sending and receiving data to other devices in the network is performed with the data plane. So, the data plane is kept the same as in the traditional network, but the control plane is isolated and moved to a central location within the network named controller. The network manager can determine and produce the rules and policies of the routing devices with the assistance of the SDN controller(s), according to the requirements. It is accepted that SDN, network has a single controller. However, with the enlargement of the SDN network, a single controller cannot meet the comprehensive management requirements (Lu et al., 2019). To develop the reliability and scalability of the network and to avoid the single-point-of-failure, the multi-controller network architecture is proposed. In a multi-controller system, new controllers are created on different machine containers to improve SDN control plane availability and to enable continuously processing controller. The machines can be real computer systems or container-based virtualization systems. Today, one of the commonly used container-based virtualization machines is Docker (Bella et al., 2018).

Docker is an open-source project that automates software deployment using Linux containers (Nguyen and Bein, 2017). Docker runs on macOS, Linux distributions, Windows, and various cloud service providers. In contrast to virtual machines, Docker containers are much more functional and do not require a real secondary operating system owing to the advanced level of abstraction that virtualizes only operating system. Managing several containers is a difficult task in creating a single virtual system. On multiple machines, managing a cluster of Docker Engines is solved by Docker-swarm mode. Swarm mode combines the orchestration ability of Docker-swarm into Docker Engine, which is the layer between the operating system and the container images. The Swarm is controlled through a swarm manager to orchestrate and schedule the containers. Also, Swarm has scheduling capabilities to provide enough resources for spanned containers. Swarm dedicates containers to underlying nodes and optimizes the resources by automatically scheduling the container.

Deployed multi-controllers typically must rapidly establish new flows and synchronize global network views to be supported several network applications. This creates a Controller Placement Problem (CPP). CPP mentions how to place controllers in an SDN-enabled network to reduce the overall latency and how many numbers of SDN controllers required for a reliable and flexible network processing and how to distribute associated switches. The overall latency is important in SDN because the control process of the network is decoupled from simplified switches, and all functions of the network are realized through message exchanging between switches and controllers. Overall latency contains the queuing latency and end-to-end latency, which includes packet transmission latency, switch processing latency, and propagation latency (Wang et al., 2018). Recent studies on the overall latency problem have been focused on the reducing of packet propagation latency by using artificial intelligence

techniques. In these studies, artificial intelligence techniques such as genetic algorithm (Hu et al., 2017; Sanner et al., 2017; Ahmadi and Khorramizadeh, 2018; Huang et al., 2019), particle swarm algorithm (Sahoo et al., 2017; Liao and Leung, 2017), POCO (Lange et al., 2015) and k-means (Wang et al., 2016) are used.

The k-means algorithm MacQueen (MacQueen, 1967) is used to solve the clustering problems and is one of the basic unsupervised learning algorithms. K-means has a simple procedure to classify a given data set through a determined number of clusters (assume k clusters). It chooses randomly initial centers and calculates the distance with Euclidean distance for clustering. So, this algorithm cannot be directly implemented to partition network topologies. In recent studies (Wang et al., 2016; Wang et al., 2018) k-means algorithms are used to divide the network into different sub-networks for CPP. In these studies, the smallest maximum latency times of the algorithms are compared.

In this paper, we implement an SDN-based multi-controller system using Docker-swarm mode, and multi-controller placement with optimized k-means (Opk-means) is proposed to reduce the end-to-end latency. If the controller connection has failed, high uptime cannot be achieved in the multi-controller structure. In the proposed system, a new controller is automatically created by Docker swarm mode whether the controller is disconnected from the Docker swarm. The high uptime problem is solved by Docker-swarm mode. However, in Docker-swarm mode, the controllers are randomly selected. That is, if one of the controllers shuts down, the controller that will replace it is selected randomly. This prevents the stable configuration of the network structure. To solve this problem, standard k-means (Stdk-means) and Opk-means algorithms are proposed. The Opk-means clustering algorithm is applied to the Ulaknet dataset of Turkey in order to optimally solve for CPP in a multi-controller structure with Docker-swarm mode. In contrast to the previous studies (Wang et al., 2016; Wang et al., 2018), in the paper, the Opk-means algorithm used to determine the number of controllers according to the minimum latency and reduce the end-to-end latency which directly affects the overall latency. With an Opk-means algorithm, eliminating the disadvantages of the Stdk-means algorithm, the end-to-end latency time of the CPP is reduced to an optimum level.

MATERIALS AND METHODS

Optimized k-means (Opk-means)

The Stdk-means algorithm (MacQueen, 1967) involves four main steps:

- I. Initialize k clusters and separate one center to each cluster using random sampling.
- II. Separate nodes into one of the clusters based on Euclidean distance.
- III. Calculate again centroid for each cluster.
- IV. Repeat steps 2 and 3 until there is no change in each cluster.

The Stdk-means algorithm cannot be applied directly to network partitioning topologies because, k-means algorithm randomly chooses initial centers using Euclid distances. However, the centroid place, where the controller is placed, is not guaranteed. In order to eliminate, the k-means algorithm should be optimized.

In the first step in the Opk-means algorithm, the central node of the network is randomly selected. Thus, the algorithm will learn better the main center of the network. In the second step, the shortest path from the centroid to all nodes is selected. Each node that has infinite distance at the beginning is assigned to the cluster closest to it. The Dijkstra algorithm is used to select the shortest path. In the third step, the centroid is updated to minimize the sum of the shortest distance from all points. The procedure is ongoing until the network is eventually divided into k sub-networks, which is selected according to the minimum latency time parameter determined. During each partition, the algorithm can reduce the maximum end-

to-end latency between controllers and their related nodes. So, the maximum latency is importantly reduced compared with the standard clustering algorithms such as k-means.

Methods

This study is organized into two parts. First, a multiple controller structure is designed and implemented by using Docker to solve the problems caused by a single controller. Docker swarm mode is used to create a new controller when one of the controllers cannot be reached. Second, an Opk-means algorithm is applied to solve the CPP caused by these controllers.

The experimental setup is as follows: First, it is performed on Linux 16.04 operating system. The computer used for the study has an i7 processor with 8 GB Ram capacity. The SDN topology is created in a mininet (Anonymous, 2013) simulation environment. Floodlight (Anonymous, 2012) is used as a controller. Docker (Anonymous, 2013) containers are installed on the Odroid mc1. The jupyter notebook is used to distribute the controllers according to the Opk-means algorithm.

The block diagram of the proposed structure created with Docker swarm mode is shown in Figure 1. The controllers must be created in floodlight. For this purpose, IP, port numbers, and the node ID of each controller should be given in the setting files. Also, a leader is selected among the active controllers. The necessary topology is created in the mininet emulator to see that the active controllers run efficiently.

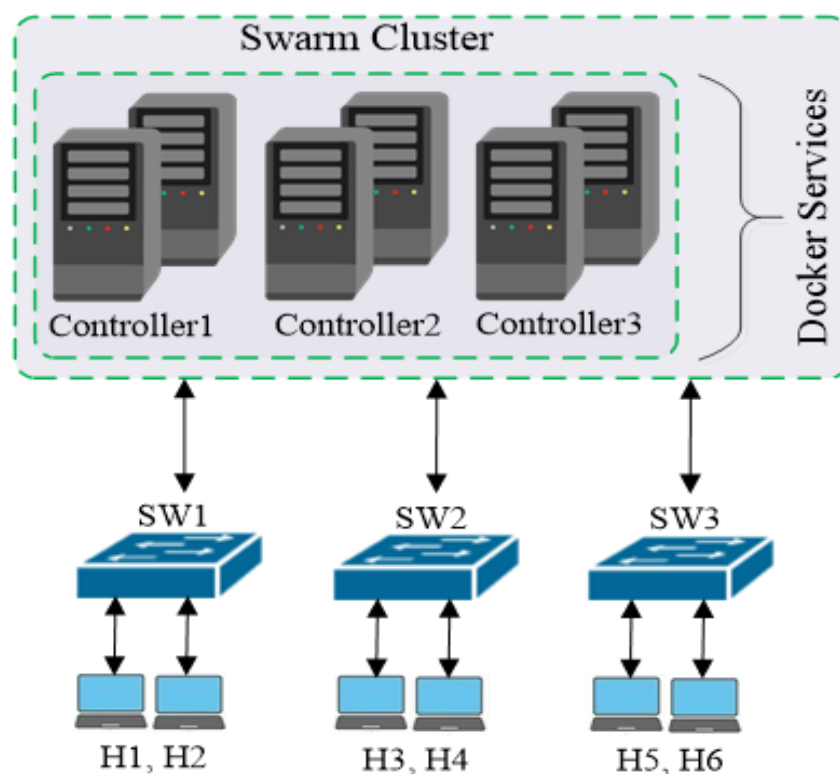


Figure 1. The diagram of the structure created with docker- swarm mode

Odroid mc1 devices are used in order to build the multiple-controller structure in the test environment. The Docker system is installed on the Odroid mc1. The Docker system is used to resume the system running in case of failure to one of the controllers. The controllers are not installed directly on a server; instead of this, the controller is started as a service in the Docker system. Thus, the controller is always accessible from different devices. Docker files are used to create the Docker image. The controllers are turned into an image file. This image file is started as a service in Docker-swarm mode. The controller's 8080 port is transposed as 8090 and initialized with one replica. The purpose of one

replica is to ensure that one controller is active in the system. The structure created with Docker-swarm mode implemented is shown in Figure 2.



Figure 2. The structure created with docker-swarm mode

Also, visualizer has installed to display active nodes. Which nodes operate the created services can be actively monitored. This system is shown in Figure 3.

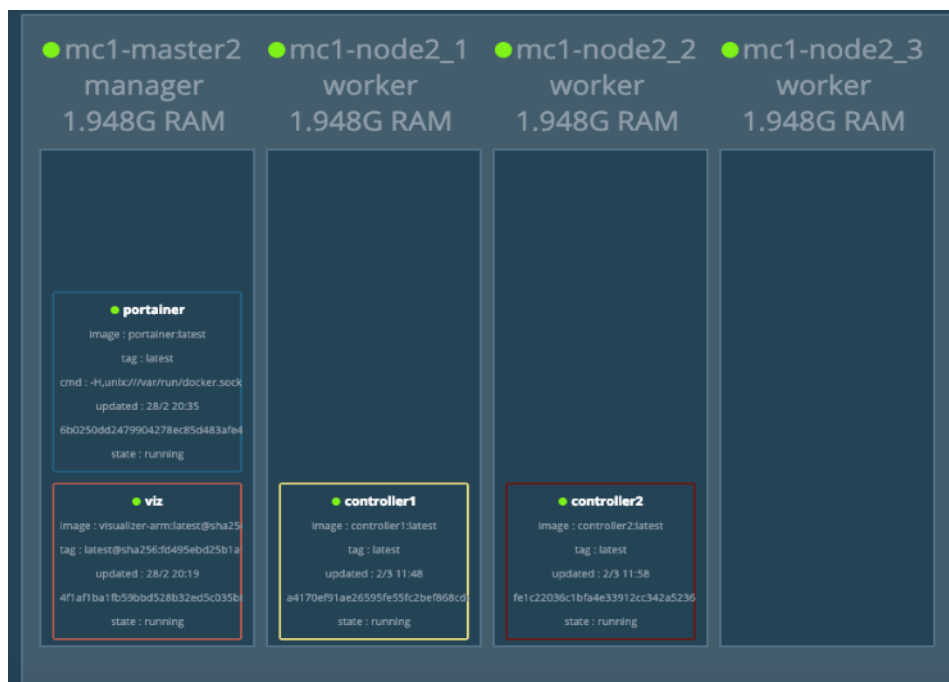


Figure 3. Controller monitoring system

The services in the Figure 3 are running on node one and node two. However, in the event of any disconnection, another node becomes active and can run with other controllers. There is no latency when selecting the controller. As the controller information is automatically copied to the selected controller, the controller accesses the network information from that copy. Thus, the latency time to scan the network is eliminated.

We carry out experiments to observe and investigate the performance of the Opk-means algorithm under the proposed implemented multi-controller scheme in the SDN-based network, as mentioned above. Also, to evaluate the Opk-means algorithm, we compare it with the Stdk-means algorithm.

CPP is to determine which controller should be placed and which switches are under the control of which controller. Opk-means algorithm is to solve CPP of the controllers operating on Dockers, and the Stdk-means algorithm is used in terms of the Opk-means algorithm, the number, and location of the controllers are determined and is intended to minimizing the end-to-end delay between the controllers. Unlike Stdk-means, in the proposed Opk-means algorithm, k parameter varies according to the determined minimum milliseconds value of the end-to-end latency. The Turkey-UlakNet dataset (Anonymous, 2010) from the Topology Zoo website is considered to analyze the proposed k-means, and Stdk-means algorithm in order to precisely determine the controller location is used. First, the Ulaknet data set for the controller and switch points to be placed are obtained from the Topology Zoo database. The Ulaknet data set contains latitude and longitude information of cities. The haversine formula is applied to the cities with latitude and longitude information so that the distance between the cities is measured. The obtained distance values are kept in an array. Besides, two separate functions are created to find the distance of the controllers to the controllers and the controllers to the switches. These functions measure the shortest distances with the Dijkstra shortest path finding algorithm. Opk-means algorithm and the Stdk-means algorithm are run with these functions. The latency is determined as the limiting factor to k in Opk-means. Opk-means algorithm and Stdk-means algorithm steps are applied, and the system is started.

RESULTS AND DISCUSSION

The data obtained as a result of the study are mapped by the graph method. Figure 4 shows the results obtained with Opk-means, and Figure 5 shows the results obtained with the Stdk-means.

In the figures, the controllers are listed in the first. Also, the area which the controller is has, is given in a different color and shape to distinguish it from other controllers.

A high available multi-controller structure for SDN and placement of multi-controllers of SDN with optimized k-means algorithm

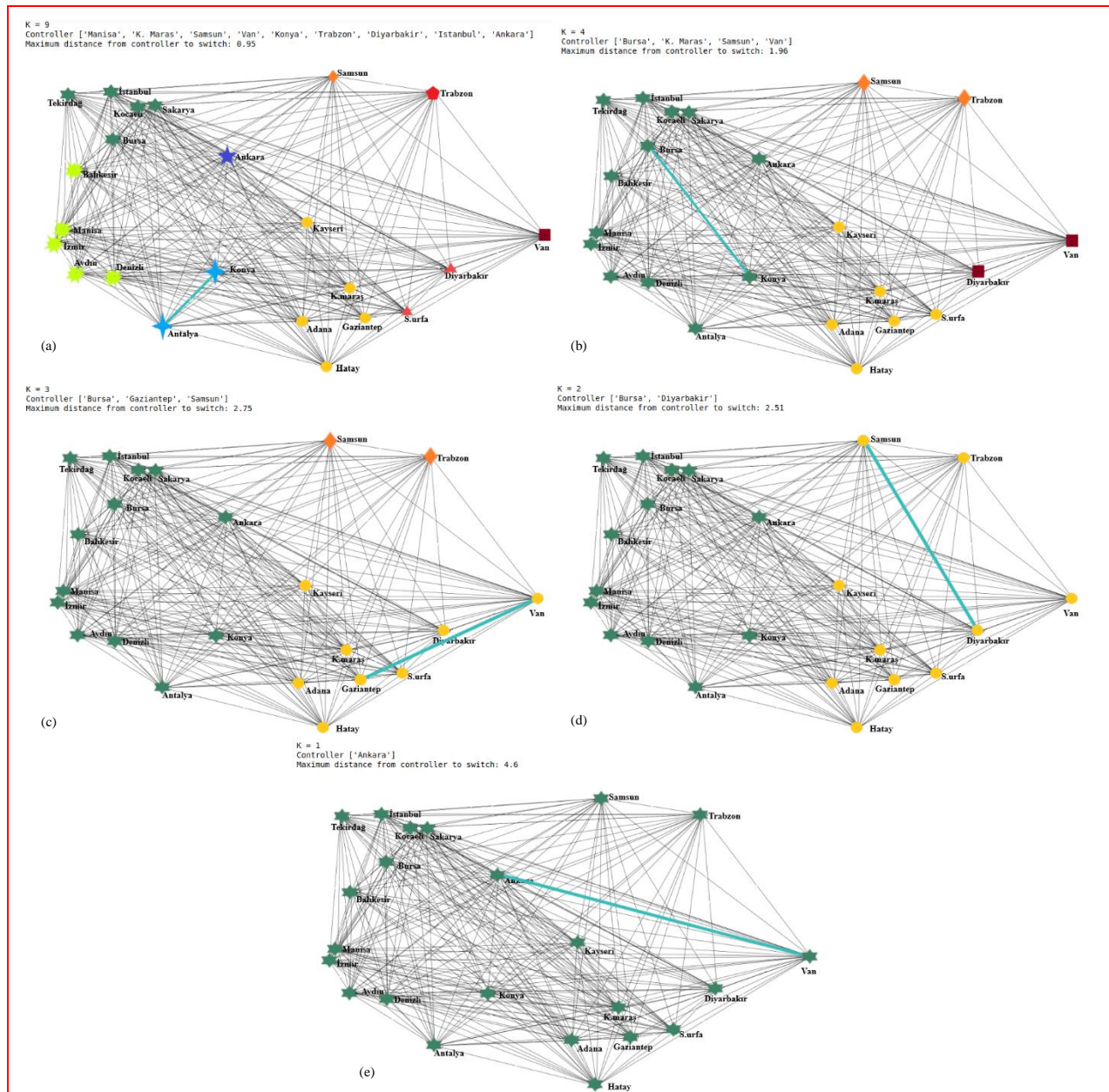


Figure 4. Opk-means algorithm for determined latency times (millisecond: ms). (a) one ms (b) two ms (c) three ms (d) four ms (e) five ms

A high available multi-controller structure for SDN and placement of multi-controllers of SDN with optimized k-means algorithm

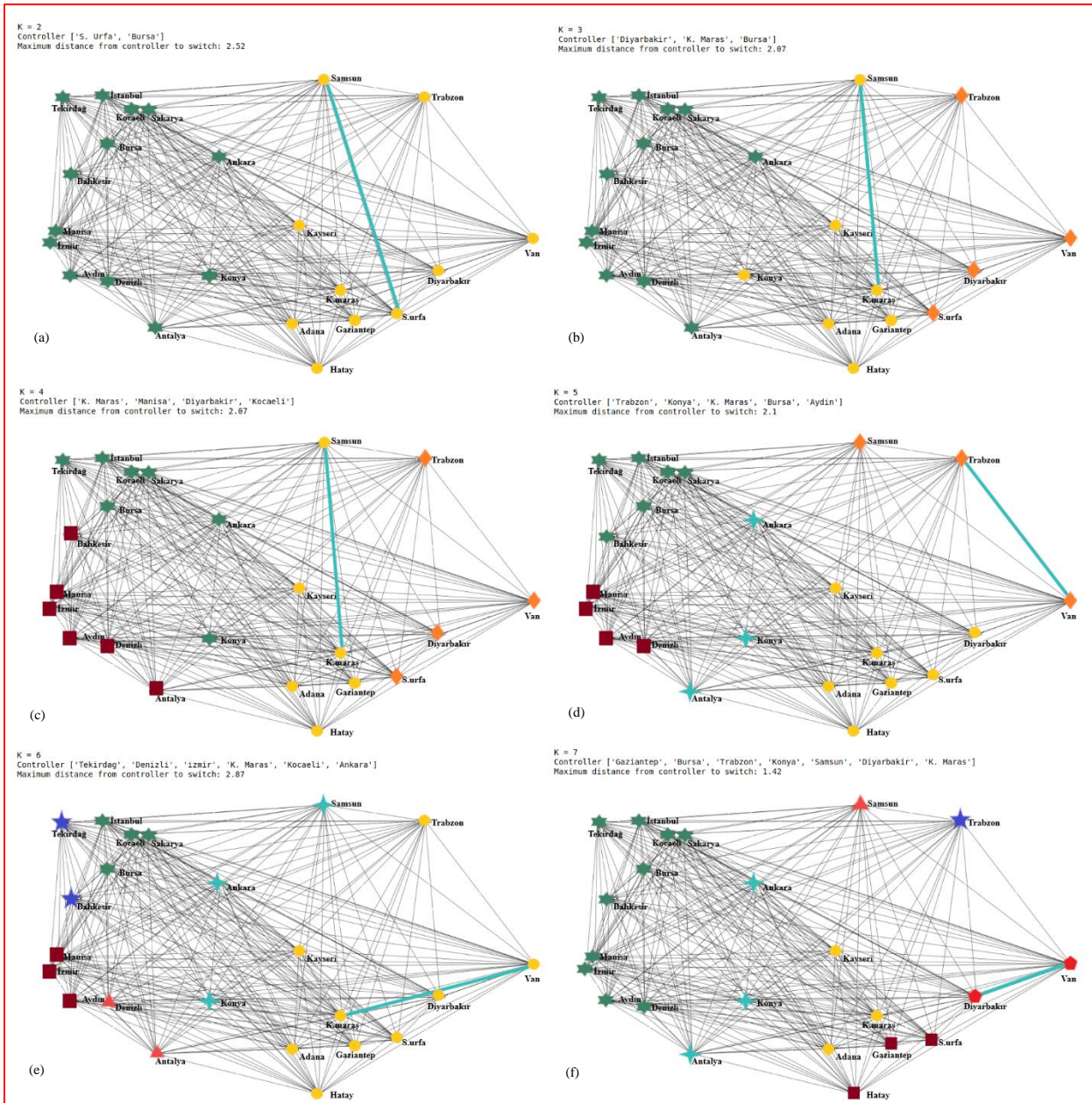


Figure 5. Stk-means algorithm for determined numbers of controllers. (a) two controllers (b) three controllers (c) four controllers (d) five controllers (e) six controllers (f) seven controllers

In the Stk-means algorithm, the number of controllers is determined externally by us. Moreover, in this algorithm, control plane is randomly selected, so the latency between the controllers does not change by stable, as shown in Figure 6.

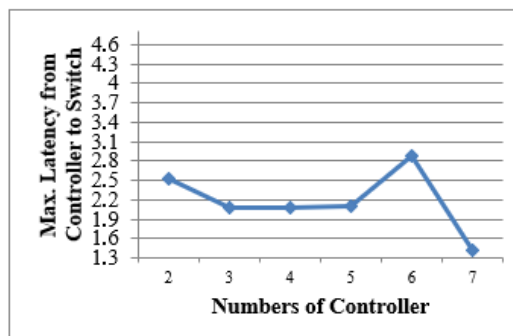


Figure 6. Relationship between maximum latency with controller number in Stk-means algorithm

In the Opk-means algorithm, the number of controllers is determined by the maximum latency time given. As shown in Figure 7 the higher the number of controllers, the lower the end-to-end latency between controllers to switches and between controllers to controllers. The k-means algorithm is applied after finding the shortest paths on the whole map, and the controllers are placed with the shortest distance, so the location of the controllers is stable.

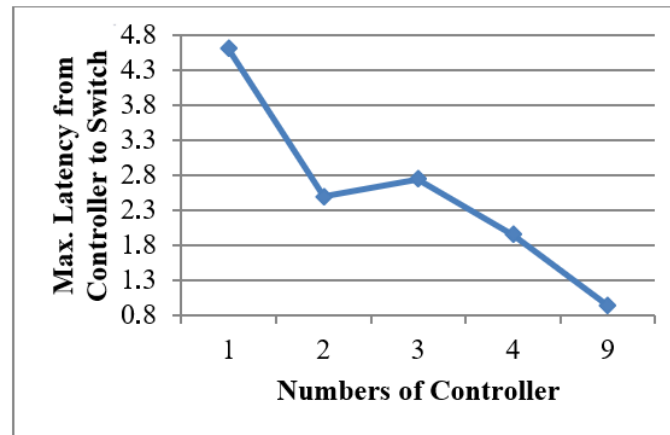


Figure 7. Relationship between maximum latency with controller number in Opk-means algorithm

The last studies (Wang et al., 2016; Wang et al., 2018) are focused on comparing the maximum latency times of different k-means algorithms for CPP. In these studies, the network is divided according to the number of subnetworks specified. However, in CPP, how many controllers to choose is one of the major issues. In this study, the Opk-means algorithm is proposed as a new algorithm that reduces both end-to-end latency and determines the number of controllers according to the minimum latency. In order to compare our algorithm with the results obtained in previous studies, the k-means algorithm is used to divide the network into subnetworks with the determined network segmentation parameter. This Stdk-means algorithm is compared with the improved Opk-means algorithm, for network segmentation and end-to-end latency methods. These algorithms' performances are shown in Figure 6 and Figure 7.

As a result, the Opk-means algorithm is more stable than the Stdk-means algorithm. Since the initial selection and subsequent selections are randomized in the Stdk-means algorithm, the output of each run result is different. However, the Opk-means algorithm proceeds, finding the shortest path, so that the output remains the same in all algorithms run. Also, in the Stdk-means algorithm, the number of controllers must be given as external user input. The number of controllers is a parameter that must be solved for the CPP. So, the number of controllers in terms of the latency time is determined by the Opk-means algorithm. In the Opk-means algorithm proposed in the study, it is enough to determine the latency time. Thus, with the Opk-means algorithm, a more feasible solution is obtained, and end-to-end latency is optimally determined for the CPP.

CONCLUSION

In this paper, a highly available SDN architecture is presented to overcome the single-point-of-failure in the multi-controllers. Also, an optimized algorithm is proposed for the optimal placement of the controllers. The proposed architecture uses Docker-Swarm Mode to allow one controller to work as a service in case of the failure of the first controller. Thus, this architecture enables continuous controller operation. To provides the stable configuration of the network structure Opk-means algorithm is proposed. The Opk-means algorithm is used to determine the number of controllers according to the minimum latency and reduce the end-to-end latency which directly affects the overall latency. The Opk-

means algorithm is more stable than the Stdk-means algorithm so eliminating the disadvantages of the Stdk-means algorithm. In the Opk-means algorithm, is reduced the end-to-end latency time of the CPP to the optimum latency.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Erciyes University Scientific Research Projects Coordination Unit (ERU/BAP) and TUBITAK. This work is supported by the Erciyes University Scientific Research Projects Coordination Unit (ERU/BAP) under project codes FDK-2018- 8073 and TUBITAK 2211- C program under project code 1649B031802979.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Ahmadi V, Khorramizadeh M, 2018. An adaptive heuristic for multiobjective controller placement in software-defined networks. *Computers and Electrical Engineering*, 66: 204-228.
- Anonymous, 2010. TopologyZoo-Ulaknet Dataset. <http://www.topology-zoo.org/files/Ulaknet.gml>. (Date of access: 10 March 2021).
- Anonymous, 2012. SDN Controller, Floodlight. <http://www.projectfloodlight.org/floodlight/>. (Date of access: 10 March 2021).
- Anonymous, 2013. An Instant Virtual Network on your Laptop, Mininet. <http://mininet.org/>. (Date of access: 10 March 2021).
- Anonymous, 2013. Empowering App Development for Developers, Docker. <https://www.docker.com/>. (Date of access: 10 March 2021).
- Bella MRM, Data M, Yahya W, 2018. Web Server Load Balancing Based On Memory Utilization Using Docker Swarm. *International Conference on Sustainable Information Engineering and Technology (SIET) IEEE*, 2018, pp:220-223.
- Hu Y, Luo T, Beaulieu NC, Deng C, 2017. The energy-aware controller placement problem in software defined networks. *IEEE Communication Letter*, 21: 741-744.
- Huang V, Chen G, Fu Q, Wen E, 2019. Optimizing Controller Placement for Software-Defined Networks. *Symposium on Integrated Network and Service Management (IM) IEEE*, 2019, pp:224-232.
- Lange S, Gebert S, Zinner T, Tran-Gia P, Hock D, Jarschel M, Hoffmann M, 2015. Heuristic Approaches to the Controller Placement Problem in Large Scale SDN Networks. *IEEE Transactions on Network and Service Management*, 12: 4-17.
- Liao L, Leung VC, 2017. Genetic algorithms with particle swarm optimization-based mutation for distributed controller placement in SDNs. *Conference on Network Function Virtualization and Software Defined Networks (NFV-SDN) IEEE*, 2017, pp:1-6.
- Lu J, Zhang Z, Hu T, Yi P, Lan J, 2019. A Survey of Controller Placement Problem in Software-Defined Networking. *IEEE Access*, 7: 24290-24307.
- MacQueen JB, 1967. Some Methods for classification and Analysis of Multivariate Observations. *5-th Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability*, University of California Press, 1, 1967, pp:281-297.

- McKeown N, 2009. Software-defined networking. INFOCOM Keynote Talk, 17:30-32.
- Nguyen N, Bein D, 2017. Distributed MPI cluster with Docker Swarm mode. 7th Annual Computing and Communication Workshop and Conference (CCWC) IEEE, 2017, pp:1-7.
- Nunes BAA, Mendonca M, Nguyen X, Obraczka K, Turletti T, 2014. A Survey of Software-Defined Networking: Past, Present, and Future of Programmable Networks. IEEE Communications Surveys Tutorials, 16: 1617-1634.
- Sahoo KS, Sahoo S, Sarkar A, Sahoo B, Dash R, 2017. On the placement of controllers for designing a wide area software defined networks. Region 10 Conference IEEE, 2017, pp:3123-3128.
- Sanner J, Hadjadj-Aoul Y, Ouzzif M, Rubino G, 2017. An evolutionary controllers' placement algorithm for reliable SDN networks. 13th International Conference on Network and Service Management (CNSM) IEEE, 2017, pp:1-6.
- Wang G, Zhao Y, Huang J, Duan Q, Li J, 2016. A k-means-based network partition algorithm for controller placement in software defined network. Communications Software, Services and Multimedia Applications Symposium (ICC) IEEE, 2016, pp:1-6.
- Wang G, Zhao Y, Huang J, Wu Y, 2018. An effective approach to controller placement in software defined wide area networks. IEEE Transactions Network and Service Management, 15: 344-355.

Atf İçin: Kahramanoğlu İ, Gürbüz R, Alptekin H, 2021. A weedy species in agricultural areas and an attractive wildflower in nature: Common poppy (*Papaver rhoeas* L.) – Can it be used for fruit preservation in the future?. İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2467-2476.

To Cite: Kahramanoğlu İ, Gürbüz R, Alptekin H, 2021. A weedy species in agricultural areas and an attractive wildflower in nature: Common poppy (*Papaver rhoeas* L.) – Can it be used for fruit preservation in the future?. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2467-2476.

A weedy species in agricultural areas and an attractive wildflower in nature: Common poppy (*Papaver rhoeas* L.) – Can it be used for fruit preservation in the future?

İbrahim KAHRAMANOĞLU¹, Ramazan GÜRBÜZ^{2*}, Harun ALPTEKİN³

ABSTRACT: Weeds are the plants growing where they are not desired and are notorious yield reducers that are responsible for significant crop yield and quality losses in agricultural areas. Common poppy is one of these plants. As can be understood from the title, the purpose of this study was to test the possibility of using fruit extracts of common poppy (*Papaver rhoeas* L.) for the preservation of fruit quality. The experiments were conducted with apricot fruits cv. ‘Şalak’. Two different concentrations (0.5% and 2.5%) of *P. rhoeas* fruit extracts together with an un-treated control treatment were tested in the current work. Studies were carried out with three replications for each treatment, where each replication consisted of six individual fruits. Studies were continued for 42 days and the fruits were stored at 0.0±0.5 °C with 90-95% relative humidity. Different quality parameters of apricot fruits were measured and noted with 7-days interval. It was found that the hypothesis of current research was acceptable, where the fruit extracts of *P. rhoeas* were found to reduce weight loss at the apricot fruits, help to reduce disease severity, maintain visual quality of the fruits, reduce the chilling injury and fruit firmness and significantly influence the ascorbic acid content by delaying its reduction. Overall, findings of current work suggest that the *P. rhoeas* fruit extracts have ability to maintain postharvest quality of apricot fruits and further studies are required to determine the exact mechanism and the responsible constituents.

Keywords: apricot fruits, chilling injury, common poppy and its fruit extracts, extension of storability, visual quality, weight loss preservation

¹İbrahim KAHRAMANOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-6074-6395), Faculty of Agricultural Sciences and Technologies, European University of Lefke, Gemikonağı, Northern Cyprus, via Mersin 10 Turkey

²Ramazan GÜRBÜZ (Orcid ID: 0000-0003-3558-9823), Department of Herbology, Faculty of Agriculture, İğdir University, Turkey

³ Harun ALPTEKİN (Orcid ID: 0000-0001-9319-311X), Department of Agricultural Sciences, Postgraduate Education Institute, İğdir University, Turkey

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ramazan GURBUZ, e-mail: r_grbz@yahoo.com

INTRODUCTION

Common poppy (*Papaver rhoeas* L.) is an attractive wildflower when it grows in nature, but is also an important dicot weed causing reductions in the crop yield when it founds in agricultural areas (Clapham et al., 1962; Scarabel et al., 2015). It is native to Asia and Europe and is an important weed in different agricultural croplands, especially winter cereals. Studies suggested that it has high ability to reduce cereal yield in southern Europe (Wilson et al. 1995; Holm et al. 1997). One of the main characteristics that makes it troublesome in cereals is its ability to form a persistent seed bank in soil. This extends the germination period of the weed and so persist, grow and invade in the croplands (Torra and Recasens 2008). Its seeds are mainly used for flavouring cakes, bread and salads and known to not contain any alkaloids (Duke and Ayensu, 1985). On the other hand, its leaves are known to include alkaloids, which may cause toxicity and is strongly recommended to make a moderate use (Mabberley 2017; Oh et al., 2018). Different plant parts have been traditionally used to treat inflammation, nervousness, cough, diarrhea, insomnia and respiratory disorders (Pourmotabbed et al., 2004; Grauso et al., 2020). Besides to alkaloids, *Papaver* plants had been reported to include various phytochemical components such as anthocyanins (Matysik and Benesz, 1991), flavonoids (Hillenbrand et al., 2004) and essential oils (Dogan and Bagci, 2004).

Any parts of plants have been used for different purposes including food, medicine, cloth, animal feed, fuel and medicine since the ancient times (Dellavalle et al., 2011). Additional to these well-known usage of the plants, different plant extracts have been studied and reported to have beneficial effects on the preservation of different fresh fruits and vegetables (Chen et al., 2019; Moosa et al., 2019; Riva et al., 2020; Poveda, 2020). Plant extracts, including proteins, polysaccharides and essential oils are generally used for the production of edible films or edible coatings and coverage of fruits and vegetables with those materials provide semi-permeable barrier against water vapour and atmospheric gaseous. These in general reduce the transpiration and respiration rates of the crops and helps to delay physical, bio-chemical, physiological and enzymatic degradation (Kahramanoğlu 2017). Such materials have also been reported to enhance the activity of defensive enzymes, such as polyphenol oxidase (PPO) and improves products' resistance to fungal pathogens (Ncama et al., 2019).

Because of these abilities and increasing awareness of consumers about the problems caused by fungicides, the use of different plant extracts in postharvest handling practices had been increased since the 21st century. Postharvest studies with plant extracts are very important especially for the sensitive crops. Apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruits are among these sensitive crops. They have been reported to be very beneficial for human health, due to their high phytochemical compounds (Zhou et al., 2020). The main postharvest problems of apricots are rapid rate of softening and sensitivity to mechanical and microbial damages (Siddiq 2006). The optimum temperature for apricot storage is 0 ± 0.5 °C, which on the other hand increase the susceptibility to chilling injury (Liu et al. 2019). In recent years, there have been some studies carried with plant extracts (i.e. *Nigella sativa* oil and *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) and found to be effective in improving storability of apricot fruits (Kahramanoğlu, 2021; Gürbüz and Kahramanoğlu, 2021). In line with this general information, authors have thought that common poppy might have some advantages in improving the postharvest storability of fruits, but requires scientific verification with experimental studies. It was thought that a success in the usage of its fruits for postharvest handling practices would help to reduce its seed bank in soil by recommending its collection at fruiting period. After a quick search in the published media, authors could not find any information about this topic and have agreed to perform this study with an aim of testing the possibility of using fruit extracts of common poppy (*Papaver rhoeas* L.) for the preservation of apricot fruit quality.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Apricot (*P. armeniaca* L.) cv. ‘Şalak’ fruits were used in present study. This is the most abundant and popular cultivar in Iğdır region. These fruits have low dry content, which makes it unsuitable for drying and very suitable for fresh consumption (Güteryüz et al., 1999). If not stored, the fruits of ‘Şalak’ cultivar had to be consumed in 3-5 days, due to their rapid loss of visual and nutritional quality (Taze and Unluturk, 2018). The fruits, at horticultural maturity, were collected from an orchard located in Iğdır, Turkey and transferred to laboratory in 2 hours at 1 °C temperature. At the same day, about 1 kg of common poppy (*P. rhoeas* L.) fruits were hand collected from an edge of agricultural land. It was paid attention that no pesticide application was made in the area where the samples were collected.

Experimental Studies

Current studies were conducted with three different treatments. Two of these treatments were the different doses (0.5% and 2.5%) of *P. rhoeas* fruit extracts, while the third one was the control group treated with pure water. Therefore, before the experiments, fruits were grouped into three (# of treatments) and each group was composed of 108 fruits. The fruit extracts of *P. rhoeas* had been prepared by following the formula reported by Gürbüz and Kahramanoğlu (2021). To do so, 25 g of *P. rhoeas* fruit was mixed with 5 L of water and heated until 100 °C (This is for dose 0.5%; for the other dose 125 g of fruit was used and concentration was equalled to 2.5%) (Figure 1A). To obtain extracts, the temperature was kept for 30 min at that temperature, then filtered through metal strainer (mesh size 35) and cooled to 25 °C. Thus, the application of the *P. rhoeas* fruit extracts were performed by dipping the fruits into the prepared solutions for 2 min and the fruits were then air dried for 30 min. For the control treatment, the fruits were immersed in a pure water at same temperature with the *P. rhoeas* fruit extracts (25 °C) for 2 min and same procedure was followed for drying. Hereafter, the 108 fruit of each treatment were randomly divided into 18 groups. These 18 groups were defined as 3 replications * 6 measurement point. The studies were planned to continue for 42 days and the quality measurements were performed with 7-day intervals. The six fruits of each 18 groups were packed in an egg-container. The fruits were stored in storage chambers adjusted at 0.0 ± 0.5 °C with 90-95% relative humidity (Figure 1B).



Figure 1. (A) Preparation of common poppy fruit extracts, (B) storage of fruit samples in chambers and (C) measuring of fruit weight with digital scale.

Physical and Bio-chemical Quality Analysis

Different physical and bio-chemical quality parameters were measured with a 7-day interval. For this reason, 3 replications (an egg-container with 6 fruits) from each treatment were taken out from the storage rooms at the mentioned storage points. First of all, the weight of each fruit was measured with a digital scale (Figure 1C) and compared with the initial weight to calculate the weight loss. Standard ratio method was used for that. Afterwards, decay incidence of the fruits was described by following the method of Cao et al. (2011) and indicated as percentage (%). The visual quality of the fruits was then measured by following the 0-5 scale reported by Kahramanoğlu and Wan (2020). The other important quality parameter, chilling injury, was then determined according to the method of Xue et al. (2012) and the fruits with a score of more than 0.4 was classified as unacceptable for consumption as reported by (Ghasemnezhad et al. (2011)). A hand penetrometer was used to measure fruit firmness (kg cm^{-2}). The probe diameter was selected as 5 mm and the penetration speed was 1 mm s^{-1} for the measurements. Then, a hand refractometer was used to measure the soluble solids concentration (SSC) of each fruit (as %). Ascorbic acid (AsA: vitamin C) content of each fruits was then determined by following the standard titrating method with 2,6-dichlorophenol indophenols as $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$, and finally the titratable acidity (TA: $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ malic acid) was determined according to the NaOH titration method.

Statistical Analysis and Figure Preparation

The raw data was firstly cured with Microsoft excel. Means and standard deviations were calculated for each treatment at each measurement point and the suitable figures were then prepared. Besides to that, statistical comparison of the means was performed with the SPSS 22.0 software by conducting analysis of variance and Tukey's HSD test (at $p = 0.05$) consecutively (IBM, 2013).

RESULTS AND DISCUSSION

Effects on Physical Quality Parameters

The first results about the physical quality of apricot fruits suggested that the *P. rhoeas* fruit extracts would be used in postharvest studies. It was found that both doses of the *P. rhoeas* fruit extracts significantly preserved fruit weight (See Figure 2A). During storage, weight loss at the apricot fruits increased continuously, while the weight of the fruits treated with *P. rhoeas* fruit extracts had lower weight loss. The weight losses of the Pr (0.5%) and Pr (2.5%) treated fruits were about 10.00% and 10.01% at the 28th day, where the control fruits had 14.76% weight loss at the same time. At the 42th day of storage, the weight loss of the control fruits was 27.44%, while the fruits treated with two different doses of *P. rhoeas* fruit extracts had a weight loss of 21.66% and 22.00%. The observed findings supported, and *vice versa*, the results of several research (Ncama et al., 2018; Kahramanoğlu 2019; Moosa et al., 2019; Riva et al., 2020) which reported that the plant extracts have high ability to preserve storage quality of different fruits (oranges, strawberry, avocado and apples). Results were also found to be in agreement with the positive effects of plant extracts and to have better performance in preserving the apricot fruits weight. In one of these studies Kahramanoğlu (2021) suggested that the use of *N. sativa* oil and *Glycyrrhiza glabra* syrup help to keep weight loss between 18.37% and 20.82% in 35 days of storage. Results of current study provided better performance than those studies in preventing weight loss, where the weight loss was only around 21.66%-22.00% at the 42th day of storage.

In other recent studies, Nourozi and Sayyari (2020) reported success for basil seed mucilage and Gürbüz and Kahramanoğlu (2021) noted good performance for *A. altissima*. While the current results are better than the results of Kahramanoğlu (2021) with *N. sativa* oil and *Glycyrrhiza glabra*, the results of Gürbüz and Kahramanoğlu (2021) with *A. altissima* are better than current results. Therefore, it can

be concluded that the performance of *P. rhoeas* fruit extracts is less than *A. altissima* leaf extract but better than *N. sativa* oil and *Glycyrrhiza glabra*. In a recent study, Gull et al. (2021) reported that nanochitosan emulsion coatings enriched with pomegranate peel extract provided good performance in preventing weight loss, where the weight loss was kept around 18% in 30 days of storage. In our study, the fruit extracts of *P. rhoeas* provided better performance than nanochitosan emulsion coatings and maintained the weight loss around 10% in 30 days of storage. Moreover, Bahadırılı et al. (2020) suggested that the essential oils of myrtle (*Myrtus communis* L.) provide similar performance in preventing weight loss of loquat fruits. Although the test materials are different, overall results and discussion with the existing available information suggests that fruit extracts of *P. rhoeas* have significant impact on the prevention of weight loss at apricot fruits.

Similar to weight loss results, *P. rhoeas* fruit extracts had been observed to prevent decay incidence (See Figure 2B). In this study, no detail research was conducted for the mechanism behind this success, but it was clearly observed that the *P. rhoeas* fruit extracts significantly prevent the decay incidence as compared with control apricots. Although the mechanism was not tested, Poveda (2020) noted that the efficacy of plant extracts in preventing pathogen development can be due to the phytochemicals of plant extracts. Similarly, Gürbüz and Kahramanoğlu (2021) found that *A. altissima* helps to preserve apricot fruits from pathogens. The performance of *P. rhoeas* fruit extracts was found to be better than *A. altissima* leaf extracts in terms of the prevention of the decay incidence.

Similarly Gull et al. (2021) suggested that the nanochitosan emulsion coatings enriched with pomegranate peel extract is effective in reducing the decay percentage of the apricot fruits. The reported success for the coating materials was found to be closely similar with the effects of fruit extracts of *P. rhoeas*. Both fruit weight and decay incidence are important indicators for visual quality. Because, these two are the easiest quality parameters to be observed by the consumers. Therefore, improvement of these two characteristics could attract the consumers and may help to improve the marketability of the stored products. In this regard, the results of current study give a possibility to the *P. rhoeas* fruit extracts to be used in postharvest handling practices.

Therefore, according to the results obtained, the fruits treated with *P. rhoeas* fruit extracts had better visual quality (See Figure 2C). According to the results, the first notable reduction in the visual quality was observed after 21 days of storage. The visual appearance of the fruits 42 days after storage are presented in Figure 3. Hereafter, the quality of control fruits had rapidly decreased while both doses of *P. rhoeas* fruit extracts had prevented this reduction. In a different study, it was also reported that essential oils of myrtle improve visual quality and reduce browning of the loquat fruits (Bahadırılı et al., 2020).

A weedy species in agricultural areas and an attractive wildflower in nature: Common poppy (*Papaver rhoeas* L.) – Can it be used for fruit preservation in the future?

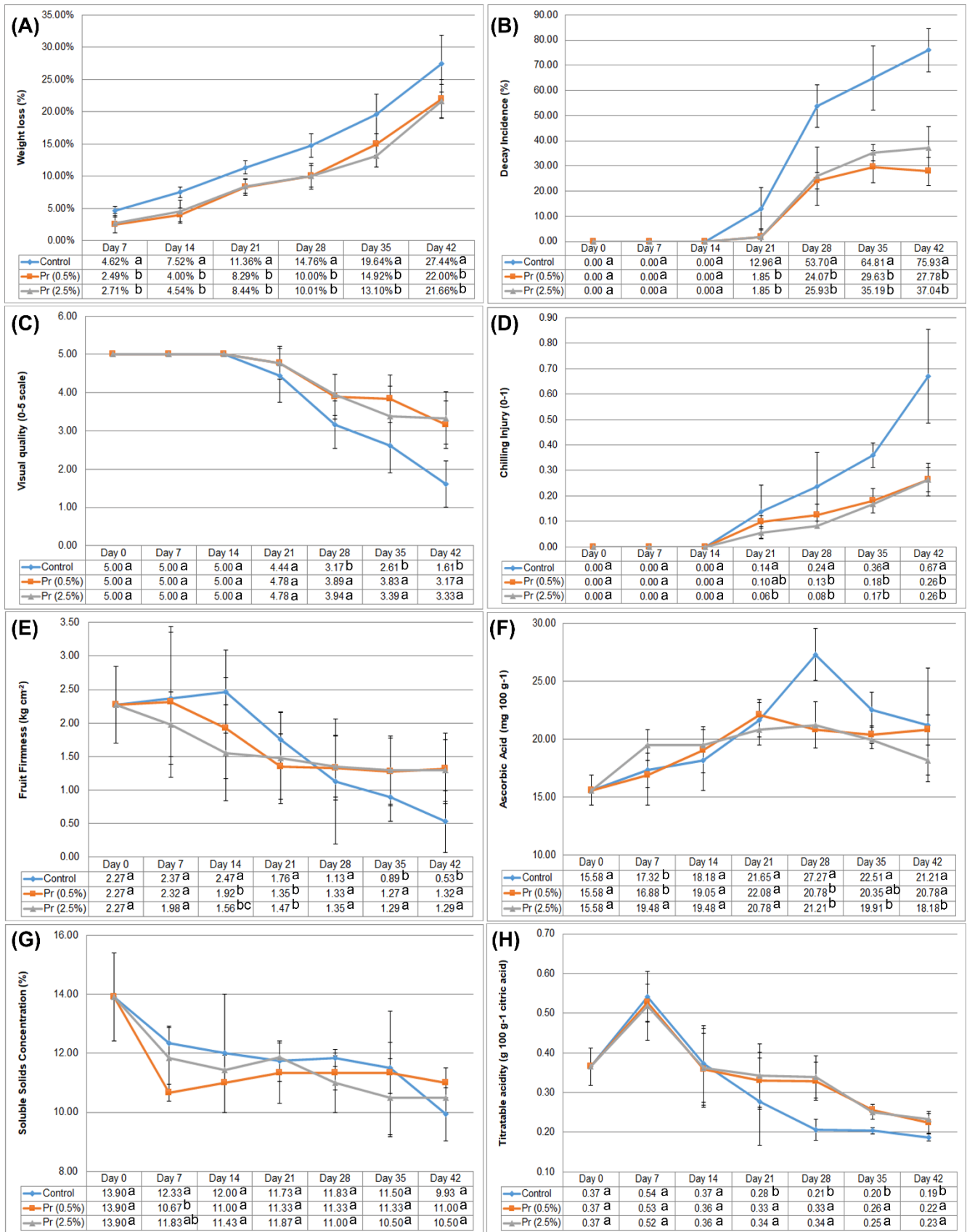


Figure 2. Effects of *P. rhoeas* fruit extracts on the (A) weight loss, (B) decay incidence, (C) visual quality, (D) chilling injury, (E) fruit firmness, (F) ascorbic acid, (G) soluble solids concentration and (H) titratable acidity apricot fruits. Different letters next to the mean values below each figure, at each column, represent significant differences.

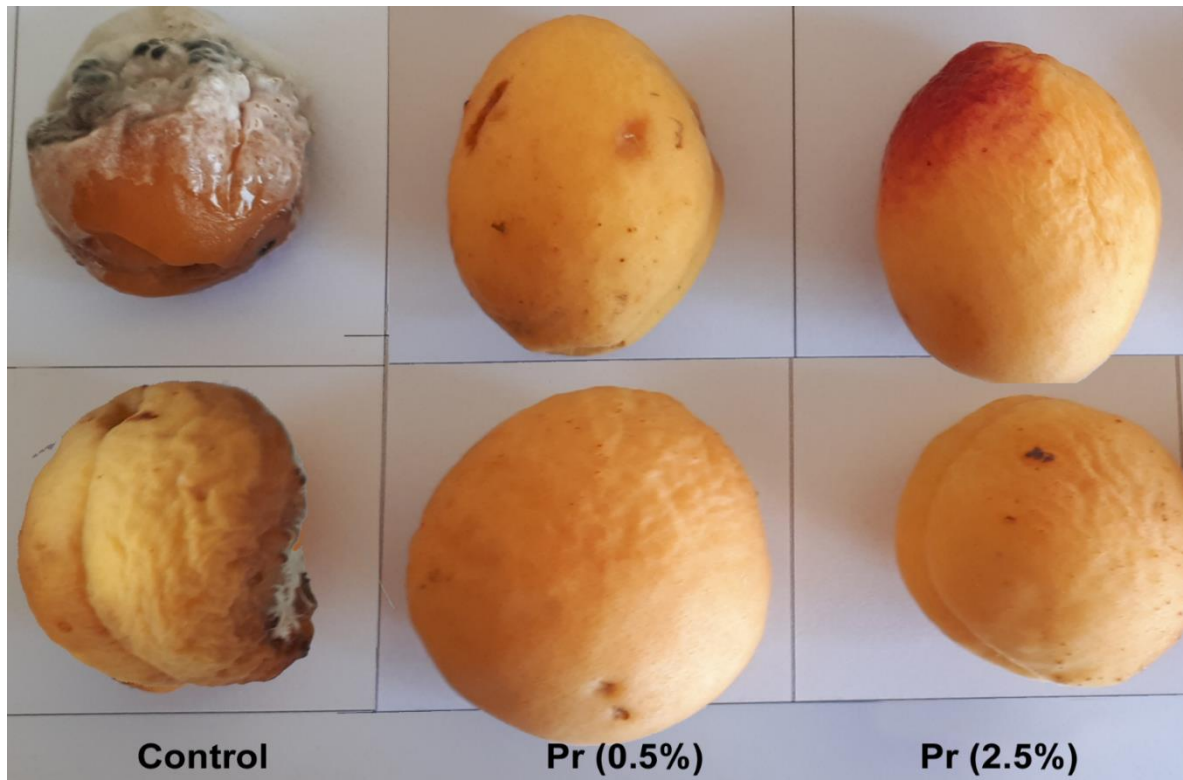


Figure 3. Visual appearance of apricot fruits treated with control, Pr (0.5%) & Pr (2.5%) and stored at 0.0 ± 0.5 °C & 90-95% relative humidity for 42 days.

Chilling injury results had been found to be similar with the visual quality results (See Figure 2D). The fruits treated with *P. rhoeas* fruit extracts were found to have a chilling injury score of less than 0.4 during the whole period of storage. On the other hand, the performance of *P. rhoeas* fruit extracts in preventing chilling injury was noted to be slightly lower than the performance of *A. altissima* leaf extracts reported by Gürbüz and Kahramanoğlu (2021). However it is acceptable, when it was compared with the control group. During storage, the fruit firmness of the apricots stayed same or slightly increased during the first 7-14 days, and then reduced (See Figure 2E). This is in agreement with the findings of Fan et al. (2018). This reduction was higher at the un-treated control fruits and the fruits treated with *P. rhoeas* fruit extracts had higher fruit firmness than the control fruits. Since the mechanism is not well known, and not tested in present study, scientific knowledge suggests that the plant extracts and other edible coatings prevents gas diffusion and reduce respiration rate, which retards the metabolic activity in fruit cells and preserve fruit hardness (Sogvar et al., 2016; Nourozi and Sayyari, 2020). Gürbüz and Kahramanoğlu (2021) also reported moderate performance for *A. altissima* leaf extracts in preventing the loss of fruit firmness. Results of current study suggested that the performance of *P. rhoeas* fruit extracts is better than *A. altissima* leaf extracts, in terms of the prevention of loss in fruit firmness. To sum up the results about physical quality parameters, the *P. rhoeas* fruit extracts are effective in keeping physical quality of apricot fruits. However, because of the fungal infections, an acceptable fruit quality can be preserved for 21-28 days of storage.

Effects on Bio-chemical Quality Parameters

Ascorbic acid values had been found to have some fluctuations during storage (See Figure 2F). It was increased during the first 28 days of storage and then decreased. Here, contrary to the physical quality parameters, fruits treated with the *P. rhoeas* fruit extracts were noted to have lower AsA content.

At the end of the storage period, there was not much difference among the initial and final AsA values and the values between the different treatments (Figure 2G). The initial AsA content was 15.58 mg 100 g⁻¹ which increased to 21.21 mg 100 g⁻¹ at the 0.5% dose of plant extracts and to 18.18 mg 100 g⁻¹ at the 2.5% dose of the *P. rhoeas* fruit extracts. The reports of Nourozi and Sayyari (2020) were in agreement with current study, where the application of *Aloe vera* gel with basil seed mucilage was noted to have slight effect on the AsA content of the apricot fruits. Besides to the AsA, the treatments were also found to have slight/negligible effect on the soluble solids content of the apricots. The initial SSC content was 13.90% at the time of harvest and decreased to 9.93%, 10.50% and 11.00% at the groups of control, 2.5% of *P. rhoeas* fruit extracts, and 0.5% of *P. rhoeas* fruit extracts, respectively. Similarly, Gürbüz and Kahramanoğlu (2021) had noted that the plant extracts do not have significant effect on the preservation of soluble solids content. Finally, the TA content of the apricot fruits had a slight increase and then continuous decrease during storage and the *P. rhoeas* fruit extracts were found to be ineffective for the prevention of this decrease (Figure 2H). Similarly Gull et al. (2021) reported that the TA content of the apricot fruits decrease during storage. This decrease was noted to be in relation with the utilization of organic acids by respiration of the fruits (Valero and Serrano, 2010). The decrease in the SSC and TA is a well-known change in the fruit quality during storage which are associated with the weight loss (respiration) and breakdown of glycoside (Khaliq et al., 2019). So, the slight effect of the *P. rhoeas* fruit extracts can be associated with the reduction of respiration and weight loss at the fruits.

CONCLUSIONS

Overall results of current study suggested that the *P. rhoeas* fruit extracts have moderate to high efficacy in preserving fruits' physical quality; and slight to moderate efficacy in maintaining biochemical quality parameters of apricot fruits. Therefore, turning back to the general purpose of this study, it can be concluded that the *P. rhoeas* fruit extracts have possibility in preserving crops storability. Further studies are required mainly about the mechanism behind this success. It is of utmost importance to determine the phytochemical characteristics and may be extract these compounds and test separately. Although no toxic effect on human health was reported for the *P. rhoeas* fruits, it was also known that some plant parts include alkaloids and this might have toxic effects. This is also important to be tested. Final recommendation for this *P. rhoeas* fruit extracts is to test it on different crops.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Bahadırılı NP, Kahramanoğlu İ, Wan C, 2020. Exposure to Volatile Essential Oils of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Leaves for Improving the Postharvest Storability of Fresh Loquat Fruits. *Journal of Food Quality*, 2020.
- Cao S, Zheng Y, Yang Z, 2011. Effect of 1-MCP treatment on nutritive and functional properties of loquat fruit during cold storage. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 39(1): 61-70.
- Chen J, Shen Y, Chen C, Wan C, 2019. Inhibition of key citrus postharvest fungal strains by plant extracts in vitro and in vivo: A review. *Plants*, 8(2):26.
- Clapham AR, Tutin TG, Warburg EF, 1962. *Flora of the British Isles*. Cambridge University Press.

- Dellavalle PD, Cabrera A, Alem D, Larrañaga P, Ferreira F, Rizza MD, 2011. Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(2):231-239.
- Dogan G, Bagcı E, 2014. Essential oil composition of *Papaver rhoeas* L. (corn poppy) (Papaveraceae) from Turkey. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 42(4):545-549.
- Duke JA, Ayensu ES, 1985. Medicinal plants of China. Reference Publications.
- Ghasemnezhad M, Nezhad MA, Gerailoo S, 2011. Changes in postharvest quality of loquat (*Eriobotrya japonica*) fruits influenced by chitosan. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 52(1):40-45.
- Grauso L, de Falco B, Motti R, Lanzotti V, 2020. Corn poppy, *Papaver rhoeas* L.: a critical review of its botany, phytochemistry and pharmacology. *Phytochemistry Reviews*, 1-22.
- Güleryüz M, Ercisli S, Esitken A, 1999. A study on characteristic features of apricot grown in Erzincan, Malatya and Iğdır provinces. *Acta Horticulturae*, 488:165-170.
- Gull A, Bhat N, Wani SM, Masoodi FA, Amin T, Ganai SA, 2021. Shelf life extension of apricot fruit by application of nanochitosan emulsion coatings containing pomegranate peel extract. *Food Chemistry*, 349:129149.
- Gürbüz R, Kahramanoğlu İ, 2021. Possibility of using leaf extracts of tree-of-heaven (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) for the postharvest quality preservation of fresh apricot fruits. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 113:101594.
- Hillenbrand M, Zapp J, Becker H, 2004. Depsides from the petals of *Papaver rhoeas*. *Planta Medica*, 70(04):380-382.
- Holm L, Doll J, Holm E, Pancho J, Herbereger J, 1997. *Papaver rhoeas* L. In: World weeds natural histories and distribution. Wiley, New York, USA, pp 555-561.
- IBM (2013). IBM SPSS statistics for windows. Armonk, New York, USA: IBM SPSS.
- Kahramanoğlu İ, 2017. Introductory chapter: Postharvest physiology and technology of horticultural crops. *Postharvest Handling*, 1-5.
- Kahramanoğlu İ, 2019. Effects of lemongrass oil application and modified atmosphere packaging on the postharvest life and quality of strawberry fruits. *Scientia Horticulturae*, 256:108527.
- Kahramanoğlu İ, 2021. Use of black cumin oil and liquorice syrup to maintain the postharvest quality of fully ripe apricot fruits var. Thyrinte. *European Journal of Horticultural Science* (accepted, in press).
- Kahramanoğlu İ, Wan C, 2020. Determination and Improvement of the Postharvest Storability of Little Mallow (*Malva Parviflora* L.): A Novel Crop for a Sustainable Diet. *HortScience*, 55(8):1378-1386.
- Khaliq G, Ramzan M, Baloch AH, 2019. Effect of Aloe vera gel coating enriched with *Fagonia indica* plant extract on physicochemical and antioxidant activity of sapodilla fruit during postharvest storage. *Food Chemistry*, 286:346-353.
- Liu B, Zhao H, Fan X, Jiao W, Cao J, Jiang W, 2019. Near freezing point temperature storage inhibits chilling injury and enhances the shelf life quality of apricots following long-time cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(7):e13958.
- Mabberley DJ, 2017. *Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants, their classification and uses* (No. Ed. 4). Cambridge University Press.
- Matysik G, Benesz M, 1991. Thin-layer chromatography and densitometry of anthocyanins in the petals of red poppy during development of the flowers. *Chromatographia*, 32(1-2):19-22.

- Moosa A, Sahi ST, Khan SA, Malik AU, 2019. Salicylic acid and jasmonic acid can suppress green and blue moulds of citrus fruit and induce the activity of polyphenol oxidase and peroxidase. *Folia Horticulturae*, 31(1):195-204.
- Ncama K, Magwaza LS, Mditshwa A, Tesfay SZ, 2018. Plant-based edible coatings for managing postharvest quality of fresh horticultural produce: A review. *Food Packaging and Shelf Life*, 16:157-167.
- Ncama K, Mditshwa A, Tesfay SZ, Mbili NC, Magwaza LS, 2019. Topical procedures adopted in testing and application of plant-based extracts as bio-fungicides in controlling postharvest decay of fresh produce. *Crop Protection*, 115:142-151.
- Nourozi F, Sayyari M, 2020. Enrichment of *Aloe vera* gel with basil seed mucilage preserve bioactive compounds and postharvest quality of apricot fruits. *Scientia Horticulturae*, 262:109041.
- Oh JH, Ha IJ, Lee MY, Kim EO, Park D, Lee JH, Kim CK, 2018. Identification and metabolite profiling of alkaloids in aerial parts of *Papaver rhoeas* by liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 41(12):2517-2527.
- Pourmotabbed A, Rostamian B, Manouchehri G, Pirzadeh-Jahromi G, Sahraei H, Ghoshooni H, Kamalnagad M, 2004. Effects of *Papaver rhoeas* extract on the expression and development of morphine-dependence in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3):431-435.
- Poveda J, 2020. Use of plant-defense hormones against pathogen-diseases of postharvest fresh produce. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 101521.
- Riva SC, Opara UO, Fawole OA, 2020. Recent developments on postharvest application of edible coatings on stone fruit: A review. *Scientia Horticulturae*, 262:109074.
- Scarabel L, Pernin F, Délye C, 2015. Occurrence, genetic control and evolution of non-target-site based resistance to herbicides inhibiting acetolactate synthase (ALS) in the dicot weed *Papaver rhoeas*. *Plant Science*, 238:158-169.
- Siddiq M, 2006. Apricots, in *Handbook of fruits and fruit processing* (Ed. Hui, Y.H.), 1st ed., Blackwell Publishing Professional, Ames, IA, pp. 279-290.
- Sogvar OB, Saba MK, Emamifar A, 2016. Aloe vera and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 114:29-35.
- Taze BH, Unluturk S, 2018. Effect of postharvest UV-C treatment on the microbial quality of ‘Şalak’ apricot. *Scientia Horticulturae*, 233:370-377.
- Torra J, Recasens J, 2008. Demography of corn poppy (*Papaver rhoeas*) in relation to emergence time and crop competition. *Weed Science*, 56:826-833.
- Valero D, Serrano M, 2010. *Postharvest biology and technology for preserving fruit quality*. CRC press.
- Wilson BJ, Wright KJ, Brain P, Clements M, Stephens E, 1995. Predicting the competitive effects of weed and crop density on weed biomass, weed production and crop yield in wheat. *Weed Research*, 35:265-278
- Xue XJ, Li PY, Song XQ, Shen M, Zheng XL, 2012. Mechanisms of oxalic acid alleviating chilling injury in harvested mango fruit under low temperature stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 39(11):2251-2257.
- Zhou W, Niu Y, Ding X, Zhao S, Li Y, Fan G, Zhang S, Liao K, 2020. Analysis of carotenoid content and diversity in apricots (*Prunus armeniaca* L.) grown in China. *Food Chemistry*, 127223.

Atf İçin: Karaman Y, Yaşar A, Tursun N, 2021. Bazı Yabancı Ot ve Kültür Bitkisi Tohumlarının Çimlenmesine Yarpuz (*Mentha pulegium* L.) Uçucu Yağının Etkileri. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2477-2486.

To Cite: Karaman Y, Yasar A, Tursun N, 2021. The Effects of Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) Essential Oil on the Germination of Some Weed and Cultivated Seeds. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2477-2486.

Bazı Yabancı Ot ve Kültür Bitkisi Tohumlarının Çimlenmesine Yarpuz (*Mentha pulegium* L.) Uçucu Yağının Etkileri

Yücel KARAMAN^{1*}, Ayşe YAŞAR¹, Nihat TURSUN¹

ÖZET: Lamiaceae (ballıbabagiller) familyasına bağlı tıbbi ve aromatik bitkiler içerisinde yer alan yarpuz (*Mentha pulegium* L.) uçucu yağ bakımından zengin bir bitkidir. Bu çalışma, yarpuz uçucu yağının bazı yabancı ot ve kültür bitkileri tohumlarının çimlenmesine olan etkisini belirlemek amacıyla 2020 yılında Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Herboloji laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada, elde edilen uçucu yağın farklı dozlarının (0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 ve 16.0 µl petri⁻¹) 2 adet kültür bitkisi [(*Capsicum annuum* L.) ve (*Triticum aestivum* L.)] ve 4 adet yabancı ot [(*Amaranthus palmeri* S. Wats.), (*Amaranthus albus* L.), (*Avena fatua* L.) ve (*Sinapis arvensis* L.)] tohumunun çimlenmesi üzerine olan biyo-herbisidal etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda, kullanılan uçucu yağ dozlarının kullanım miktarı arttıkça tohumların çimlenmesinin daha fazla baskılandığı görülmüş ve tüm tohumlarda en yüksek etki (%100) 16 µl petri⁻¹ doz uygulamasında belirlenirken, en düşük etki (%) ise *S. arvensis* tohumunda 1 µl petri⁻¹ doz uygulamasından elde edilmiştir. Çalışmadaki LD₅₀ ve LD₉₀ değerlerine göre en yüksek doz sırasıyla 3.520 ve 7.857 µl petri⁻¹ olarak *T. aestivum*'da, en düşük değerler ise 0.004 ve 0.175 µl petri⁻¹ olarak *A. palmeri* tohumunda görülmüştür. Biber ve sebze alanları içerisinde sorun olan yabancı otlardan *A. albus* ve *A. palmeri* tohumlarının çimlenmesini engellemede düşük dozlar etkili olmuştur. Bu sonucun ileriki zamanlarda biyo-herbisit çalışmalarına fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Yarpuz, *Mentha pulegium*, uçucu yağ, yabancı ot

The Effects of Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) Essential Oil on the Germination of Some Weed and Cultivated Seeds

ABSTRACT: Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.), which is among the medicinal and aromatic plants belonging to the Lamiaceae family, is a plant rich in essential oils. This study was carried out in Malatya Turgut Özal University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Department, Weed Science laboratory in 2020 to determine the effect of pennyroyal essential oils at rates doses (0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 and 16.0 µl petri⁻¹) on the germination of seeds of some weeds [(*Amaranthus palmeri* S. Wats.), (*Amaranthus albus* L.), (*Avena fatua* L.) and (*Sinapis arvensis* L.)] and crops [(*Capsicum annuum* L.) and (*Triticum aestivum* L.)]. it was found that the germination of seeds of all species was fully suppressed in 16 µl petri⁻¹ dose application while the lowest effect (1%) was obtained from 1 µl petri⁻¹ dose application in *S. arvensis* seed. According to the LD₅₀ and LD₉₀ values in the study, the highest dose was seen in *T. aestivum* as 3.520 and 7.857 µl petri⁻¹ and the lowest dose was seen in *A. palmeri* seed as 0.004 and 0.175 µl petri⁻¹ respectively. Low doses were effective in preventing the germination of *A. albus* and *A. palmeri* seeds, which are problem weeds in pepper and vegetable fields. It is thought that this result will benefit bioherbicide studies in the future.

Keywords: Pennyroyal, *Mentha pulegium*, essential oil, weed

¹Yücel KARAMAN (Orcid ID: 0000-0002-6551-7030), Ayşe YAŞAR (Orcid ID: 0000-0001-9955-019X), Nihat TURSUN (Orcid ID: 0000-0002-8765-0326), Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Malatya, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Yücel KARAMAN, e-mail: yucel.karaman@ozal.edu.tr

GİRİŞ

Tarım alanlarında kültür bitkilerinin verim ve kalitesini olumsuz yönde etkileyen etmenlerin en önemlilerinden biri yabancı otlar olup (Thobatsi, 2009; Gökalp ve Üremiş, 2015; Karabacak, 2017), bunların mücadelesinde de genel olarak kimyasal mücadele yöntemi tercih edilmektedir (Uludağ ve ark., 2017). Ancak çevre açısından baktığımızda kimyasal mücadelenin getirdiği riskler gelecek konusunda ciddi endişelere yol açmaktadır (Atak ve ark., 2016). Son yıllarda artmakta olan çevre bilinci ve tarım alanlarında kullanılan sentetik kimyasalların insan ve hayvan sağlığını olumsuz etkilemesinden dolayı, kimyasal mücadelenin yerini alması istenilen alternatif yöntemler önem arz etmektedir (Uludağ ve ark., 2006). Bu alternatif yöntemlerden biri de allelopatik etkiye sahip bileşiklerin yabancı ot mücadelesinde kullanılmasıdır (Uludağ, 2006; Arslan ve ark., 2012; Uludağ ve ark. 2018).

Yabancı ot mücadelesinde çevreye olumsuz etkisi oldukça az olan bitkisel kökenli bileşiklerin araştırılması önemli bir yaklaşım sağlamaktadır. Son yıllarda yabancı otların mücadelesinde pestisitlere alternatif olarak semiokimyasalların kullanımı üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Yabancı otlara karşı yapılan çalışmalarda uçucu yağlar ve bitki ekstraktları gibi maddeler semiokimyasallar arasında bulunmakta olup, bunlar yabancı otların tohumlarının çimlenmesini ve gelişmesini inhibe etmektedir (Aydın ve Tursun, 2010). Semiokimyasallar içerisinde alternatif mücadelede allelopatik etkiye sahip olarak kullanılan kaynakların başında uçucu yağlar gelmektedir. Uçucu yağların çoğunluğu Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae ve Rutaceae familyalarındaki aromatik bitkilerde bulunmaktadır (Başer, 1993; Yazlık ve ark., 2013).

Lamiaceae familyasında yer alan yarpuz (*Mentha pulegium* L.) uçucu yağ açısından zengin bir yapıya sahip olup, uçucu yağın çoğunluğunu pulegon adlı madde oluşturmaktadır. Pulegon'dan başka piperiton, menthol, menthon gibi maddeler de yer almaktadır (Lorenzo ve ark., 2002; Öztürk ve ark., 2002; Aghel ve ark., 2004). Bitkiler üzerinde bu bileşiklerin yüksek oranda fitotoksik olduğu, herbisit etkisi gösterebilecek formülasyonlarının geliştirilmesi için çalışmaların yapılması ve bu çalışmaların sürekliliğinin önemli olduğu birçok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (Duke ve ark., 2002; Tworkoski, 2002; Luciana ve ark., 2003; Arminante ve ark., 2006; Dayan ve ark., 2009; Yazlık ve Üremiş, 2015).

Bitkiler tarafından savunma amaçlı olarak sentezlenen bileşikler yabancı ot tohumlarının çimlenmesini engelleme yönünden etkili olan uçucu yağlardır (Telci, 2006). Uçucu yağlardaki bileşikler çoğunlukla antioksidan, antimikrobiyal, antifungal ve repellent (kovucu) özelliklere sahiptir (Pinto ve ark. 2006; Kaya ve ark., 2018). Uçucu yağ bileşikleri fungus, bakteri, nematod ve yabancı otları öldürmede gaz halinde temas ile kullanılabilen ve bu özellikleri nedeniyle pestisitlere karşı potansiyel alternatif bileşikler olarak gösterilmektedir (Üremiş ve ark., 2014; Büyükkurt ve ark., 2016). Türkiye'de yabancı ot tohumlarının çimlenmesini baskılamada uçucu yağların kullanılması üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Azırak, 2002; Üremiş ve ark., 2008; Üremiş ve ark., 2009; Aydın ve Tursun, 2010; Yazlık ve ark., 2013; Büyükkurt ve ark., 2016; Zambak ve ark., 2016; Üremiş ve ark., 2017).

Tarımın sürdürülebilirliği açısından insan ve çevre sağlığının korunması için kimyasal ilaçlara alternatif yöntemler geliştirmek önemli olmakla birlikte, elde edilen sonuçlar organik tarımda yapılacak yabancı ot mücadelesinde kullanılabilir. Bu sayede tarımsal alanlarda kullanılan herbisitlerin en aza indirilmesi, çevre ve insan sağlığı korunması amaçlanmaktadır (Uludağ ve ark., 2017; Cünedioğlu ve Üremiş, 2018).

Bu çalışmayı yürütmede, tarımsal alanlarda önemli kültür bitkileri göz önünde bulundurulmuş ve bu kültür bitkilerinde sorun olan yabancı otlar ele alınmıştır. Ek olarak, yarpuz bitkisinin içeriğindeki bileşenlerin bitkiler üzerinde fitotoksik etkisi ve aynı zamanda familyasındaki herbisidal etki göz önünde bulundurulmuştur. Bu sebeple çalışmada, tıbbi ve aromatik bir bitki olan yarpuz (*Mentha pulegium*)’dan elde edilen uçucu yağın, biber (*Capsicum annuum* L.) ve buğday (*Triticum aestivum* L.) ile dev horozibiği (*Amaranthus palmeri* S. Wats.), ak horozibiği (*Amaranthus albus* L.), yabancı yulaf (*Avena fatua* L.) ve yabancı hardal (*Sinapis arvensis* L.) tohumlarının çimlenmesi biyo-herbisidal etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma 2020-2021 yıllarında Malatya Turgut Özal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Herboloji laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada tıbbi ve aromatik bitkiler içerisinde yer alan yarpuz (*M. pulegium*) Malatya iline bağlı Pütürge ilçesinin Bölükkaya köyünde boş alanlardan temin edilmiştir. Çalışmadaki diğer materyaller olan kültür bitkisi tohumları tarımsal işletmelerden temin edilirken, yabancı ot tohumları ise tarımsal alanlardan toplanmıştır. Deneme kurulumuna kadar +4 °C’de muhafaza edilmişlerdir.

Uçucu Yağın Elde Edilmesi

Çalışmada uçucu yağı kullanılan yarpuz bitkisi 2020 yılında bitkilerin çiçeklenme dönemi olan yaz aylarında biçilerek oda sıcaklığında (20-25 °C) gölgede kurutulmuş, daha sonra yarpuzun uçucu yağı Neo-Clevenger cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Bu amaçla 250 g yarpuz bitkisi gölgede kurutulmuş, kuruyan bitki örneği 5 L’lik cam balona alınmış, üzerine 2.5 L saf su konularak mantolu ısıtıcıda 200 °C’de 180 dakika boyunca kaynatılmıştır. Elde edilen uçucu yağ mikro pipet yardımıyla alınmış, koyu renkli cam şişelere konulmuş ve denemeler kuruluncaya kadar +4 °C de buzdolabında bekletilmiştir (Üremiş ve ark., 2009).

Uçucu Yağ Denemeleri

Uçucu yağ denemesi 9 cm çapında ve 60 cm³ hacminde plastik petrilere tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü ve 2 tekrarlı olarak sıcaklığı ve nem oranı ayarlanabilen iklim kabininde yürütülmüştür. Petri kaplarının tabanına sterilize edilmiş çift kat filtre kağıdı serilmiş ve çalışmada kullanılan her yabancı ot ve kültür bitkisinden 25 adet tohum konulmuştur. Petrilerin nemlendirilmesi 3 ml saf su ile sağlanmıştır. Sadece *S. arvensis* tohumunda bulunan dormansiye kırmak için 2000 ppm giberellik asit ile hazırlanan solüsyondan 3 ml kullanılmıştır (Ateş, 2017). Uçucu yağların sudaki çözünürlüğü fazla olmadığı için gaz formda kullanılmış ve bu amaç doğrultusunda petri kaplarının iç yüzeyine 1x1 cm² ebatında filtre kağıdı yapıştırılmış, daha sonra uçucu yağlar mikropipet yardımıyla filtre kağıdı üzerine damlatılarak kapağı kapatılıp çift kat parafilmle sıkıca sarılmıştır (Dudai ve ark., 1993; Yıldırım, 2007). Uçucu yağlar 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 µl petri⁻¹ dozlarında uygulanmıştır. Kontrol uygulamasında petrilere sadece 3 ml saf su konulmuştur.

Hazırlanan petrilere bitkilerin optimum çimlenme sıcaklığına ayarlanmış iklim kabinlerine konulmuştur. Çalışmada kullanılan kültür bitkisi ve yabancı otlar için iklim kabinleri; biber, dev horoz ibiği ve ak horozibiği için sabit 25 °C, buğday, yabancı yulaf ve yabancı hardal için sabit 15 °C sıcaklık ve karanlık ortam olarak ayarlanmıştır. Deneme 14 gün sürmüş ve 14. günde sayımlar yapılmış en az 0.5 cm radikula oluşturan tohumlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir (Uygur, 1985).

Çalışmadaki iki tekrarlı denemede, istatistiki açıdan fark bulunmadığı için veriler birleştirilip ortalamaları alınarak değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere varyans analizi (ANOVA) yapılmış, ortalama değerler arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi (P≤0.05) kullanılarak

gruplandırılmıştır. Çalışmada probit analizi yapılarak LD₅₀ (tohumların %50'sini öldürmek için gerekli doz) ve LD₉₀ (tohumların %90'sini öldürmek için gerekli doz) değerleri de hesaplanmıştır. Çalışmadaki varyans ve probit analizlerinde SPSS 25.0 paket programı kullanılmıştır. Çimlenme engelleme oranının formülü aşağıdaki gibi hesaplanmıştır (Efil ve Üremiş, 2019).

$$\text{Çimlenme Engelleme Oranı (\%)} = [(K - U)/K] \times 100 \quad (1)$$

K: Kontrolde çimlenme (adet)

U: Uçucu yağ uygulanan tohumlarda çimlenme (adet)

BULGULAR VE TARTIŞMA

Yarpuz bitkisinden elde edilen uçucu yağın farklı doz uygulamalarında, tüm dozlar farklı oranlarda yabancı ot ve kültür bitkisi tohumlarının çimlenmelerini inhibe etmiş ve bütün uygulamalarda etki oranı doz artışı ile paralellik göstermiştir (Çizelge 1).

Yarpuz uçucu yağının farklı dozlarının her bir tohum üzerindeki etkisinde dozlar arasında istatistiki açıdan fark önemli bulunmuştur. Dozların tohumlar üzerindeki karşılaştırılmasında, 8 ve 16 µl petri⁻¹ dozları arasında istatistiki açıdan bir fark bulunmazken diğer doz uygulamalarının tohumlar arasındaki karşılaştırılmasında istatistiki açıdan fark önemli bulunmuştur (Çizelge 1).

Çalışmadaki uçucu yağ uygulamasında en yüksek etkinin (%100) 16 µl petri⁻¹ dozunda olduğu belirlenmiş ve tüm tohumlar üzerinde etkisi aynı olarak saptanmıştır. Çalışmadaki en düşük etki (%1) ise *S. arvensis* tohumuna uygulanan 1 µl petri⁻¹ dozunda belirlenmiştir. Uçucu yağın 0.5, 1 ve 2 µl petri⁻¹ dozunun *S. arvensis*'te, 0.5 ve 1 petri⁻¹ dozunun ise *A. fatua*'da önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Düşük dozlardaki bu sonuçların dozların artışına paralel bir etki göstermemesi tohum kaynaklı olarak düşünülmektedir. Ek olarak düşük dozlardaki etkilerin istatistiki açıdan da bir öneminin olmadığı görülmüştür.

Kültür bitkilerinden biber ve buğday tohumlarına yapılan uçucu yağ uygulamasında en yüksek etki 16 µl petri⁻¹ dozlarında görülürken en düşük etki ise 0.5 µl petri⁻¹ dozundan saptanmıştır. Biberdeki etkinlik 2 µl petri⁻¹ uygulaması ile birlikte önemli derecede artarken, bu durum buğdayda 8 ve 16 µl petri⁻¹ uygulamalarından sağlanmıştır. Yabancı otlarda ise dev horozibiği ve ak horozibiği tohumlarına yapılan uçucu yağ uygulamasında en yüksek etki 16 µl petri⁻¹ dozunda görülürken en düşük etki ise 0.5 µl petri⁻¹ dozlarında görülmüştür. Yabani yulaf ve yabani hardal tohumlarında ise en yüksek etki yine 16 µl petri⁻¹ dozunda görülürken diğer uygulamalardan farklı olarak en düşük etki 1 µl petri⁻¹ dozunda saptanmıştır. Dev horozibiği ve ak horoz ibiğinde 0.5 µl petri⁻¹ ve üzeri uygulamalarda etkinlik oldukça yüksek bulunurken, bu durum yabani yulaf ve yabani hardalda ise 8 ve 16 µl petri⁻¹ uygulamalarından elde edilmiştir (Çizelge 1).

Çalışmadaki uçucu yağ uygulamalarında bütün dozlarda en yüksek etkiler dev horozibiği (*A. palmeri*) ve ak horozibiği (*A. albus*) tohumlarından elde edilmiştir. Yabancı otlarda en düşük etki yabani hardal tohumlarına yapılan uygulamada belirlenmiştir (Çizelge 1). Kültür bitkilerinde ise buğdayda yarpuz uçucu yağının etkisi bibere göre daha düşük bulunmuştur. Gerek kültür bitkileri gerekse yabancı otlarda 16 µl petri⁻¹ uygulaması çimlenmeyi %100 oranında engellemiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Yarpuz (*Mentha pulegium* L.)'dan elde edilen uçucu yağın farklı dozlarının kültür bitkisi ve yabancı ot tohumları üzerindeki etkileri (%)

Doz (μl petri ⁻¹)	<i>C. annuum</i>	<i>T. aestivum</i>	<i>A. palmeri</i>	<i>A. albus</i>	<i>A. fatua</i>	<i>S. arvensis</i>	F
0.5	25.1Bd(3.21)	2.5Dc(0.96)	94.2Ab(1.28)	93.2Ac(1.80)	13.2Cd(3.37)	3.5Dc(1.71)	374.5***
1	47.4Bc(4.51)	4.5CDc(2.63)	97.9Aa(0.84)	96.4Ab(1.63)	9.3Cd(3.15)	1.0Dc(1.00)	297.4***
2	82.5Bb(3.51)	8.5Dc(2.76)	98.9Aa(1.09)	99.3Ab(0.66)	27.0Cc(4.83)	2.0Dc(1.42)	266.3***
4	95.0Aa(1.69)	50.5Bb(7.81)	97.8Aa(0.89)	100.0Aa(0.00)	87.2Ab(2.47)	49.0Bb(5.20)	34.7***
8	99.4Aa(0.56)	97.5Aa(2.50)	99.5Aa(0.50)	100.0Aa(0.00)	96.1Aab(3.89)	99.5Aa(0.50)	0.6öd
16	100.0Aa(0.00)	100.0Aa(0.00)	100.0Aa(0.00)	100.0Aa(0.00)	100.0Aa(0.00)	100.0Aa(0.00)	-
F	128.6***	153.8***	5.7**	7.4***	171.0***	415.4***	

+ Sütunlarda bulunan verilerin karşılaştırılmasında gruplar küçük harfler ile ayrılmıştır.

+ Satırlarda bulunan verilerin karşılaştırılmasında gruplar büyük harfler ile ayrılmıştır.

+ ** = Duncan p < 0.01 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.

+ *** = Duncan p < 0.001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.

+ öd = İstatistiksel olarak önemli değildir.

Çalışmada ayrıca yabancı ot ve kültür bitkisi tohumları üzerine uygulanan uçucu yağ dozlarının LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri belirlenmiştir. Tohumların LD₅₀ değeri için en yüksek doz (3.72 μl petri⁻¹) yabancı hardal tohumunda görülürken, en düşük doz (0.004 μl petri⁻¹) ise dev horozibiği tohumunda saptanmıştır. Çalışmadaki tohumlarının LD₉₀ en yüksek doz (7.857 μl petri⁻¹) buğday tohumunda görülürken, en düşük doz (0.175 μl petri⁻¹) ise dev horozibiği tohumundan elde edilmiştir. Çalışmadaki LD₅₀ değeri *A. palmeri* ve *A. albus* tohumlarında 0.5 μl petri⁻¹ dozun altında belirlenirken, diğer tohumlarda 0.5 μl petri⁻¹ dozun üstünde saptanmıştır. Çalışmada LD₉₀ değeri ise aynı şekilde dev horozibiği ve ak horozibiği tohumlarında 0.5 μl petri⁻¹ dozun altında görülürken diğer tohumlarda 0.5 μl petri⁻¹ dozun üstünde görülmüştür (Çizelge 2).

Çizelge 2. Yabancı ot ve kültür bitkisi tohumları ile Yarpuz (*Mentha pulegium* L.) uçucu yağının farklı dozları arasındaki ilişki ve LD₅₀ - LD₉₀ değerleri

	LD ₅₀	LD ₉₀	df	Slope (+SE)	χ^2	P	Y
<i>C. annuum</i>	0.953	2.869	4	12.143	1.6	0.812	Y=0.056+2.678
<i>T. aestivum</i>	3.520	7.857	4	14.452	80.7	0.000	Y=-2.008+3.675
<i>A. palmeri</i>	0.004	0.175	4	2.659	2.5	0.652	Y=1.689+0.776
<i>A. albus</i>	0.069	0.403	4	3.086	0.7	0.956	Y=1.943+1.676
<i>A. fatua</i>	2.169	6.176	4	15.309	52.3	0.000	Y=-0.948+2.820
<i>S. arvensis</i>	3.722	7.638	4	14.137	722.5	0.000	Y=-2.343+4.104

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların antioksidan, antimikrobiyal, antifungal ve repellent (kovucu) özellikleri olduğu bilinmektedir (Pinto ve ark., 2006; Soylu ve ark., 2006; Kaya ve ark., 2018). Uçucu yağlar fungus, bakteri, nematod ve yabancı otların gelişimini doğrudan veya gaz teması ile inhibe edebilmektedir. Uçucu yağlar hücre duvarından hücre içine girerek ve hücrenin bazı metabolizma olaylarını engelleyerek (Marino ve ark., 2001) veya hücre duvarının yapısını bozarak etkili olabilmektedir (Chang ve ark., 2001; Ultee ve ark., 2002). Uçucu yağların yapısında bulunan temel bileşenler tohumun embriyo ve endospermde birikmesiyle çimlenmeyi engellemekte (Dudai ve ark., 1999), bitkilerde elektrolit sızıntısına sebep olarak hücre ölümü meydana getirmektedir (Tworkoski, 2002; Arminante ve ark., 2006). Bu özellikleri ile birlikte uçucu yağlar son yıllarda ticari olarak satılmakta olan sentetik kimyasallara alternatif bir yöntem olarak görülmektedir. Uçucu yağların çoğunluğu Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae ve Rutaceae familyalarındaki aromatik bitkilerde

bulunmaktadır (Başer, 1993). Lamiaceae familyasında yer alan yarpuz ise uçucu yağ açısından zengin bir yapıya sahiptir (Öztürk ve ark., 2002; Aghel ve ark., 2004).

Çalışmada yarpuz uçucu yağı 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 µl petri⁻¹ dozunda yabancı ot ve kültür bitkisi tohumlarına uygulanmıştır. Tüm tohumlar üzerinde %90 ve üzeri etki 8 ve 16 µl petri⁻¹ doz uygulamalarında belirlenmiştir. Denemede uygulanan 0.5, 1 ve 2 µl petri⁻¹ dozlarında etkinin buğday, yabani yulaf ve yabani hardal tohumlarında düşük diğer tohumlarda ise etkinin bu tohumlara oranla yüksek olduğu saptanmıştır. Hanana ve ark. 2017, yarpuz uçucu yağının yabani hardal tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisini incelemiş ve bu çalışmada uçucu yağın 0.75 ve 1 µl mL⁻¹ dozları çimlenmeyi %100 önlemiştir. Söz konusu çalışmadaki sonuçların çalışmamız ile farklı çıkmasının uçucu yağ elde edilen bitkinin ve uygulama yapılan tohumların farklı iklim koşullarında yetişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmada kültür bitkisi olarak uçucu yağdan, biber tohumların buğday tohumlarından daha yüksek derecede etkilendiği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada kültür bitkisi tohumları üzerine uygulanan uçucu yağların tohumları önemli ölçüde etkilediği bunun da uçucu yağlarda artan monoterpen oranı ile çimlenmeyi baskılama arasında pozitif bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (Arminante ve ark., 2006). Şahin ve ark. (2013), *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* ve *Origanum onites*'in uçucu yağlarının *Amaranthus hybridus*, *Physalis angulata* ve *Portulaca oleracea* tohumları üzerinde herbisidal etkisini araştırmışlar ve çalışmada *A. hybridus* tohumu üzerinde çimlenmeyi baskılayan en etkili uçucu yağ *O. onites* olarak belirlenirken, uçucu yağ dozları arttıkça çimlenmenin azaldığını saptamışlardır. Aydın ve Tursun (2010), soğan (*Allium cepa* L.), sarımsak (*A. sativum* L.) ve beyaz kekik (*O. dubium* L.) uçucu yağlarının farklı dozlarının (3, 6, 9, 12 ve 15 µl petri⁻¹) kırmızı köklü horoz ibiği (*Amaranthus retroflexus* L.), yabani hardal (*S. arvensis*), kıvrıkcık labada (*Rumex crispus* L.) ve fener otu (*Physalis angulata* L.) tohumlarının çimlenmesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. *A. retroflexus* ve *S. arvensis* tohumları üzerinde çimlenmeyi azaltmada en etkili uçucu yağ *O. dubium* olurken yüksek dozlarda çimlenmenin tamamen durduğu belirlenmiştir. Efil ve Üremiş (2019), *O. syriacum* ve *O. majorana* uçucu yağlarının bazı yabancı ot tohumlarının çimlenmeleri üzerindeki etkisini incelemiştir. *A. retroflexus* tohumunun çimlenmesini önlemede en etkili uygulamanın 32 µl petri⁻¹ ile *O. majorana* uçucu yağ uygulamasından elde edildiği belirlenmiştir. Cünedioğlu ve Üremiş (2018) biberiye (*R. officinalis* L.) ve sütçüler kekiği (*O. minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis) uçucu yağlarının değişik yabancı otlara olan etkinliğinde de doz artışına paralel olarak tohumların çimlenmesinin de azaldığını belirlemiştir. Ayrıca, Önen (2003) pelin uçucu yağının, Cavalieri ve Caporali (2010) *Cinnamomum zeylanicum* uçucu yağının bazı yabancı ot tohumlarının çimlenmesini tamamen inhibe ettiğini ve artan doz artışı ile bu etkinin daha da arttığını saptamışlardır. Yapılan bu araştırmalar, tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağların yabancı ot tohumlarının çimlenmesini baskılamada ve durdurmada etkili olduğunu ve dozların arttıkça yabancı ot tohumlarına olan etkinliğin de önemli derecede arttığını göstermesi yaptığımız çalışma ile benzerlik göstermektedir. Biber yetiştiriciliğinde *Amaranthus* türlerinin, buğday alanlarında ise yabani hardal ve yulafın sorun oluşturduğu bilinmektedir (Özaslan ve ark., 2011; Pala ve Mennan, 2017; Kılıç, 2020). Çalışmada yarpuz uçucu yağının yabani hardal ve yulaf tohumlarını 4 µl petri⁻¹ dozunda öldürmeye başladığı fakat aynı dozun buğdayı da etkilediği belirlenmiştir. Buğdayda yapılacak yabancı ot mücadelesinde yarpuz uçucu yağının biyoherbisit olarak kullanımının doğru olmayacağı görülmektedir. Fakat *A. albus* ve *A. palmeri* gibi biber alanlarında sorun olan yabancı ot tohumlarını öldürmede en düşük doz olan 0.5 µl petri⁻¹ uygulamasının etkili olduğu görülmüştür. Sonuç olarak biber alanlarında yabancı otlara karşı yapılacak alternatif mücadele yöntemi olarak biyoherbisit kullanımında yarpuz uçucu yağının 0.5 µl petri⁻¹ doz uygulamasının etkili olacağı düşünülmektedir.

SONUÇ

Çalışmada kullanılan yarpuz uçucu yağının düşük dozlarının yabancı ot tohumlarının çimlenmesini engellemede önemli bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Denemede kullanılan uçucu yağın 0.5 µl petri⁻¹ dozu yazlık bir kültür bitkisi olan biber tohumlarının çimlenmesini çok düşük oranda engellerken, yazlık birer yabancı ot olan dev horozibiği ve ak horozibiği tohumlarının çimlenmesini çok yüksek oranda engellemiştir. Çalışmada kullanılan yabancı hardal ve yulaf gibi yabancı otların biber alanlarında görülmediği göz önünde bulundurularak, bu sonuca göre tarımsal alanlarda biber kültür bitkisi içerisinde bulunan dev horozibiği ve ak horozibiği yabancı otlarının mücadelesinde uçucu yağ gibi allelopatik etkiye sahip uygulamaların alternatif mücadele yöntemi olarak ele alınması düşünülebilir. Sonuç olarak, elde edilen uçucu yağın kültür bitkisi tohumlarının çimlenmesini engellemede daha yüksek doza ihtiyaç duyulurken, yabancı otlarda ise daha düşük dozlarda bu etkiyi gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuçla beraber, biber tarımının yapılacağı alanlarda tıbbi ve aromatik bir bitki olan ve özellikle ilaç sanayinde kullanılan yarpuz bitkisinin ara tarım olarak yetiştirilmesi ya da ekim nöbeti olarak uygulanması bir çözüm önerisi olarak düşünülmektedir. Fakat tarla koşullarında ne tür sonuçlar vereceği belirsiz olduğu için konu üzerine araştırmaların yapılması önerilmektedir.

Laboratuvar koşullarındaki sonuçlar ümitvar olmakla beraber, uçucu yağların seçiciliğinin bulunmaması, sera ve tarla koşullarında yapılan uygulamalardaki zorluklar, yeni çalışmaların yeni uygulama tekniklerine ve formülasyon tiplerine göre araştırılması önem arz etmektedir. Yarpuz uçucu yağının yabancı otlara karşı biyo-herbisidal etkisi olduğu görülmektedir. Bu çalışmadaki verilerle, yabancı otların çimlenmesini veya gelişmesini engellemede yarpuz uçucu yağının formülasyon haline getirilip doğal biyo-herbisit olarak kullanılması ve ileriki yıllarda yapılacak çalışmalara ışık tutacağı öngörülmektedir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Aghel N, Yamini Y, Hadjiakhoondi A, Pourmortazavi SM, 2004. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Talanta*, 62, 407–411.
- Arminante F, De Falco E, De Feo V, De Martino L, Mancini E, Quaranta E, 2006. Allelopathic activity of essential oils from Mediterranean Labiatae. I. International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation, 22-25 February, Sanremo-Italy, p. 347-360.
- Arslan M, Üremiş İ, Demirel N, 2012. Effects of sage leafhopper feeding damage on herbage colour, essential oil content and compositions of turkish and greek oregano. *Experimental Agriculture*, 48 (3) 428-437.
- Atak M, Mavi K, Üremiş İ, 2016. Bio-herbicidal effects of oregano and rosemary essential oils on germination and seedling growth of bread wheat cultivars and weeds. *Romanian Biotechnological Letters*, 21 (1) 11149-11159.

- Ateş E, 2017. Batman ve Şanlıurfa buğday alanlarında bulunan yabancı otlar ile yabancı hardal (*Sinapis arvensis* L.) ve kısır yabancı yulaf (*Avena sterilis* L.)'ın bazı biyolojik özelliklerinin belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Aydın O, Tursun N, 2010. Bitkisel kökenli bazı uçucu yağların bazı yabancı ot tohumlarının çimlenme ve çıkışına olan etkilerinin araştırılması. KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi, 13(1).
- Azırak S, 2002. Bazı Uçucu Yağ Bitkilerinin ve Aroma Kimyasalların Yabancı Ot Türlerinin Çimlenmesi Üzerine Allelopatik Etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bil. Ens., Yüksek Lisans Tezi, 53 s. Kahramanmaraş.
- Başer KHC, 1993. Essential oils of Anatolian Labiatae: A profile. Acta Horticulturae, 333: 217- 238.
- Büyükkurt N, Uludağ A, Üremiş İ, 2016. Türkiye'de allelopati çalışmalarına geçmişten geleceğe bir bakış. Uluslararası Katılımlı VI. Bitki Koruma Kongresi (5-8 Eylül 2016, Konya-Turkey) Bildiriler: 818.
- Cavalieri A, Caporali F, 2010. Effects of essential oils of cinnamon, lavender and peppermint on germination of Mediterranean weeds. Allelopathy Journal, 25 (2) 441-451.
- Chang ST, Cheng SS, Wang SY, 2001. Antitermitic activity of essential oils and components from Taiwania (*Taiwania cryptomerioides*). Journal of Chemical Ecology, 27, 717-724.
- Cünedioğlu T, Üremiş İ, 2018. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve Sütçüler Kekliği (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz & P.H. Davis) Uçucu Yağlarının Bazı Yabancı Ot Tohumlarının Çimlenmelerine Etkileri. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23 (1), 24-32.
- Dayan FE, Howell J, Weidenhamer JD, 2009. Dynamic root exudation of sorgoleone and its in planta mechanism of action. Journal Experimental Botany, 60(7): 2107-2117.
- Dudai N, Poljakoff-Mayber A, Lerner HR, Putievsky E, Ravid U, Katzir E, 1993. Inhibition of germination and growth bt volatiles of *Micromeria fruticosa*. Acta Horticulturae, 344: 123-131.
- Dudai N, Poljakoff-Mayber A, Mayer AM, Putievsky E, Lerner HR, 1999. Essential oils, as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. Journal of Chemical Ecology, 25: 1079-1089.
- Duke OS, Dayan EF, Rimando MA, Schrader KK, Aliotta G, Oliva A, Romagni JG, 2002. Chemicals from nature for weed management. Weed Science, 50:138-151.
- Efil F. Üremiş İ, 2019. Dağ Kekliği (*Origanum syriacum* L.) ve Mercanköşk (*Origanum majorana* L.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların bazı yabancı ot tohumlarının çimlenmesine ve bitki gelişimine etkileri. Turkish Journal of Weed Science, 22(1):25-35.
- Gökalp Ö. Üremiş İ, 2015. Mardin'de buğday ürününe karışan yabancı ot tohumlarının belirlenmesi. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 20 (1) 23-30.
- Hanana M, Mansour MB, Algabr M, Amri I, Gargouri S, Romane A, Jamoussi B, Hamrouni L, 2017. Potential use of essential oils from four Tunisian species of Lamiaceae: biological alternative for fungal and weed control. Records of Natural Products, 11:3 (2017) 258-269.
- Karabacak S, 2017. Çukurova Bölgesi Ayçiçeğinde Sorun Olan Yabancı Ot Türlerinin Ve Yoğunluklarının Belirlenmesi İle Bunlardan Canavar Otlarının (*Orobancha* spp.) Agroekolojik Herbisitlerle Mücadele Olanaklarının Araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 128 s, Adana.
- Kaya K, Sertkaya E, Üremiş İ, Soylu S, 2018. Determination of chemical composition and fumigant insecticidal activities of essential oils of some medicinal plants against the adults of cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tarım ve Doğa Dergisi, 21 (5) 708-714.

- Kılıç N, 2020. Şanlıurfa İli Biber Yetiştirme Alanlarında Bulunan Fitoplazmaların Yabancı Ot Konukçularının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 45s.
- Lorenzo D, Paz D, Dellacassa E, Davies P, Vila R, Canigueral S, 2002. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol. 45. n.4: pp. 519-524.
- Luciana AG, Carpenese G, Ciani PL, Morelli I, Macchia M, Flamini G, 2003. Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(21): 6158- 6164.
- Marino M, Bersani C, Comi G, 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. International J. Food Microbiology, 67: 187-195.
- Önen H, 2003. Bazı bitkisel uçucu yağların biyoherbisidal etkileri. Türkiye Herboloji Dergisi, 6 (1) 39-47.
- Özaslan C, Boyraz N, Güncan A, 2011. Diyarbakır ili buğday ekim alanlarında sorun olan yabancı otların belirlenmesi. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 28-30 Haziran, Kahramanmaraş, 139 s.
- Öztürk B, Konyalıoğlu S, Ertaş H, Gökğünneç L, 2002. Türkiyede doğal yayılış gösteren bazı *Mentha* L. taxonlarının karşılaştırmalı uçucu yağ bileşenleri ve antioksidan etkileri. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler. 125-129, Eskişehir.
- Pala F, Mennan H, 2017. Diyarbakır buğday tarlalarında bulunan yabancı otların belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 57(4): 447- 461.
- Pinto E, Pina-Vaz C, Salgueiro L, Gonc MJ, Oliveira SC, Cavaleiro C, Palmeira A, Rodrigues A, Oliveira JM, 2006. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. Journal of Medical Microbiology, 55: 1367-1373.
- Soylu EM, Soylu S, Kurt Ş, 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. Mycopathologia, 161: 119-128.
- Şahin CB, Arslan M, Kırmaz S, 2013. Bazı yabancı ot tohumlarının çimlenmesi üzerine uçucu yağların herbisidal etkisi. Türkiye 10. Tarla Bitkileri Kongresi. (10-13 Eylül) Bildiriler: 1026.
- Telci İ, 2006. Uçucu yağlar ve allelopati. Allelopati Çalıştayı, Türkiye’de Allelopatinin Kullanımı: Dün, Bugün, Yarın (13-15 Haziran 2006, Yalova) Bildiriler, 153-159.
- Thobatsi T, 2009. Growth and Yield Responses of Maize (*Zea mays* L.) and Cowpea (*Vigna unguiculatea*) in a Intercropping System. MSc Thesis, University of Pretoria, Pretoria.
- Twooski T, 2002. Herbicide effect of essential oils. Weed Science, 50(4): 425-431.
- Ultee A, Bennik MHJ, Moezelaar R, 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied Environmental Microbiology Journal, 68: 1561–1568.
- Uludağ A, 2006. Türkiye’de Allelopati araştırmaları ve uygulamaları üzerine genel bir bakış. Allelopati Çalıştayı, 13-15 Haziran, Yalova.
- Uludağ A, Üremiş İ, Arslan M, 2018. Biological weed control, Non-chemical weed control, (Eds.: Jabran, K.and Chauhan, B.S.), Academic Press, 115-132.
- Uludağ A, Üremiş İ., Ruşen M, Tursun N, 2017. Possible uses of allelopathy in weed control in organic farming in Turkey. Acta Herbologica, 26 (2) 87-93.
- Uludağ A, Üremiş İ, Ülger AC, Çakır B, Aksoy E, 2006. The use of maize as replacement crop in trifluralin treated cotton fields in Turkey. Crop Protection, 25:275-280.

- Uygur FN, 1985. Untersuchungen zu art und Bedeutung der Verunkrautung in der Cukurova unter Besonderer Berücksichtigung von *Cynodon dactylon* (L.) Pers. und *Sorghum halepense* (L.) Pers. PLITS, 1985/3 (5) Josef Margraf, 169 s, Stuttgart, Germany.
- Üremiş İ, Arslan M, Sangun MK, Uygur V, İşler N, 2009. Allelopathic potential of rapeseed cultivars on germination and seedling growth of weeds. Asian Journal of Chemistry. Vol. 21, No. 3, 2170-2184
- Üremiş İ, Arslan M, Uludağ A, 2008. Effect of essential oils on the germination of *Solanum nigrum* and *Physalis angulata*. 5th World Congress on Allelopathy "Growing Awareness of the Role of Allelopathy in Ecological, Agricultural, and Environmental Processes" (21-25 September 2008, New York-USA) Abstracts: 47-48.
- Üremiş İ, Soylu S, Uludağ A, 2017. The effect of essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. on several weed and crop species. The 26th Asian-Pacific Weed Science Society Conference (19-22 September 2017, Kyoto-Japan) Abstracts: 311.
- Üremiş İ, Arslan M, Yıldırım AE, Soylu S, 2014. Bazı kekik uçucu yağlarının yabancı ot mücadelesinde toprak fumigantı olarak kullanılabilme olanaklarının belirlenmesi. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi (3-5 Şubat 2014, Antalya) Bildiriler: 380.
- Yazlık A, Arslan M, Efil F, Üremiş İ, Uludağ A, 2013. Uçucu yağların Türkiye'de yabancı ot mücadelesinde kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi. I. Bitki Koruma Ürünleri ve Tarım Makineleri Kongresi (2-5 Nisan 2013, Antalya), Bildiriler, 229-241.
- Yazlık A, Üremiş İ, 2015. Bazı uçucu yağ bileşiklerinin Kanyaş [(*Sorghum halepense* (L.) Pers.) gelişimine etkinliğinin belirlenmesi. Turkish Journal of Agricultural Research, (2015) 2: 93-99 TÛTAD ISSN: 2148-2306.
- Yıldırım BK, 2007. Bazı bitkisel kökenli uçucu yağların bioherbisidal etkilerinin araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 130 s, Samsun.
- Zambak Ş, Büyükkurt N, Uludağ A, Üremiş İ, 2016. *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye), *Origanum syriacum* L. (Suriye kekiği) uçucu yağlarının geniş yapraklı bazı yabancı ot tohumlarının çimlenmeleri üzerine etkisi. Uluslararası Katılımlı VI. Bitki Koruma Kongresi (5-8 Eylül 2016, Konya) Bildiriler: 819.

Atf İçin: Akkuş S, Gözüaçık C, Gültekin L, 2021. *Thymus sipyleus* (Boiss.) subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas ve *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* (Lamiaceae) Ait Uçucu Yağların Bazı Depolanmış Ürün Zararlılarına Karşı Fumigant Etkileri. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2487-2497.

To Cite: Akkuş S, Gözüaçık C, Gültekin L, 2021. Fumigant Effects of Essential Oils of *Thymus sipyleus* (Boiss.) subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas and *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* (Lamiaceae) Against Some Stored Product Pests. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2487-2497.

***Thymus sipyleus* (Boiss.) subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas ve *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* (Lamiaceae) Ait Uçucu Yağların Bazı Depolanmış Ürün Zararlılarına Karşı Fumigant Etkileri**

Seliha AKKUŞ¹, Celalettin GÖZÜAÇIK^{1*}, Levent GÜLTEKİN²

ÖZET: Bu çalışmada, İğdir ilinden toplanmış Lamiaceae familyasına ait *Thymus sipyleus* (Boiss) subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas ve *Mentha longifolia* (Hudson) subsp. *longifolia* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların Ekin kambur biti, *Rhizopertha dominica* (Fabricius), testereli böcek, *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus), küçük kırma biti, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), börülce tohum böceği, *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) ve kırma biti, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val'un ergin dönemlerine karşı fumigant etkileri incelenmiştir. Söz konusu bitkilerden elde edilen yağlar 25±1°C sıcaklık ve %65±5 orantılı nem koşullarında 5, 10 ve 15 µl petri⁻¹ dozlarında 3 tekerrür hazırlanmış ve 12, 24, 48, 72 ve 96 saatte ölüm oranlarına bakılarak LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri belirlenmiştir. Çalışmalar sonucunda, (LC₅₀ ve LC₉₀) değerine göre en az toksisite *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* uçucu yağı için (LC₅₀, 1.1555 µl böcek⁻¹ ve LC₉₀, 4.567) *O. surinamensis* erginleri üzerinde belirlenirken, her iki bitkinin uçucu yağının diğer tür ve dozların toksisiteye sahip oldukları tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Lamiaceae, depolanmış ürün zararlıları, fumigant etki, uçucu yağ.

Fumigant Effects of Essential Oils of *Thymus sipyleus* (Boiss.) subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas and *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* (Lamiaceae) Against Some Stored Product Pests

ABSTRACT: In this study was investigated fumigant effects on adult of important pests of stored products of lesser grain borer, *Rhizopertha dominica* (Fabricius), sawtoothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus), rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) and confused flour beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val of obtained essential oils above ground of *Thymus sipyleus* (Boiss) subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas and *Mentha longifolia* (Hudson) subsp. *longifolia* in the Lamiaceae family of plants collected from İğdir province. The obtained essential oils of these plants were prepared in 3 replications at 5, 10 and 15 µl petri⁻¹ doses under 25 ± 1°C temperature and 65 ± 5% relative humidity conditions. LC₅₀ and LC₉₀ values were determined by looking at the mortality rates at 12, 24, 48, 72 and 96 hours at different periods. In consequence of the studies, according to the LC₅₀ and LC₉₀ values, the least toxicity was determined for *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* essential oil (LC₅₀, 1.1555 µl insect⁻¹ and LC₉₀, 4.567) while the least toxicity was determined on *O. surinamensis* adults, while the other species and doses of the essential oils of both plants were found to have toxicity.

Keywords: Lamiaceae, pests of stored products, fumigant, essential oil.

¹ Seliha AKKUŞ ([Orcid ID: 0000-0002-5790-4006](https://orcid.org/0000-0002-5790-4006)), İğdir Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İğdir, Türkiye

¹ Celalettin GÖZÜAÇIK ([Orcid ID: 0000-0002-6543-7663](https://orcid.org/0000-0002-6543-7663)), İğdir Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İğdir, Türkiye

² Levent GÜLTEKİN² ([Orcid ID: 0000-0002-6039-7535](https://orcid.org/0000-0002-6039-7535)), Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Erzurum, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Celalettin GÖZÜAÇIK, e-mail: cgozuacik46@gmail.com

Bu çalışma Seliha AKKUŞ'un Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

İnsanoğlu ürettikleri gıdaların bir kısmını taze tüketirken bir kısmını depolamaktadır. Depolanan ürünleri her ne kadar korunsun da, böcekler tarafından zarara uğrayabilmektedir (Boxall, 2001). Ürünleri bu zararlılardan koruyabilmek için, yoğun bir şekilde kimyasal mücadele yapılmaktadır. Ancak, böceklerin kimyasallara karşı dayanıklılık kazanması, kalıntı bırakması ve yoğun toksik etkisi ve benzeri sebeplerden dolayı alternatif mücadele yöntemlerinin depolanmış ürün böcekleriyle mücadeledeki önemi gittikçe artmaktadır (Çam ve ark., 2012). Bitkilerden çıkarılan uçucu yağlar böcekler üzerinde gelişme ve çoğalmayı engelleyici, uzaklaştırıcı (repellent), toksik ve beslenmeyi engelleyici (antifeedant) etkiler göstermektedir (Mansour ve ark., 1986; Singh ve ark., 1989; Ndungu ve ark., 1995). Günümüzde, doğada doğal yetişen 300 civarında bitkinin yaklaşık 1/3'ünün uçucu yağ içerdiği bilinmektedir. Eterik yağlar, bitkilerin su buharı distilasyon yöntemiyle çıkarılan, normal koşullarda sıvı, yağimsı, kuvvetli kokulu karışımlardır (Tanker ve Tanker, 1990). Eterik yağ bulunan bitkiler daha çok sıcak bölgelerde yetişmektedirler (Ceylan, 1996). Bitkiler tarafından çıkarılan uçucu yağların üzerinde durulmasının sebebi, bitkilerin tabiatta doğal olarak bulunmaları nedeniyle doğaya zehirli maddelerin yayılmasına sebep olmamalarıdır. Ayrıca, kısa sürede ayrıştıklarından çevre kirliliği ve insan sağlığı için herhangi bir tehdit edici uzun süreli kalıntılara sebep vermemesi ve seçici olmalarıdır (Benner, 1993). Bitki kökenli pestisitler içerisinde yer alan uçucu yağlar, en çok depolanmış ürün zararlılarına karşı test edilmiştir (Elgün ve Ertugay, 1990). Uçucu bileşiklerden elde edilen eterik yağlar böceklere solunum yoluyla daha çok etkili olduklarından çalışmalar fümigant etki üzerine yoğunlaşmıştır (Channoo ve ark., 2002).

Lamiaceae familyası türlerinin uçucu yağ ile bileşenleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Lamiaceae familyası yaklaşık 250 cinsle 7 000 tür ile dünyada yayılış alanı en geniş bitki familyalarından biridir (Thorne, 1992). Türkiye'de 45 cinsle 256'sı endemik olan 574 türü bilinmektedir (Kahraman ve ark., 2009). Kekik bitkisi, bu türlerden doğada yaygın olarak bulunan türdür.

Kekik bitkisi olarak adlandırılan cinslerden Türkiye'de *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Tymbra* ve *Coridothymus* bulunmaktadır (Başer ve ark., 1994). Dünyada *Thymus*; cinsine ait tür sayısı 220 kadar olup, Türkiye'de 39 türü bulunmaktadır. Kekiğin uçucu yağ bileşenleri içeriğinde borneol, linalol, thymol, p-simen, carvacrol, terpineol ve cymol bulunmaktadır. Kekik bitkisine has kokusunu veren içeriğindeki thymol ile carvacrol bileşenleridir. Thymol yüksek derecede bir antimikrobiyaldir (Akgül, 1993). Kekiğin fumigant etkisinin zararlı türüne, gelişme dönemine, uygulama miktarına ve süresine bağlı olarak depolanmış ürün zararlılarına karşı yüksek derecede öldürücü etki gösterdiğini bildirmiştir. *Mentha* cinsinin Türkiye'de 7 türü bilinmektedir (Baytop, 1999). Lopez ve Pascual-Villalobos (2010) ile Rajendran ve Sriranjini (2008) yürüttükleri çalışmada, *Mentha* cinsine bağlı türlerin içeriğinde bulunan monoterpenlerin depolanmış ürün zararlıları üzerinde yüksek ölçüde fumigant etki gösterdiklerini belirtmişlerdir.

Bu çalışma, Lamiaceae familyasına ait *Thymus sipyleus* subsp. *rosulans* (kekik) ve *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* (yarpuz) bitkilerinden elde edilen eterik yağların, depolanmış ürün zararlılarından *Rhyzopertha dominica*, *Cryptolestes ferrugineus*, *Callosobruchus maculatus*, *Tribolium confusum* ile *Oryzaephilus surinamensis*'in ergin dönemleri üzerine fumigant etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Böcek Materyali

Denemede kullanılacak depolanmış ürün zararlıları Ekin kambur biti, *Rhyzopertha dominica*, testereli böcek, *Oryzaephilus surinamensis*, küçük kırma biti, *Cryptolestes ferrugineus*, bürülce tohum böceği, *Callosobruchus maculatus* ve kırma biti, *Tribolium confusum*'dur. Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Entomoloji laboratuvarı'nda bulunan stok kültürlerden üretilmiştir. Böceklerin üretilmesinde *R. dominica*, *O. surinamensis*, *C. ferrugineus* ve *T. confusum* için stok kültürlerden alınan ergin bireyler, içinde sağlam ve kırık buğday ile un- kepek (karışım oranı 1+1+1) bulunan 0,5 litrelik kaplarda, *C. maculatus* ise içinde nohut ve bürülce (karışım oranı 1+1) bulunan kaplar kullanılmıştır. Böceklerin beslenmesinde kullanılan ürünler -20°C'de bekletilerek mevcut zararlılardan temiz hale getirilmiştir. Böcekler 27±2°C sıcaklık ile %50±10 nisbi nem şartlarında kültüre alınmıştır. Denemelerde 0-10 günlük ergin bireyler kullanılmıştır.

Bitki materyali ve Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Thymus sipyleus subsp. *rosulans* ve *Mentha longifolia* subsp. *longifolia* bitkileri Mayıs-temmuz aylarında çiçeklenme döneminde Iğdır ilinin Suveren ve Yüzbaşılar Köyü'nden toplanmıştır. Toplanan bitkiler gölgede kurutulmuştur. Clevenger cihazı kullanılarak kurutulmuş bitki örneklerinden hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağlar çıkarılmıştır. Yağlar çalışmada kullanılmaya kadar cam tüpler içinde buzdolabında muhafaza edilmiştir. Uçucu yağların analizleri Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Köyceğiz Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu laboratuvarında yapılmıştır.

Yöntem

Uçucu Yağların Etkisinin Belirlenmesi

Üretimi yapılan *R. dominica*, *O. surinamensis*, *C. ferrugineus*, *T. confusum* ve *C. maculatus* erginleri 9 cm'lik petrilere yerleştirilmiştir. Her petriye 20 adet böcek ve daha önceden zararlılardan arındırılmış 5'er gram (gr) tahıl karışımı ve bürülce eklenmiştir. Petrilerin içine steril kurutma kağıtları bir bant yardımıyla yerleştirilmiştir. Uçucu yağların zararlılarda fumigant etkisini belirlemek için yağlar 5, 10 ve 15 µl petri⁻¹ dozlarında hazırlanıp kurutma kağıdına mikropipet yardımıyla emdirilmiştir. Uygulama öncesi homojen bir karışım için 1 dakika vortexte karıştırılmıştır. Kontrol olarak saf su ve karşılaştırma ilacı olarak da Malathion 65 EM (650 g l⁻¹) sıvı insektisit kullanılmıştır. Böcekler 12, 24, 48, 72 ve 96 saat süre ile bu ortama alınmıştır. Denemeler 25±1°C sıcaklık ve %65±5 orantılı nem koşullarına ayarlı soğutmalı inkübatörde yürütülerek her deneme 3 tekerrür olarak yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Thymus sipyleus Boiss. subsp. *rosulans* ve *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia* bitkilerinden çıkarılan uçucu yağların depolanmış ürün zararlısı ve böceğin ergin dönemine olan etkileri kaydedilmiş, 12, 24, 48, 72 ve 96 saatler sonunda % ölüm oranları tespit edilmiştir. Sonuçlarda istatistiksel olarak bir fark olup olmadığını belirlemek için, SPSS (Statistical Package for Social Sciences 17.0) yazılım paketi kullanılarak, varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve Duncan testi ile ortalamalar arasındaki farklar (p<0.01) test edilmiştir. LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri, Finney (1971) yöntemine göre hesaplanmış ve her bir uygulamanın %95 güven sınırlarında LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerini belirlemek için EPA Probit Analiz Programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmalarda *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ve *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia* bitkilerinden çıkarılan uçucu yağların 5, 10 ve 15 µl petri⁻¹ dozlarının *C. ferrugineus*

(Steph.), *Oryzaephilus surinamensis* (L.), *Rhyzopertha dominica* (F.), *Tribolium confusum* (duVal) ve *Callosobruchus maculatus* (F.) erginlerine karşı beş farklı zamanda (12, 24, 48, 72 ve 96 saat) etkileri karşılaştırılmıştır (Çizelge 3 ve 4). Ayrıca çalışmada kullanılan *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ve *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia* bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların temel komponentleri ve bağıl yüzdeleri Çizelge 1 ve 2’de gösterilmiştir.

Çizelge 1. *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* bitkisinden çıkarılan uçucu yağların kimyasal bileşimi

RI	Bileşik adı	%	Teşhis Yöntemi
905	α -Tujen	0.04	Co- GC, MS, RI
914	α -Pinen	0.08	Co- GC, MS, RI
932	Kamfen	0.07	Co- GC,MS, RI
948	β -Pinen	0.05	Co- GC, MS, RI
974	1-okten-3-ol	0.03	Co- GC, MS, RI
978	3-oktanon	0.02	MS, RI
993	Mirsen	0.23	Co- GC, MS, RI
997	3-oktanol	0.02	MS, RI
1009	α -Terpinen	0.04	Co- GC, MS, RI
1017	p-Simen	2.80	Co- GC, MS, RI
1032	Limonen	0.08	Co- GC, MS, RI
1038	1,8-sineol	0.65	Co- GC, MS, RI
1058	γ -Terpinen	2.08	Co- GC, MS, RI
1081	Terpinolen	0.21	Co- GC, MS, RI
1090	Fenil glioksal	0.05	MS, RI
1141	Kamfor	0.22	Co- GC, MS, RI
1143	Borneol	2.10	Co- GC, MS, RI
1145	α -Terpineol	0.21	Co- GC, MS, RI
1186	Terpinen-4-ol	0.47	Co- GC, MS, RI
1189	p-simen-8-ol	0.08	MS, RI
1233	Timol metil eter	0.60	MS, RI
1251	Karvon	0.06	Co- GC, MS, RI
1260	Piperiton	0.09	Co- GC, MS, RI
1284	Carvacrol	81.82	Co- GC, MS, RI
1292	Thymol	5.52	Co- GC, MS, RI
1342	β -Bourbonen	0.03	MS, RI
1367	β -Karyofilen	0.43	Co- GC, MS, RI
1385	Valensen	0.02	Co- GC, MS, RI
1393	γ -muurolen	0.07	MS, RI
1402	Alloaromadendren	0.03	Co- GC, MS, RI
1440	γ -Gurjunen	0.05	MS, RI
1454	γ -kadinen	0.08	MS, RI
1465	δ -kadinen	0.14	Co- GC, MS, RI
1468	α -muurolen	0.02	MS, RI
1471	α -bisabolen	0.11	MS, RI
1476	α -himachalen	0.58	Co- GC, MS, RI
1480	Spathulenol	0.20	Co- GC, MS, RI
1490	Karyofilenoksit	0.48	Co- GC, MS, RI
	Monoterpen hidrokarbonlar	5.68	
	Oksijen taşıyan monoterpenler	91.81	
	Seskiterpen Hidrokarbonlar	1.56	
	Oksijen taşıyan Seskiterpenler	0.67	
	Diğer bileşenler	0.12	
	TOPLAM (%)	99.84	

T. sipyleus Boiss. subsp. *rosulans* bitkisinin toplam %99.84’ünü oluşturan uçucu yağında 38 bileşen tespit edilmiş ve ana bileşenleri olarak; Carvacrol (%81.82), Thymol (%5.52), p-Simen (%2.80) ve γ -Terpinen (%2.08) belirlenmiştir. *M. longifolia* subsp. *longifolia* bitkisinin %99.95’lik

kısmını oluşturan uçucu yağında ise 38 bileşen tespit edilmiş ve ana bileşenleri sırasıyla; Pulegon (%31.97), Piperiton (%10.61), β -Karyofilen (%10.33), Menton (%4.66), 1.8-sineol (%4.29) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 1. *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia* bitkisinden çıkarılan uçucu yağların kimyasal bileşimi

RI	Bileşik adı	%	Teşhis Yöntemi
914	α -Pinen	0.78	Co- GC, MS, RI
948	β -Pinen	0.62	Co- GC, MS, RI
961	β -Fellandren	1.15	Co- GC, MS, RI
993	Mirsen	0.82	Co- GC, MS, RI
997	3-oktanol	1.08	MS, RI
1017	p-Simen	0.13	Co- GC, MS, RI
1032	Limonen	2.42	Co- GC, MS, RI
1038	1,8-sineol	4.29	Co- GC, MS, RI
1046	β -cis-osimen	0.37	MS, RI
1109	β -linalool	0.20	Co- GC, MS, RI
1115	Karvomenten	0.55	MS, RI
1143	Borneol	0.13	Co- GC, MS, RI
1145	α -Terpineol	0.47	Co- GC, MS, RI
1152	Isomenton	1.90	Co- GC, MS, RI
1170	Menton	4.66	Co- GC, MS, RI
1181	Isopulegon	2.37	Co- GC, MS, RI
1186	Terpinen-4-ol	0.33	Co- GC, MS, RI
1189	p-simen-8-ol	0.20	MS, RI
1193	Mentol	1.26	Co- GC, MS, RI
1199	γ -terpineol	2.26	Co- GC, MS, RI
1209	cis-carveol	0.16	Co- GC, MS, RI
1213	trans-karveol	0.10	Co- GC, MS, RI
1221	Kumik aldehit	0.62	MS, RI
1245	Pulegon	31.97	Co- GC, MS, RI
1251	Karvon	1.01	Co- GC, MS, RI
1260	Piperiton	10.61	Co- GC, MS, RI
1275	4-metil isopulegon	0.95	MS, RI
1292	Timol	1.97	Co- GC, MS, RI
1296	γ -Elemen	0.59	MS, RI
1300	2-hidroksi piperiton	1.20	MS, RI
1305	Eukarvon	0.87	MS, RI
1342	β -Bourbonen	0.19	MS, RI
1354	β -Elemen	0.45	MS, RI
1358	Sinerolon (Cinerolon)	0.64	MS, RI
1367	β -Karyofilen	10.33	Co- GC, MS, RI
1401	trans-geranil aseton	0.29	MS, RI
1410	β -farnesen	1.52	Co- GC, MS, RI
1419	geranil izobütirat	0.35	MS, RI
1429	Germakren D	3.46	MS, RI
1454	γ -Kadinen	0.34	Co- GC, MS, RI
1462	linalil izovalerat	0.16	MS, RI
1480	Spathulenol	2.04	Co- GC, MS, RI
1490	Karyofilenoksit	3.55	Co- GC, MS, RI
1610	tau-Kadinol	0.35	MS, RI
1689	heksahidro farnesil aseton	0.25	MS, RI
	Monoterpen hidrokarbonlar	6.29	
	Oksijen taşıyan monoterpenler	69.02	
	Seskiterpen Hidrokarbonlar	16.86	
	Oksijen taşıyan Seskiterpenler	5.94	
	Diğer bileşenler	1.84	
	TOPLAM (%)	99.95	

Çizelge 3 incelendiğinde, *M. longifolia* subsp. *longifolia* ve *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* bitkilerinden elde edilen uçucu esansiyellerin kontrollerle karşılaştırıldığında 3 farklı dozlarında ilk 12

saat uygulamalarında sonra, *R. dominica* ve *T. confusum* erginleri üzerinde ölümler meydana getirmediği gözlemlenmiştir. Ayrıca *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* bitkisi uçucu yağının *C. ferrugineus* ve *O. surinamensis* erginlerinde etkili olmadığı belirlenirken, *M. longifolia* subsp. *longifolia*'nın tüm dozlarında *O. surinamensis*'e %48.3-56.6 ve *O. surinamensis* erginlerinde ise %100 oranında etkili olduğu belirlenmiştir. *C. maculatus* erginlerinde ise her iki bitkinin uçucu yağlarının %58.3-90 arasında etkili olduğu belirlenmiştir. Uygulamalardan 24 saat sonra, *M. longifolia* subsp. *longifolia* uçucu yağı tüm erginler üzerinde %96.6-100 oranında etki gösterirken, *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* uçucu yağının *R. dominica*, *O. surinamensis* ve *T. confusum* erginleri üzerinde %0.0-6.7 gibi çok düşük oranda etki gösterdiği belirlenmiş ancak, *C. ferrugineus* ve *C. maculatus* erginleri üzerinde %75.0-91.6 oranında etkisi olduğu tespit edilmiştir. Uygulamalardan 48 saat sonra, *M. longifolia* subsp. *longifolia* uçucu yağı tüm erginler üzerinde %96.6-100 oranında etki gösterirken, *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* *R. dominica*, *O. surinamensis* ve *T. confusum* erginleri üzerinde %0.0-56.6 oranlarında etkili olurken, *C. ferrugineus* ve *C. maculatus* erginleri üzerinde %76.6-100 aralığında etki olmuştur. 72 saat uygulamalarında *M. longifolia* subsp. *longifolia* uçucu yağı tüm erginler üzerinde %100 oranında ergin ölümlerine neden olurken, *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* *R. dominica* ve *T. confusum* erginleri üzerinde %0.0-8.3 gibi düşük oranlarda etkili olmuş, *O. surinamensis* erginleri üzerinde %26.6-73.3, *C. ferrugineus* ve *C. maculatus* erginleri üzerinde ise %85.0-100 aralığında etki göstermiştir. Uygulamalardan 96 saat sonra, *M. longifolia* subsp. *longifolia* uçucu yağı tüm erginler üzerinde %100 oranında ergin ölümlerine neden olmuştur. *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ise, sadece *C. ferrugineus* ve *C. maculatus* erginleri üzerinde %100 ölümler meydana gelmiş, ancak *R. dominica* ve *T. confusum* erginleri üzerinde %8.3-11.6 gibi düşük oranlarda ölümlere neden olmuştur. *O. surinamensis* erginleri üzerinde ise %30.0-78.3 oranları arasında etkili olduğu görülmüştür. Böylelikle, doz arttıkça ölüm oranlarının da arttığı tespit edilmiştir.

Çizelge 3. *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ve *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia* bitkilerinden çıkarılan uçucu yağların belirtilen depolanmış ürün zararlılarının erginleri üzerindeki % ölüm oranları

<i>Rhizopertha dominica</i>						
Uçucu yağlar	Doz (μL Petri ⁻¹)	Ölüm (%)				
		Maruz kalma süresi (s)				
		12 s	24 s	48 s	72 s	96 s
<i>Mentha longifolia</i>	5	0.0 ± 0.0 a	96.6 ± 1.66 e	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 c
	10	0.0 ± 0.0 a	100 ± 0.0 f	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 c
	15	0.0 ± 0.0 a	100 ± 0.0 f	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 c
<i>Thymus sipyleus</i>	5	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	8.33 ± 1.66 b
	10	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	1.66 ± 1.66 ab	3.33 ± 3.33 b	8.33 ± 1.66 b
	15	0.0 ± 0.0 a	1.66 ± 1.66 a	3.33 ± 3.33b	8.33 ± 1.66 c	8.33 ± 1.66b
P. Kontrol (Malathion)	5	11.6 ± 1.66 b	51.6 ± 1.66 b	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 c
	10	51.6 ± 1.66 c	58.3 ± 1.66 c	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 c
	15	58.3 ± 1.66 d	88.3 ± 1.66 d	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 c
N.Kontrol (Saf su)	10	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>						
<i>Mentha longifolia</i>	5	48.3 ± 1.66 e	100 ± 0.0 g	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e
	10	51.6 ± 1.66 f	100 ± 0.0 g	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e
	15	56.6 ± 1.66 g	100 ± 0.0 g	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e
<i>Thymus sipyleus</i>	5	0.0 ± 0.0 a	5.00 ± 0.0 bc	13.3 ± 1.66 a	26.6 ± 1.66 b	30.0 ± 0.0 b
	10	0.0 ± 0.0 a	5.66 ± 1.66 ab	46.6 ± 1.66 c	53.3 ± 1.66 c	61.6 ± 1.66 c
	15	0.0 ± 0.0 a	6.66 ± 3.33 c	56.6 ± 1.66 d	73.3 ± 1.66 d	78.3 ± 1.66 d

Çizelge 3'ün devamı

P. Kontrol (Malathion)	5	13.3 ± 1.66 b	61.6 ± 1.66 d	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e
	10	23.3 ± 1.66 c	76.6 ± 1.66 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e
	15	38.3 ± 1.66 d	81.6 ± 1.66 f	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e
N.Kontrol (Saf su)	10	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.55 ± 0.96 a
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>						
<i>Mentha longifolia</i>	5	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
	10	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
	15	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
<i>Thymus sipyleus</i>	5	0.0 ± 0.0 a	78.3 ± 1.66 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
	10	0.0 ± 0.0 a	78.3 ± 1.66 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
	15	0.0 ± 0.0 a	91.6 ± 1.66 c	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
P. Kontrol (Malathion)	5	86.6 ± 1.66 b	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
	10	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
	15	100 ± 0.0 c	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
N.Kontrol (Saf su)	10	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	2.77 ± 1.51 a
<i>Callosobruchus maculatus</i>						
<i>Mentha longifolia</i>	5	78.3 ± 1.66 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b
	10	80.0 ± 2.88 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b
	15	90.0 ± 2.88 e	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b
<i>Thymus sipyleus</i>	5	58.3 ± 1.66 b	75.0 ± 0.0 b	76.6 ± 1.66 b	85.0 ± 0.0 b	100 ± 0.0 b
	10	61.6 ± 1.66 b	76.6 ± 1.66 b	78.3 ± 1.66 b	85.0 ± 2.88 b	100 ± 0.0 b
	15	70.0 ± 2.88 c	83.3 ± 1.66 c	85.0 ± 2.88 c	96.6 ± 1.66 c	100 ± 0.0 b
P. Kontrol (Malathion)	5	58.3 ± 1.66 b	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b
	10	61.6 ± 1.66 b	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b
	15	81.6 ± 1.66 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 d	100 ± 0.0 b
N.Kontrol (Saf su)	10	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	1.66 ± 1.44 a
<i>Tribolium confusum</i>						
<i>Mentha longifolia</i>	5	0.0 ± 0.0 a	96.6 ± 1.66 d	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 f	100 ± 0.0 f
	10	0.0 ± 0.0 a	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 f	100 ± 0.0 f
	15	0.0 ± 0.0 a	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 e	100 ± 0.0 f	100 ± 0.0 f
<i>Thymus sipyleus</i>	5	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	1.66 ± 1.66 a	3.33 ± 1.66 b	11.6 ± 1.66 b
	10	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	1.66 ± 1.66 a	3.33 ± 1.66 b	11.6 ± 1.66 b
	15	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	1.66 ± 1.66 a	5.00 ± 0.0 b	11.6 ± 1.66 b
P. Kontrol (Malathion)	5	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	11.6 ± 1.66 b	31.6 ± 1.66 c	48.3 ± 1.66 c
	10	1.66 ± 1.66 a	8.33 ± 1.66 b	18.3 ± 1.66 c	48.3 ± 1.66 d	71.6 ± 1.66 d
	15	8.33 ± 1.66 b	13.3 ± 1.66 c	21.6 ± 1.66 d	61.6 ± 1.66 e	83.3 ± 1.66 e
N.Kontrol (Saf su)	10	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	1.11 ± 1.27 a

*Her bir sütunda yer alan farklı harfleri içeren ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0.05).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların depolanmış ürün zararlıları üzerindeki insektisidal etkilerini belirlemek amacıyla birçok araştırma yürütülmüştür. Shaaya ve ark. (1991) tarafından 28 farklı bitkinin uçucu yağlarının ve bu uçucu yağların bazılarının esas bileşiklerinin *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica*, *Stophilus oryzae*, *Oryzaephilus surinamensis*'in erginlerine karşı fumigant etkilerini belirlemek amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Araştırmaları sonucunda terpinen 4-ol, 1,8-cineole ve üç loblu adaçayı, adaçayı, biberiye ile lavanta uçucu yağlarının en çok *Rhyzopertha dominica*'ya; linalool, a-terpineol ve carvacrol bileşenlerinin ve oregano kekigi, fesleğen, Suriye Mercanköşkü ile kekik uçucu yağlarının *Oryzaephilus surinamensis*'e; 1,8-cineole ve anason ve nane uçucu yağının *Tribolium castaneum*'a karşı yüksek toksisite gösterdiğini belirlenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia*'dan elde edilen uçucu yağın

Rhyzopertha dominica ve *Oryzaephilus surinamensis* erginleri üzerine yüksek oranda toksik etkisi olduğu gözlenmiştir. *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* uçucu yağına maruz bırakılan *Rhyzopertha dominica*'nın ise çok az etkilendiği gözlenmiştir. Raja ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada *Mentha spicata*, *M. arvensis*, *M. piperata*, ve *Cymbopogon nardus* uçucu yağlarının *C. maculatus*'un yumurta bırakmasını, ergin çıkışlarını ve tohumlardaki zararını önemli derecede azalttığını, önemli derecede ergin ölümlerinin meydana geldiğini ve uçucu yağların etkinliklerinin sırasıyla, *Mentha spicata* > *M. piperata* > *M. arvensis* > *C. nardus* şeklinde olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada, *M. longifolia* Hudson subsp. *longifolia* elde edilen uçucu yağ *C. maculatus*'un erginlerine uygulanmış ve yüksek oranlarda ölümler meydana getirmesiyle diğer çalışmayla benzerlik göstermektedir. El-Salam (2010), tarafından *C. maculatus* ve *Stophilus oryzae* erginlerine karşı *Melaleuca alternifolia* (çay ağacı), *Eucalyptus globulus* (okaliptüs), *Syzygium aromaticum* (karanfil), *Simmondsia chinensis*, *Cymbopogon flexuosus* (limonotu), *Thymus vulgaris* (kekik), *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın) uçucu yağlarının fumigant etkisi üzerine bir çalışma yürütmüştür. Yüzde olarak ölümlerin, konsantrasyonların ve maruz bırakılma sürelerin artışına bağlı olarak arttığını, *C. zeylanicum* ve *T. vulgaris* uçucu yağlarının 24 saat boyunca 8 ve 16 µl 50 ml⁻¹ hava dozlarına maruz bırakılan *S. oryzae* erginlerinde %90 ölüm sağladığını, *C. maculatus* erginlerinde *C. zeylanicum*, *M. alternifolia* ve *T. vulgaris* uçucu yağlarının 8, 16 ve 16 µl 50 ml⁻¹ hava dozlarında %100 ölüm sağladığını bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada *M. longifolia* Hudson subsp. *longifolia* ve *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *C. maculatus*'un erginleri üzerine yüksek oranda toksik etkisi olduğu gözlenmiştir. Kellouche ve ark. (2010), tarafından yapılan çalışmada test ettikleri uçucu yağların *C. maculatus*'un ömrünü, çoğalmasını ve ergin çıkışını etkilediğini, fumigasyon testlerinde ise 24 saat maruz bırakma süresinde *Mentha piperita* ve *Salvia officinalis* uçucu yağların sırasıyla 10 ve 15 µl l⁻¹ hava dozlarında %100'e ulaşan ergin ölümlerine neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmalarda ise *C. maculatus*'un erginlerine karşı 24 saat maruz bırakılma sürecinde *M. longifolia* Hudson subsp. *longifolia* elde edilen uçucu yağın 10 ve 15 µl l⁻¹ dozlarında %100 ölümün meydana geldiği sonucuna varılmıştır. Usanmaz Bozhüyük ve ark. (2016), tarafından *Artemisia spicigera* C. Koch *A. santonicum* L., *A. dracuncululus* L., *Satureja thymbra* L., *Origanum onites* L. ve *Thymus sipyleus* Boiss bitkilerinden alınan uçucu yağların *C. maculatus* üzerine 72 saat sonunda toksik etkisi sonucunda, *A. dracuncululus*'un 10 µl l⁻¹ dozunda %100 ölüm oranı tespit etmişler ve elde edilen bitkilerin *C. maculatus*'a alternatif olarak kullanılabileceği bildirmişlerdir.

Çizelge 4'te, *R. dominica*, *O. surinamensis*, *C. ferrugineus*, *T. confusum* ve *C. maculatus* erginleri erginleri üzerinde *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ve *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia*'dan elde edilen uçucu yağ denemelerinde 96 saat sonra LC (LC₅₀ ve LC₉₀) değerleri verilmiştir. LC değerlerine bakıldığında, LC₅₀ ve LC₉₀ değerine göre en az toksisite *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* uçucu yağı için (LC₅₀, 1.1555 µL böcek⁻¹ ve LC₉₀, 4.567) *O. surinamensis* erginleri üzerinde belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, *M. longifolia* subsp. *longifolia* uçucu yağının *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* uçucu yağına göre böcekler üzerinde ölümcül etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sivakumar ve ark. (2010), *C. maculatus* (F.) erginlerine karşı *Rosmarinus officinalis* (L.), *Cymbopogon* spp., *Eucalyptus* spp. ve *Geranium* spp. uçucu yağlarının 24 saat maruz bırakmadaki fumigant etkilerini belirlemek üzere yürüttükleri çalışmada, citronella, biberiye, kakule ve sardunya uçucu yağlarının 24 saatteki LC₅₀ değerlerini sırasıyla 11.66, 16.25, 21.35, 22.07 ve 25,11 µl l⁻¹ hava olduğunu belirlemişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada ise ölüm oranları çok yüksek seviyede ve birbirine çok yakın olduğundan eğim sıfır bulunmuş ve LC değeri bu yüzden hesaplanmamıştır.

Çizelge 4. *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ve *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia* uçucu yağlarının depolanmış ürün zararlılarına karşı 96 saat sonundaki LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri

<i>Rhizopertha dominica</i>	LC ₅₀	LC ₉₀	X ²	Slope ± SE
<i>Mentha longifolia</i>	*	*	*	*
<i>Thymus sipyleus</i>	0.00	0.00	1.309	0.00 ± 0.682
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>				
<i>Mentha longifolia</i>	*	*	*	*
<i>Thymus sipyleus</i>	1.555	4.567	0.338	2.739 ± 0.511
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>				
<i>Mentha longifolia</i>	*	*	*	*
<i>Thymus sipyleus</i>	*	*	*	*
<i>Callosobruchus maculatus</i>				
<i>Mentha longifolia</i>	*	*	*	*
<i>Thymus sipyleus</i>	*	*	*	*
<i>Tribolium confusum</i>				
<i>Mentha longifolia</i>	*	*	*	*
<i>Thymus sipyleus</i>	0.00	0.00	0.970	0.00 ± 0.619

*Ölüm oranları çok yüksek seviyede ve birbirine çok yakın olduğundan eğim sıfırdır ve LC değeri hesaplanmamıştır.

Khani ve Asghari (2012), *Mentha longifolia* L., *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.'nın toprak üstü kısmından ve *Achillea wilhelmsii* çiçeklerinden elde edilen uçucu yağların *Tribolium castaneum* ve *C. maculatus* erginlerine karşı insektisit etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan depolanmış ürün zararlıları içinde en hassas zararlının *C. maculatus* olduğunu, 24 saat maruz bırakma süresi sonundaki LC₅₀ değerlerinin *Pulicaria gnaphalodes* için 1.54 µl l⁻¹ hava, *Achillea wilhelmsii* için 2.65 µl l⁻¹ hava; *Tribolium castaneum*'a karşı *Achillea wilhelmsii* ve *Mentha longifolia* için LC₅₀ sırasıyla 10.02 ve 13.05 µl l⁻¹ hava ile hemen hemen aynı insektisidal etkiyi, *Pulicaria gnaphalodes* uçucu yağının ise en zayıf etkiyi (LC₅₀=297.9 µl l⁻¹ hava) gösterdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise *M. longifolia* Hudson subsp. *longifolia* tüm dozlarında en hassas zararlının *C. maculatus*'un erginleri olduğu belirlenmiş ve çalışmayla benzerlik göstermektedir.

SONUÇ

Doğal floramızda geniş adaptasyon sınırlarına sahip olan Lamiaceae familyasından *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ve *Mentha longifolia* Hudson subsp. *longifolia* türleri gıda sanayi, organik tarım, tıp, eczacılık, kozmetik sanayi, bitkisel boyacılık gibi ekonomik anlamda birçok alanda kullanılmaktadır. Bu çalışmada elde edilen uçucu yağların bazı depolanmış ürün zararlılarından *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, *R. dominica*, *T. confusum* ve *C. maculatus* erginlerine karşı 5, 10, 15 µL petri⁻¹'lik dozlarının fumigant etkileri belirlenmiştir. Uygulamanın ardından 12, 24, 48, 72 ve 96 farklı saat diliminde ölüm oranlarındaki farklılıklar gözlemlenmiştir. Uygulama dozu ve zaman arttıkça ergin ölüm oranlarının giderek arttığı tespit edilmiştir. *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ve *M. longifolia* Hudson subsp. *longifolia*'dan çıkarılan uçucu yağların en fazla ölümcül etkiye *C. ferrugineus* erginleri üzerinde etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* uçucu yağına maruz bırakılan *R. dominica*'nın ise çok az etkilendiği gözlemlenmiştir. Genel olarak bakıldığında bütün dozlarda ve uygulama zamanlarında *M. longifolia* Hudson subsp. *longifolia* bitkisinden çıkarılan uçucu yağın çalışmada ele alınan önemli depolanmış ürün zararlıları olan bu beş farklı türde yüksek oranlarda ölüm meydana getirdiği belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre, *T. sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* ve *M. longifolia* Hudson subsp. *longifolia* bitkilerinden elde edilen uçucu yağların depolanmış ürün zararlılarına karşı biyoinektisit olarak kullanılabilirliği anlaşılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce kabul edilen Yüksek lisans tez çalışması olup, Iğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından “2017-FBE-L01” kodlu proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Akgül A, 1993. *Baharat Bilimi ve Teknolojisi*. Ankara, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 15, s.451, Ankara-Türkiye.
- Başer KHC, Özek T, Kürkçüoğlu M, Tümen G, 1994. The essential oil of *Origanum vulgare* sub. sp. *hirtum* of Turkish origin. *Journal of Essential Oil Research*, 6(1): 31-36.
- Baytop T, 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Kitabevi, s. 302- 304, İstanbul-Türkiye.
- Benner JP, 1993. Pesticidal compound from higher plants. *Pesticide Science*, 39: 95-102.
- Boxall RA, 2001. Post-harvest losses to insecta world overview. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 48: 137-152.
- Ceylan A, 1996. Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu yağ bitkileri). İzmir, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:481, s. 225-240, İzmir-Türkiye.
- Channoo C, Tantakom S, Jiwajinda S, Isichaikul S, 2002. Fumigation toxicity of eucalyptus oil against three product beetles. *Thailand Journal Agriculture Science*, 35: 265-272.
- Elgün A, Ertugay Z, 1990. Tahıl İşletme Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 297, Ders Kitapları Serisi No: 52, s. 482, Erzurum Türkiye.
- El-Salam AME, 2010. Fumigant toxicity of seven essential oils against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) and the rice weevil, *Stophilus oryzae* (L.). *Egyptian Academy F. Journal of Biological Sciences*, 2(1): 1-6.
- Kahraman A, Celep F, Dogan M, 2009. Morphology, anatomy and palynology of *Salvia indica* L. (Labiatae). *World Applied Sciences Journal*, 6(2): 289-296.
- Kellouche A, Ait-Aider F, Ladaoui K, Moula D, Ouendi K, Hamadi N, Ouramdane A, Frerot B, Mellouk M, 2010. Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). *International Journal of Integrative Biology*, 10(2): 86-89.
- Khani A, Asghari J, 2012. Insecticide activity of essential oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achiilea wilhelmsii* against two stored product pests, the flour beetle, *Tribolium castaneum* and the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Science*, 12: 73.
- Lopez MD, Pascual-Villalobos MJ, 2010. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products*, 31(2): 284-288.
- Mansour F, Ravid U, Putievsky E, 1986. Studies of the effects of essential oils isolated from 4 species of Labiatae on the Carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Phytoparasitica*, 14(2): 137-142.

- Ndungu M, Lwande W, Hassanali A, Moreka I, Chabra SC, 1995. Cleome monophylla essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and Maize Weevil (*Sitophilus zeamais*) Repellents. Entomologia Experimentalis Et Applicata, 76: 217-222.
- Raja N, Albert S, Ignacimuthu S, Dorn S, 2001. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. Journal of Stored Products Research, 37: 127-132.
- Rajendran S, Sriranjini V, 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research, 44(2): 126-135.
- Shaaya E, Ravid U, Paster N, Juven B, Zisman U, Pissarev V, 1991. Fumigant toxicity of essential oils against four major stored- product insects. Journal of Chemical Ecology, 17(3): 499-504.
- Sivakumar C, Chandrasekaran S, Vijayaraghavan C, Selvaraj S, 2010. Fumigant toxicity of essential oils against pulse beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Biopesticides, 3(1 Special Issue): 317-319.
- Tanker M, Tanker N, 1990. *Farmakognozi*. Ankara, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Cilt 2, No:65, s. 422 Ankara-Türkiye.
- Thorne RF, (1992). Classification and geography of the flowering plants. The Botanical Review, 58: 225-348.
- Usanmaz Bozhüyük AU, Kordali Ş, Kesdek M, Altınok MA, Varcin M, Bozhüyük MR, 2016. Insecticidal effects of essential oils obtained from six plants against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), a pest of cowpea (*Vigna unguiculata*) (L.). Fresenius Environmental Bulletin, 25(7/2016): 2620-2627.

Atf İçin: Yörük E, Keleş EN, Erlik S, Yıldız S, Özsoy E, Kocabaş G, 2021. Physiological and Genetic Variation of *Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L. Lines Planted in Turkey. İğdır Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2498-2505.

To Cite: Yörük E, Keleş EN, Erlik S, Yıldız S, Özsoy E, Kocabaş G, 2021. Physiological and Genetic Variation of *Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L. Lines Planted in Turkey. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2498-2505, 2021.

Physiological and Genetic Variation of *Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L. Lines Planted in Turkey

Emre YÖRÜK, Esra Nur KELEŞ, Semih ERLİK, Seçil YILDIZ, Esmâ ÖZSOY, Gizem KOCABAŞ

ABSTRACT: *Hordeum vulgare* L. (barley) and *Triticum aestivum* L. (wheat) are among the most valuable crops cultivated and planted in many regions including Turkey. These plants have wide range of adaptation ability and capacity; they represent high level of variation in terms of physiological, genetics and epigenetics parameters and characteristics. Physiological and genetic variations were investigated by relative water content (RWC) assays, measuring electroconductivity (EC) levels and amplification of microsatellite markers in 21 barley and 43 wheat lines. At least three drought sensitive and three drought resistant lines were detected in barley and wheat lines via RWC assays. RWC values were recorded between 0.05 ± 0.013 and $0.55 \pm 0.003\%$. Similarly great variation was detected for EC values of both barley and also wheat lines. Minimum and maximum EC values were ranged from $4.00 \pm 0.06 \mu\text{S cm}^{-1}$ to $59.88 \pm 3.209 \mu\text{S cm}^{-1}$. Three microsatellite markers, Bmag0120, Bmag0306 and Bmag375, were targeted in barley genome. Similarly, Han18, Wmc506 and Wmc623 microsatellite markers were targeted in wheat genome. Among these markers only Bmag0120 and Han18 were amplified from each line's genome by PCR and qPCR assays. In PCR and qPCR analysis homozygous and heterozygous lines were detected for Bmag0120 while each line was homozygous for Han18. Idiomorphic band size as 300 bp was detected in Han18 while it was ranged from 224 to 279 bp for Bmac0120 marker. Results showed that homozygous lines were drought resistant ones in barley lines whereas no correlation was found for wheat lines investigated in this study.

Keywords: Drought, *Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum* L., PCR

¹Emre YÖRÜK ([Orcid ID: 0000-0003-2770-0157](https://orcid.org/0000-0003-2770-0157)), Esra Nur KELEŞ ([Orcid ID: 0000-0002-6665-4723](https://orcid.org/0000-0002-6665-4723)), Semih ERLİK ([Orcid ID: 0000-0002-0329-7415](https://orcid.org/0000-0002-0329-7415)), Seçil YILDIZ ([Orcid ID: 0000-0002-7950-7589](https://orcid.org/0000-0002-7950-7589)), Esmâ ÖZSOY ([Orcid ID: 0000-0002-3727-8466](https://orcid.org/0000-0002-3727-8466)), Gizem KOCABAŞ ([Orcid ID: 0000-0001-9489-898X](https://orcid.org/0000-0001-9489-898X)), İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Emre YÖRÜK, e-mail: emre.yoruk@yeniuyuzuil.edu.tr

INTRODUCTION

Barley is an annual plant and has great adaptability for plenty of stress factors. By this way, it has a wide geographical area to grow and be distributed in the world and in Turkey (Baik and Ullrich, 2008; Kaya and Ayranci, 2016). It is among the most produced cereals in Turkey following wheat. According to the FAO data, production quantity for the year 2019 was approximately 7.600.000 tonnes. It is generally preferred as feed for animal nutrition and also used in malt beer production (Blake et al., 2011; Nevo et al., 2012)

Wheat, although it offers more food sources compared to other small grain cereals, it is in the first place as a carbohydrate source in countries with a temperate climate (Shewry, 2009). Wheat has a wide range of adaptability for different environmental conditions, but it is a grain that does not need much heat/temperature and moisture and can be grown in cool climate conditions. In the early stages of its development, it is sufficient for the temperature to be 8-10 °C and the relative humidity is about to be above 60% (Nevo et al., 2012; Atar, 2017).

Grains such as barley and wheat are important plants in terms of nutrition as well as having economic values. Barley and wheat constitute carbohydrate sources for consuming organisms directly or indirectly (Öztürk, 1999). Drought stress has adverse effects on physiological development and yield status of all small grain cereals including wheat and barley (Sallam et al., 2019). Decreased grain number, reduced plant height and weight are some examples of effects of drought on wheat and barley. If this stress is experienced after flowering, the weight gain in the grain is negatively affected and limited (Bartels and Sunkar, 2005) In cereal production, it is necessary to produce by choosing seeds of the lines that can adapt ecologically. Barley and wheat are more resistant to factors such as drought than other small grain cereals. Moreover, it is extremely important to select barley and wheat varieties that are resistant to drought and other stress factors in order to avoid yield losses. Within the scope of this work, physiological and genotypic differences of barley and wheat lines were investigated. The relationship between the lines and their drought stress response, ion leakage measurements and genetic characteristics were determined.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material

21 *H. vulgare* L. and 43 wheat *T. aestivum* L. lines were used in this study. The lines were obtained from the culture collections of İstanbul Yeni Yüzyıl University Phytopathology Laboratory.

Ion Leakage Tests

Seeds of barley and wheat lines were surface sterilized in triplicate and each replicate contained 7 seeds per set. After the seeds were treated with 0.64% NaOCl for 20 minutes, the NaOCl was removed. The seeds were washed with ddH₂O three times and were then treated with absolute ethanol for 10 seconds after the water was removed. The seeds were dried with sterile filter paper and seeds were replaced between two filter papers on sterile petri dishes. The samples were soaked with 3 mL of ddH₂O and germinated at dark for seven days at room temperature. First electroconductivity value, EC₁, were recorded after the seeds were washed 3 times with ddH₂O after kept in the dark for 16 hours. The samples were autoclaved for 20 minutes and then EC₂ values were recorded. Ion leakage values were calculated according to the following formula: $EC (\mu S cm^{-1}) = E1/E2 \times 100$. EC values were recorded using a conductivitymeter (Hanna, U.S.A.- Gürel et al., 2016).

Relative Water Content (RWC) Assays

Relative water content of leaves were recorded. 7 seeds per petris dish were germinated via placing them between sterile filter papers. At the end of the 7th day, plantlets were transferred to pots of 6 cm diameter including soil. Control set was well watered for ten days while the experiment set was not watered. 17-day-old plants were taken from soil and the FW was recorded. The leaves were put onto ddH₂O for 24 hours at +4°C at dark and TW was measured. Finally, leaves were incubated at 80°C for 24 hours and DW was recorded. RWC value was calculated according to the formula following: $RWC (\%) = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$ (Teulat et al. 1997).

Genomic DNA (gDNA) Isolation

SDS (sodium dodecyl sulfate)-based genomic DNA (gDNA) isolation was performed from 7-day-old shoots grown from barley and wheat. 50 mg of fresh leaves were taken from plantlets and homogenized via liquid nitrogen and sterile mortar/pestle. The protocol provided by Niu et al. (2008) were followed in gDNA extraction with slight modifications. The amount and quality of gDNA was determined by spectrophotometer according to the absorbance values at 260 nm and 280 nm wavelengths. Calculated gDNA samples were diluted for PCR to contain 10 ng μL^{-1} of DNA. Qualitative analysis of gDNAs were carried out with 1% agarose gel run at 70V for 1 hour. gDNAs were photographed under UV light using a transilluminator.

Microsatellite Genotyping Assays

gDNAs of each barley and wheat lines were used in microsatellite genotyping assays. Bmag0120, Bmag0306 and Bmag375 microsatellite markers were targeted in the barley genome (Table 1). Similarly, Han18, Wmc506 and Wmc623 markers were subjected to PCR assays for wheat. PCR (polymerase chain reaction) components, 5 pmol forward primer, 5pmol reverse primer, 50 ng gDNA and 1X PCR master mix (Takara, Japan) and ddH₂O, were combined in microtubes with a volume of 25 μL . Tubes were transferred to the thermal cycler. PCR conditions were performed at 95°C for 3 minutes, followed by a 35-rep cycle consisting of 30 seconds at 94°C, 30 seconds at 55°C, 30 seconds at 72°C, plus 3 minutes at 72°C was also performed as the final extension. Analysis of the microsatellite bands was performed with 2% agarose gel electrophoresis and UV transilluminator. PCR band sizes were measured by using GelAnalyzer ® software in comparison to 100 bp DNA size marker (Genmark Bio, Turkey).

Table 1. PCR Primers used in this study

Primer Set	Forward sequence (5'-3')	Reverse sequence (5'-3')	Band size in bp	Reference
Bmag375F/R	ttcagcaatggcactag	cttcaaggaaggctaggg	640	Oliver et al. 2010
Bmac0306F/R	acttctcaacatgccaga	ttcaatgtggaaggcgtc	405-430	Oliver et al. 2010
Bmag0120F/R	atttcatccaaaggagac	gtcacatagacagttgtcttc	226-260	Abderrazek 2020
Wmc623F/R	acataccgaagccttga	gtgctcggcaggattgtc	400-410	Oliver et al. 2010
Wmc506F/R	acttctcaacatgccaga	gtcgcctccacattgaaa	387	Oliver et al. 2010
Han18F/R	atcacatgttcgtacaacgc	tggacccttagttgtgagt	300	Han et al. 2015

Real-Time PCR (qPCR) Assays

Validation of homozygous and heterozygous individuals was carried out by qPCR assays. 1X Eva Green mixture, 5 pmol forward primer, 5 pmol reverse primer and 25 ng gDNA were combined in microtubes in 20 μL reaction volume and transferred to qPCR thermal cycler. Real-time PCR conditions; were as follows; the first denaturation phase at 95 °C for 5 minutes followed by 20 seconds at 95 °C, 30 seconds at 55 °C, and 30 seconds at 72 °C with 45 repetitions were carried out. A common temperature

scanning step was carried out for melting curve analysis. Ct values and signal pics for individuals were recorded.

RESULTS AND DISCUSSION

Ion Leakage Analysis

EC values for each line were recorded using a portable conductivitymeter. EC values were ranged from 10.87 ± 2.04 to 45.58 ± 22.44 for barley lines (Figure 1.A). Minimum and maximum EC values were changed between $4.00 \pm 0.06 \mu\text{S cm}^{-1}$ to $59.88 \pm 3.209 \mu\text{S cm}^{-1}$ for wheat lines (Figure 1.B). Significant differences were detected ($p < 0.05$) between relatively contrasting lines such as *H. vulgare* L. cv. Oliver and *H. vulgare* L. Lord and *T. aestivum* L. cv. Basribey and *T. aestivum* L. cv. Güneyyıldız.

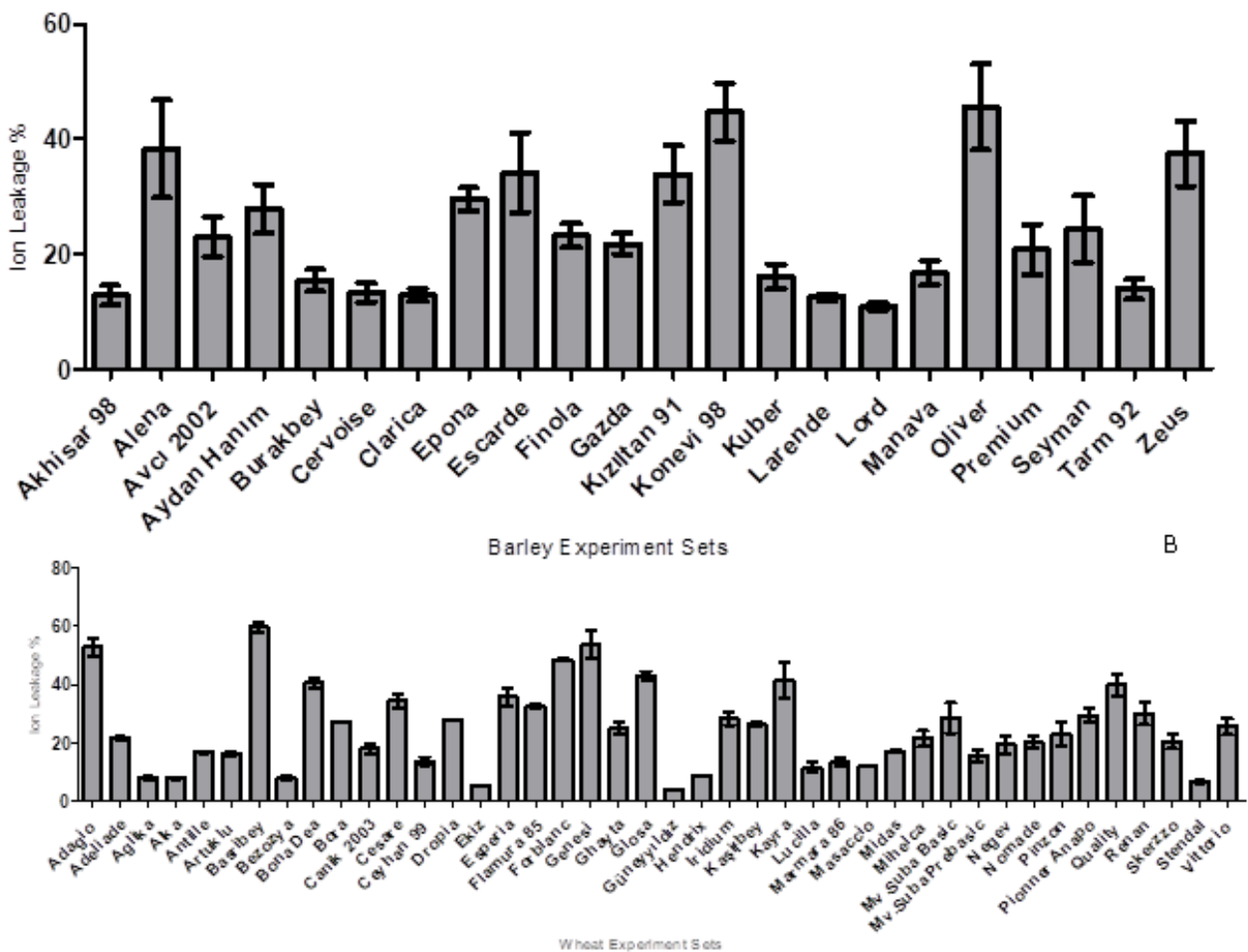


Figure 1. EC values for barley (A) and wheat (B) lines used in this study

Relative Water Content Analysis

RWC values were calculated for each barley and wheat lines in control and experiment sets. Minimum and maximum RWC values were ranged from 0.05 ± 0.013 to 0.55 ± 0.03 for EC barley lines (Figure 2.A). RWC values for wheat lines were detected between 0.07 ± 0.01 to 0.48 ± 0.1 (Figure 2.B). Significant differences were detected ($p < 0.05$) between contrasting lines. Relatively drought resistant barley and wheat lines were as *H. vulgare* L. cv. Burakbey and *T. aestivum* L. cv. Midas, respectively. Contrasting lines were *H. vulgare* L. cv. Finola for barley and *T. aestivum* L. cv. Negev for wheat.

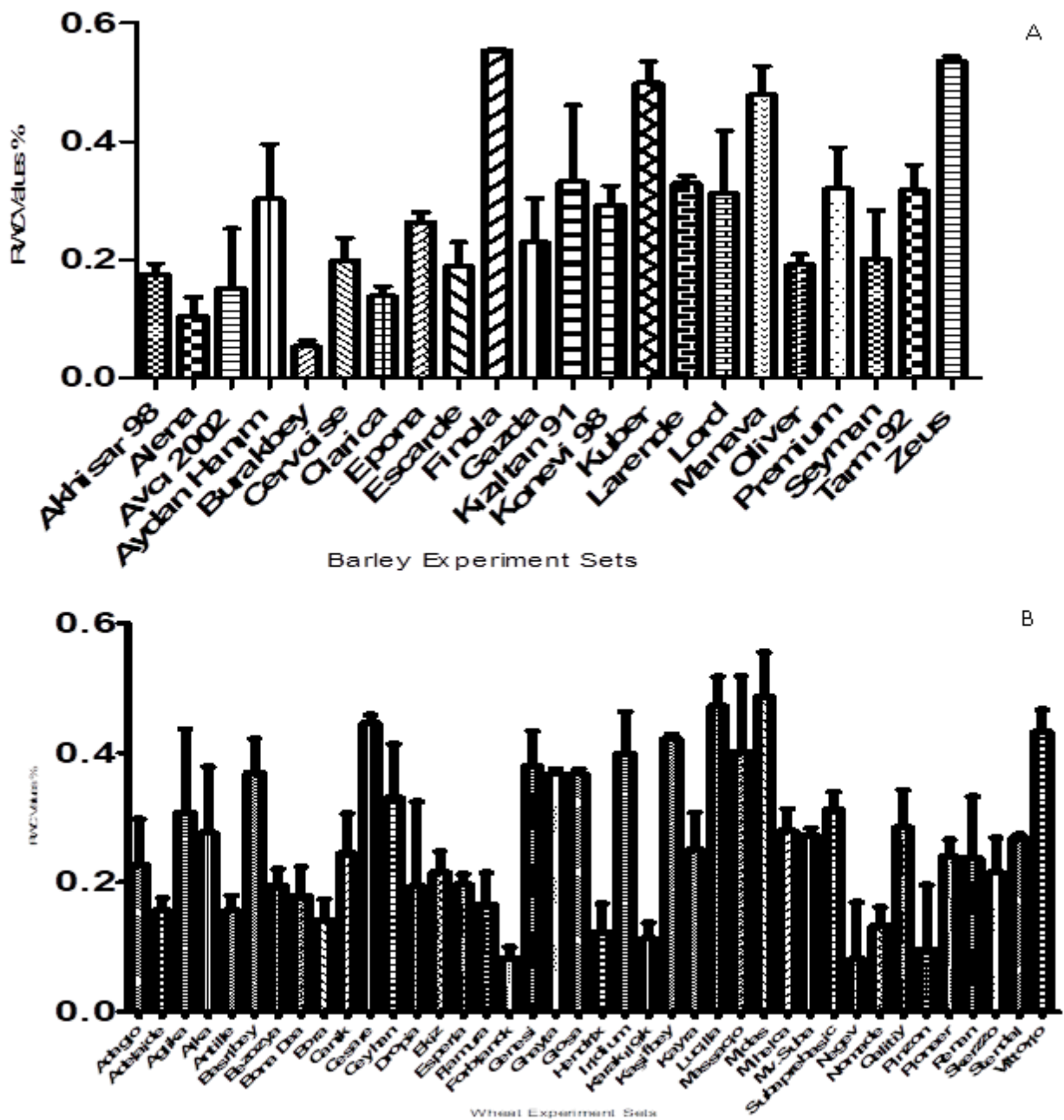


Figure 2. RWC graphic for barley (A) and wheat (B) lines used in this study

Microsatellite PCR Genotyping Analysis

In microsatellite PCR assays, only Bmag0120 and Han18 markers were amplified. In Bmag0120 amplification assays, each line yielded a single amplicon except *H. vulgare* L. cv. Alena. *H. vulgare* L. cv. Akhisar yielded two bands with different sizes of 236 bp and 259 bp (Figure 3). The amplicon sizes were ranged from 224 bp (*H. vulgare* L. cv. Akhisar) to 279 bp (*H. vulgare* L. cv. Kuber). In Han18, idiomorphic banding profile was obtained. Each wheat line produced a band with the size of 300 bp.

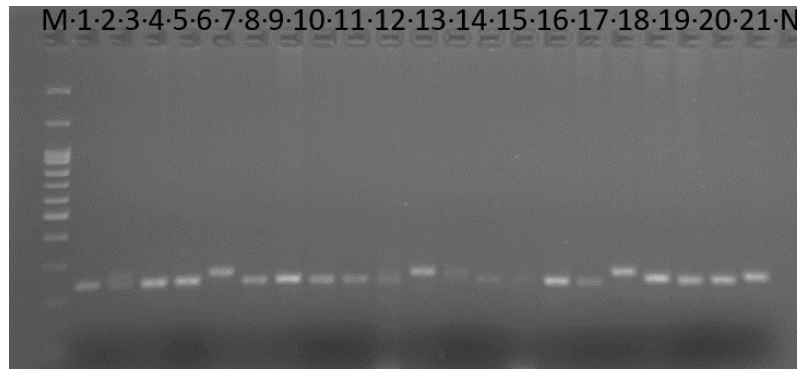


Figure 3. Bmag0120 microsatellite PCR profiling of 21 barley lines. M: 100 bp ladder, 1- Akhisar 98, 2- Alena, 3- Avcı 2002, 4- Aydan Hanım, 5- Burakbey, 6- Cerveise, 7- Clarica, 8- Epona, 9- Escarde, 10- Kızıltan 91, 11- Kuber, 12-Larende, 13-Lord,14- Manava,15- Oliver, 16- Premium,17- Seyman,18- Tarm 92, 19- Finola, 20- Zeus, 21- Konevi 98, N: no template control

qPCR Analysis

The heterozygous and homozygous lines for Bmag0120 were confirmed via qPCR analysis. E value for Bmag0120 marker was in the range of 1.8-2.2 meaning that qPCR was conducted efficiently. Among the lines, totally 9 lines (*H. vulgare* L. Akhisar, Alena, Avcı 2002, Aydan Hanım, Burakbey, Epona, Larende) were detected as heterozygous while remaining were as homozygous for Bmag0120 marker (Figure 4).

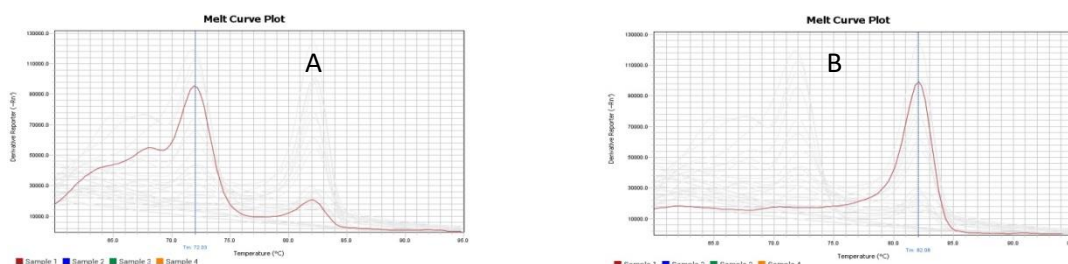


Figure 4. *H. vulgare* L. cv. Burakbey (A) as heterozygous and *H. vulgare* L. cv. Cerveise (B) as homozygous lines resulted from qPCR analysis

The cereals include world's most important domesticated plant species such as barley and wheat. Barley and wheat have a great significance in economies of many countries including Turkey. Several investigations have been conducted on drought and salinity response of barley and wheat cultivars planted in Turkey (Gürel et al., 2016; Yörük et al., 2018; Tufan et al., 2020). However, limited number of barley and wheat lines were investigated in terms of physiological and genetic differences of lines planted/cultivated in Turkey. In this study, we showed that there was great variation in EC capacity of barley and wheat lines. Similarly, in comparison to previous studies relatively drought resistant lines, which could be used in further studies, were detected (Suprunova et al., 2004; Yörük et al., 2018).

Microsatellite markers are of 2-6 nucleotide repeat motifs distributed and dispersed along the genomes. They, especially locating on coding regions of genes, could represent important physiological characteristics of cereals (Ivandić et al., 2002, 2003). In this study, Bmag0120 marker was found to be polymorphic in barley lines cultivated in Turkey. Since this study revealed the significant level of difference on EC and RWC values, this marker was evaluated in terms of association between drought responses of barley lines. According to the results it was clear that drought resistance lines were homozygous in terms of Bmag0120. In other words, Bmag0120 microsatellite region could be a specific marker to distinguish and identify the barley lines as their drought resistance and sensitivity characteristics.

Thus, it could be suggested that this marker could be used in further in planta studies including water deficiency investigations.

CONCLUSION

In this study, it was shown that barley and wheat lines cultivated in Turkey possess variation in response to water deficiency. To our knowledge, this is first report showing variations in EC and RWC values of barley and wheat lines of Turkey. Moreover, it was revealed that Bmag0120 marker could be linked to drought stress response capacity of barley lines. Further studies could include more abiotic stress factors and microsatellite markers in order to get comprehensive data related to abiotic stress response of wheat and barley. Thus, these detailed data related to barley and wheat lines' genotypic and phenotypic diversities could facilitate the selection of lines which will be used in studies including transcriptomics, proteomics and/or metabolomics investigations.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors are grateful to Dr. Ayşe Feyza Tufan Dülger for providing plant materials.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Atar B, 2017. Gıdamız Buğdayın, Geçmişten Geleceğe Yolculuğu. Yalvaç Akademi Dergisi, 2(1):1-12.
- Baik, BK, Ullrich, SE, 2008. Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. Journal of Cereal Science, 48(2), 233-242.
- Blake T, Blake V, Bowman J, Abdel-Haleem H, 2011. Barley: Production, Improvement and Uses. Wiley-Blackwell, pp. 522–531.
- Gürel F, Öztürk NZ, Yörük E, Uçarlı C, Poyraz N, 2016. Comparison of expression patterns of selected drought-responsive genes in barley (*Hordeum vulgare* L.) under shock-dehydration and slow drought treatments. Plant Growth Regulation, 80(2):183-193.
- Han B, Wang C, Tang Z, Ren Y, Li Y, Zhang D, Dong Y, Zhao X, 2015. Genome-wide analysis of microsatellite markers based on sequenced database in Chinese spring wheat (*Triticum aestivum* L.). PLoS One, 10(11): e0141540.
- Ivancic V, Hackett CA, Nevo E, Keith R, Thomas WT, Forster BP, 2002. Analysis of simple sequence repeats (SSRs) in wild barley from the Fertile Crescent: associations with ecology, geography and flowering time. Plant Molecular Biology, 48(5): 511-527.
- Ivancic V, Thomas WTB, Nevo E, Zhang Z, Forster BP, 2003. Associations of simple sequence repeats with quantitative trait variation including biotic and abiotic stress tolerance in *Hordeum spontaneum*. Plant Breeding, 122(4): 300-304.
- Jilal A, Grando S, Henry RJ, Lee LS, Rice N, Hill H, Baum M, Ceccarelli S, 2008. Genetic diversity of ICARDA's worldwide barley landrace collection. Genetic Resources and Crop Evolution, 55(8): 1221–1230.
- Kaya, Y, Ayranci, R, 2016. Breeding barley for quality in Turkey. Genetika, 48(1): 173-186.
- Nevo E, Fu YB, Pavlicek T, Khalifa S, Tavasi M, Beiles A, 2012. Evolution of wild cereals during 28 years of global warming in Israel. Proceedings of the National Academy of Sciences, 109(9): 3412–3415.
- Niu C, Kebede H, Auld DL, Woodward JE, Burow G, Wright RJ, 2008. A safe inexpensive method to isolate high quality plant and fungal DNA in an open laboratory environment. African Journal of Biotechnology, 7(16):2818–2822.

- Oliver RE, Obert DE, Hu G, Bonman JM, O'Leary-Jepsen E, Jackson EW, 2010. Development of oat-based markers from barley and wheat microsatellites. *Genome*, 53(6): 458-471.
- Öztürk A, 1999. Kuraklığın kışlık buğdayın gelişmesi ve verimine etkisi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(1): 531-540.
- Sallam A, Alqudah AM, Dawood MF, Baenziger PS, Börner A, 2019. Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13): 3137.
- Shewry, PR, 2009. Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60(6): 1537-1553.
- Suprunova T, Krugman T, Fahima T, Chen G, Shams I, Korol A, Nevo E, 2004. Differential expression of dehydrin genes in wild barley, *Hordeum spontaneum*, associated with resistance to water deficit. *Plant, Cell & Environment*, 27(10): 1297-1308.
- Teulat B, Monneveux P, Wery J, Borries J, Souyris I, Charrier A, This D, 1997. Relationships between relative water content and growth parameters under water stress in barley: a QTL study. *New Phytologist*, 137:99–107
- Tufan F, 2020. Determining WRKY transcription factors related to salinity stress response in wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.). *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 35(1): 1-7.
- Yörük E, Keleş EN, Sefer Ö, Eraslan M, 2018. Salinity and drought stress on barley and wheat cultivars planted in Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 39(6): 943-950.

To Cite: Turfan N, 2021. Variation of Minerals Content and Some Bioactive Compound in Some Wild and Cultivated Edible Plants Grown Naturally in Kastamonu Region. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2506-2517.

Variation of Minerals Content and Some Bioactive Compound in Some Wild and Cultivated Edible Plants Grown Naturally in Kastamonu Region

Nezahat TURFAN^{1*}

ABSTRACT: This study was conducted to evaluate the nutritional and some bioactive compounds like pigment, total phenolic, amino acid, and ascorbic acid of nine species as *Capsella-bursa pastoris* L., *Chenopodium album* L., *Echinophora tenuifolia* L., *Malva sylvestris* L., *Trachystemon orientalis* L., *Tragopon reticulatus* L., and three woody species as *Asparagus acutifolius* L., *Smilax excelsa* L., and *Vitis vinifera* L., which are widely consumed in Kastamonu region. All species were taken from the local market in the second week of May 2019. According to the result, K was the most abundant macro-nutrient ranged from 20 470 to 65 410 mg kg⁻¹, followed by Ca, Mg, and P. The amount of Na, Cl, Mn, Fe, Zn, Cu, Ni, and Co of samples Mn was in the range 100.4-3 280, 759.5-13 930, 77.6-4 298, 8.2-25.3, 9.40-25.4, 307-1 590 and 3.9-11.21 mg kg⁻¹, respectively. In terms of chemical constituents, *T. orientalis*, *V. vinifera*, *M. sylvestris*, and *T. reticulatus* are the richest species with the high level of total chlorophyll, β -carotene, lycopene, phenolics, free amino acid, glycine betaine, ascorbic acid, but *S. excelsa* and *C. album* are two poorest species. As a result, *T. orientalis*, *M. sylvestris*, *V. vinifera*, and *T. reticulatus* were the richest species in terms of total phenolics, amino acid, chlorophyll, β -carotene, ascorbic acid, but *S. excelsa* and *C. album* were the two poorest species. Considering all data, it can be said that these species were found significantly beneficial in terms of mineral sources have the potential to provide essential nutrients and antioxidant compounds to the consumers.

Keywords: Chemicals, minerals, edible plants, Kastamonu.

¹Nezahat TURFAN ([Orcid ID: 0000-0002-5753-390](https://orcid.org/0000-0002-5753-390)), Kastamonu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kastamonu, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Nezahat TURFAN, e-mail: nturfan@kastamonu.edu.tr

INTRODUCTION

In recent years, there has been a growing interest in the native wild edible plants, which have been consumed for nutritional purposes as well as in medical treatments for many years, but have been forgotten and neglected in the following years due to the development of industrial agriculture (Kaoma and Shackleton, 2015; Jones, 2017). They grow spontaneously in their natural habitat and do not contain any toxic compounds, and many authors have revealed that these sources have severe bioactive compounds as flavons, phenolics, vitamins, pigment, nitrogenous compounds, tannins, certain hormone precursors in addition to protein and energy sources, among others (Kibar and Temel, 2016; Kibar and Kibar, 2017; Ahmed et al., 2020). Wild edible plants as herbal and woody are plants that are neither cultivated nor domesticated but are available from their natural habitat (Kordalı et al. 2021). However, some of them can be cultivated. They are widely consumed in various forms as raw, dried, or pickled for cooking, salads, teas, flavours in soups, cheese, yoghurt, ice cream production, jam, and marmalade (Atalay and Kamalak, 2019). Those plants hold on a significant role in maintaining nutritional balance in diet, especially eliminating obesity problems, preventing cancer, cardiovascular and neurodegenerative diseases (Freeland-Graves et al., 2016; Canlı et al., 2017). Severe people's interest in the wild and cultivated plant has risen over time because it higher nutritional values, growing naturally, generally available in markets in all seasons, having a low fatty compound with a rich mineral and nutrients that can be consumed in daily diet safely and also being a source of income for the local people in the rural area (Inyang, 2016, Jones, 2017). Besides, these species, which are grown naturally in almost every region, do not have more production costs like other cultivated crops. Nowadays, drought and famine, which are a result of global warming, deprive the opportunities of living in rural areas and inadequate income direct to cheaper but more easily available, safe, and nutritious food sources (Jones, 2017). Studies have shown that such plants are of particular importance to the poorer population with very low income under drought regions (Kaoma and Shackleton, 2015). In terms of wild edible and cultivated species-rich in bioactive constituents and nutrients, the Black Sea Region has significant potential, which is also an important source of income for the local population (Özer and Kibar, 2018). Although there are many studies on nutritional values, antioxidant and antibacterial capacities, mineral levels, and economic importance of wild and cultivated edible species in many regions of Turkey (Özer and Aksoy, 2019; Demir et al., 2020), studies on the nutritional value and mineral content of edible plants of the Kastamonu region are very insufficient. Therefore, it is important to reveal the nutritional status of these plants to emphasize the importance and regain the value they deserve as well as conventional food resources. Besides, further promoting these natural resources y demonstrating their nutritional values and benefits to human health can contribute to the increase of income of low-income families in the Black Sea Regions, especially in Kastamonu. In these scopes, this study was carried out to evaluate the amount of antioxidant compounds and mineral status of *Capsella-bursa pastoris* L., *Chenopodium albüm* L., *Echinophora tenuifolia* L., *Malva sylvestris* L., *Trachystemon orientalis* L., *Tragopon reticulatus* L.), and three woody species (*Asparagus acutifolius* L., *Smilax excelsa* L., and *Vitis vinifera* L. genotypes, which are widely consumed in daily diet as well as medical treatments. This investigating is the first study carried out in the Kastamonu province.

MATERIALS AND METHODS

Plant Samples

The nine plant materials; *Vitis vinifera*, *Malva sylvestris*, *Trachystemon orientalis* L., *Asparagus acutifolius* L., *Smilax excelsa* L., *Chenopodium album* L., *Echinophora tenuifolia* L., *Tragopon*

reticulatus and *Capsella bursa-pastoris* L., were obtained from the local market of Kastamonu in the second week of May in 2019 and identified in the laboratory (Table 2).

Table 1. The plants used for the chemical analysis.

Scientific name	Abbreviated names	Family	Turkish name	Locality	Analyzed part	Growing form
<i>Vitis vinifera</i> L.	<i>V. vinif.</i>	Vitaceae	Asma	İnebolu	Leaf	Cultivated
<i>Malva sylvestris</i> L.	<i>M. sylv.</i>	Malvaceae	Ebe Gümeçi	Daday	Leaf and petiole	Wild
<i>Trachystemon orientalis</i> L.	<i>T. orient.</i>	Boraginaceae	Kaldırık	İnebolu	Leaf	Wild
<i>Asparagus acutifolius</i> L.	<i>A. acut.</i>	Asparagaceae	Klemşe, Glemşe, Kuşkonmaz	Taşköprü	Young leaf/stem	Wild
<i>Smilax excelsa</i> L.	<i>S. excelsa</i>	Liliaceae	Sılcan	İnebolu	Young leaf/stem	Wild
<i>Chenopodium album</i> L.	<i>C. album.</i>	Chenopodiaceae	Sirken	Center of Kastamonu	Leaf	Wild
<i>Echinophora tenuifolia</i> L.	<i>E. tenuifolia</i>	Apiaceae	Tarhana Otu, Çörtük	Center of Kastamonu	Leaf /stem	Cultivated/Wild
<i>Tragopon reticulatus</i> L.	<i>T. reticulatus</i>	Asteraceae	Yemlik	Center of Kastamonu	Leaf	Wild
<i>Capsella bursa-pastoris</i> L.	<i>C. bursa-past.</i>	Brassicaceae	Çoban Çantası	Daday	Leaf	Wild

The samples were cleaned with deionized water and spread on the blotting paper at room temperature. Then, all samples were placed in an oven at 70 °C for 24 h and were powdered in a laboratory mill. After that, they were put into polyethylene bags and kept in the fridge at 4°C until analysis. All chemical analyses were carried out in triplicate.

Experimental procedure

To determine the chlorophyll content, 0.5 g of a fresh leaf was powdered in liquid nitrogen and extracted by adding 10 ml of 80% acetone in an ice bath (Lichtenthaler, 1987). The mixture was centrifuged for 10 minutes at 3,500 rpm, and triplicate spectrophotometric (Shimadzu UV-260) readings of the supernatants noted were obtained at values of 652 and 450. β -carotene and lycopene contents were measured by using the method of Nagata and Yamashita (1992). 100 mg dry samples were homogenized with 10 ml acetone-hexane (4:6) at once. After filtration, the absorbance of homogenate was recorded at 453, 505, 645, and 663 nm. The amounts of β -carotene and lycopene were estimated by the equations:

$$\beta\text{-Carotene (mg/ml)} = 0.216 \times A_{663} - 1.22 \times A_{645} - 0.304 \times A_{505} + 0.452 \times A_{453} \quad (1)$$

$$\text{Lycopene (mg/ml)} = -0.0458 \times A_{663} + 0.204 \times A_{645} + 0.372 \times A_{505} - 0.0806 \times A_{453} \quad (2)$$

The measurement of total phenolic content was carried out according to the Folin Ciocalteu method Ciocalteu colourimetric method (Singleton et al., 1965), using a UV-Vis spectrophotometer. The amount of total phenolic compounds was given as mg of gallic acid equivalents (mg GAE/ g DW). The amount of total free amino acid of species was carried out by the method of Moore and Stein (1948) using the ninhydrin method. For glycine betaine estimation, the method of Grieve and Grattan (1983) was used. 500 mg dry samples were put into a 20 ml test tube containing 5 ml of a toluene-water mixture (0.05% toluene) and mechanically shaken at 25°C for 24 h. All samples were filtrated and 0.5 ml of it was mixed with 1 ml of 2 N HCl. Then 0.1 ml of potassium tri-iodide solution (containing 7.5 g Iodine and 10 g potassium iodide in 100 ml of 1 N HCl) was added and the test tubes were shaken in an ice-cold water bath for 90 min. 10 mL of 1,2 dichloroethane (chilled at -10°C) was added and 2 ml of ice-cooled water was transferred into the tube. After waiting for 2-3 minutes to form two separated layers, upper aqueous phases were discarded and the optical density of the organic layers was used for determining the absorbance values at 365 nm. The amount of glycine betaine (GB) of samples was determined by using the standard curve plotted by using different concentrations of GB. The amount of Vitamin C was determined by the method of Klein and Perry (1982). 2000 mg samples were homogenated with 20 ml distilled water in the volumetric flask. After that, all samples were kept for 10 minutes in a shaker and the samples were mixed thoroughly. Then, these mixtures were titrated with a 2,6 dichloro phenol indophenol solution. Ascorbic acid of samples was estimated with ascorbic acid standards (0.1 mg/100 ml), and the ascorbic acid level expressed in mg vitamin C /100g of the dry weight

of samples. The leaf samples of nine edible species were also analyzed for macro (Ca, Mg, P, K, and S) and micro (Na, Mn, Fe, Si, Al, and Zn) nutrient concentrations using SPECTRO brand XEPOS model XRF instrument at Central Research Laboratory at Kastamonu University. An analysis of variance (ANOVA) was applied for analyzing the differences in the chemical composition of the samples using the SPSS program ver. 11.0 for Windows. Following the results of ANOVAs, Tukey's honest significance difference (HSD) test ($\alpha = 0.05$) was used for testing differences between group means.

RESULTS AND DISCUSSION

Variation Of Bioactive Compounds In The Nine Examined Species

Various amounts of different chlorophylls, carotenoids, β -carotene, lycopene, and total phenolic have been reported previously in wild edible and cultivated species (Şener et al., 2017, Kibar, 2018; Kordali et al., 2021). They have the potential to scavenge toxic molecules as ROS, MDA, ketones, and nitrite derivatives with antioxidant properties, which occur normally in metabolism, but their concentrations reach toxic levels that result in cell damage under disease or stress conditions (Rajalakshmi and Banu, 2015; Sarker and Oba, 2020). The amount of β -carotene ranged from 21.1-410.76 mg 100g⁻¹, with the maximum content found in *T. orientalis* (410.76 mg 100g⁻¹), followed by *T. reticulatus* (370.83 mg 100g⁻¹) and *E. tenuifolia* (317.49 mg 100g⁻¹). The amount of lycopene of nine genotypes varied between 16.17 to 150.22 mg 100g⁻¹ (*C. bursa-pastoris*-*M. sylvestris*). The values measured in the nine edible species (chlorophyll, carotenoid, β -carotene, lycopene, and total phenolic) are in agreement with the literature. For example, Ahmed et al. (2020) studied with thirteen medicine plants to determine the biochemical and bioactive potential. Results revealed that the amount of total chlorophyll ranged from 161.30 to 800.11 $\mu\text{g g}^{-1}$, a total carotenoid from 8.64 to 38.63 $\mu\text{g g}^{-1}$, lycopene from 1.33 to 9.26 $\mu\text{g g}^{-1}$, and phenolic ranged from 43975 to 63025 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectively, similarly this study results. Znidarcic et al. (2011) showed that the concentration of total chlorophyll varied between 200.44-359.62 mg 100g⁻¹, total carotenoid between 3.94-8.24 mg 100g⁻¹, β -carotene between 3.94-7.96 mg 100g⁻¹, respectively, in five leafy vegetables. In terms of total carotenoid and β -carotene content, our results were higher than those five species but lower than chlorophyll levels. Sarker and Oba (2019) examined the amount of pigments and phytochemicals in the leaves of six weedy *Amaranthus* varieties.

According to results, total chlorophyll ranged from 413.61 to 445.22 $\mu\text{g/g}$, carotenoid from 68.52 to 92.87 mg 100g⁻¹, β -carotene from 64.22 46.76 mg100g⁻¹, total phenolic 24.98 to 46.72 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectively, which the investigated constituents were in agreement with the values obtained from the nine studied species, except the amount of total carotenoid. Vivek et al. (2013) reported that total chlorophyll levels in leaf samples of some edible species were ranging between 0.394 mg/g to 1.850 mg/g, and also the total chlorophyll content of woody species, *Barringtonia acutangula* was 1.235 mg g⁻¹. Demir et al. (2020) showed that the amount of carotenoids were in the range of 7.75 mg 100g⁻¹ (*S. excelsa*), 13.14 mg 100g⁻¹ (*T. orientalis*) and 19.02 mg 100g⁻¹ (*C. bursa-pastoris*), but β -carotene levels varied between 102.1 $\mu\text{g 100g}^{-1}$ (*C. bursa-pastoris*), 153.17 $\mu\text{g g}^{-1}$ (*S. excelsa*) and 200.69, similar to the results of this study.

Ascorbic acid, known as vitamin C, is a water-soluble vitamin, which is very important for human health with its high antioxidant capacity which has an important role in maintaining a healthy life, but it cannot be produced by human metabolism and they have to be taken from food sources by the diet (Booker et al., 2013; Shukla et al., 2014). As seen in Table 2, the richest level was found in *T. orientalis* (97.34 mg) followed by *T. reticulatus* (97.04 mg), but the poorest level in *C. album* (25.78 mg) and *M.*

Variation of Minerals Content and Some Bioactive Compound in Some Wild and Cultivated Edible Plants Grown Naturally in Kastamonu Region

sylvestris (32.54 mg), respectively. It was also detected in *S. excelsa* (74.39 mg), *A. acutifolius* (73.18 mg), and *V. vinifera* (66.00 mg).

Table 2. The amount of total phenolic, chlorophyll, carotenoid, β -carotene, lycopene total free amino acid, glycine, and ascorbic acid in the nine species.

Species	*Total Chlorophyll mg 100g ⁻¹	Total Carotenoid mg 100g ⁻¹	β -carotene mg 100g ⁻¹	Lycopene mg 100g ⁻¹	Total phenolic mg g ⁻¹	Ascorbic acid mg g ⁻¹	Free amino acid mg g ⁻¹	Glycine betaine mg g ⁻¹
<i>V. vinif.</i>	90.57±0.0014f	121.74±0.006a	278.45±0.009d	104.47±0.003d	20.85±0.16g	66.00±0.008e	134.74±0.140	52.60±0.015d
<i>M. sylv.</i>	92.11g±0.0110g	358.87±0.009b	288.42±0.005e	150.22±0.001f	3.65±0.17a	32.54±0.007b	113.52±0.00e8	60.38±0.023f
<i>T. orient.</i>	93.78±0.0009h	364.34.00±0.013b	410.76±0.012h	125.39±0.003e	4.74±0.13b	97.34±0.004g	101.30±0.00d6	49.97±0.005c
<i>A. acut.</i>	51.79±0.0012b	1002.72±0.017c	21.11±0.001a	40.95±0.001b	7.35±0.16c	73.18±0.005f	128.68±0.004	56.34±0.049e
<i>S. excelsa</i>	63.95±0.0006c	1130.95±0.018d	166.83±0.001c	84.23±0.001c	17.44±0.28f	74.39±0.002f	93.98±0.010c	47.79±0.006c
<i>C. album.</i>	86.55±0.0036f	920.67±0.021c	161.40±0.003b	80.60±0.002c	14.83±0.06e	25.78±0.003a	62.43±0.018a	27.58±0.015a
<i>E. tenuifolia</i>	81.78±0.0004d	356.65±0.011b	317.49±0.003f	106.58±0.002d	4.81±0.13b	37.12±0.003c	113.69±0.01e0	52.86±0.007d
<i>T. reticulatus</i>	82.68±0.0006e	1326.52±0.009e	370.83±0.039g	121.96±0.012e	13.35±0.18e	97.04±0.003g	95.71±0.010c	43.72±0.041b
<i>C. bursa-past.</i>	28.61±0.0006a	918.07±0.011c	284.19±0.006e	16.17±0.001a	11.79±0.09d	52.99±0.001d	87.72±0.019	51.68±0.005d
F	3186.011	96710.817	7271.382	6240.586	1474.247	2725.911	2164.584	1549.762
Sig.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

* Means indicated with different letters within the same column are significantly different (P < 0.05).

These results are similar to some previous studies. The mean vitamin C concentrations recorded are similar to the works of Narzary et al. (2015) reported for twelve wild edible plants (11.39 to 79.06 mg/100g). In another study, Guzelsoy et al. (2017) reported that some wild edible plants collected from three different biogeographic of Turkey are rich in vitamin C, ranging from 2.0 to 129.4 mg 100g⁻¹. Prasad and Chandra (2018) also reported similar values of ascorbic acid in some wild edible medicinal herbs as *P. hirta* (108.40 mg 100g⁻¹), *E. thymifolia* (88.48 mg 100g⁻¹), and *P. indica* (77.49 mg 100g⁻¹). According to the results, the daily vitamin C requirement of an adult person can be provided by consuming both the *T. orientalis* and *T. reticulatus*. It has been proven by clinical investigations that the current RDA for ascorbic acid is recommended to be 100-120 mg day⁻¹, and also the daily vitamin C requirement of men is 90 mg, While that of women is 75 mg (Camarena and Wang, 2016). As seen in the literature, the results of pigment, phenolic, and ascorbic acid did not agree with some studies due to the heterogeneity of recorded values. For example, Andarwulana et al. (2012) found that the amount of total phenolic acids 0.04 to 2.53 mg 100g⁻¹, β -carotene from 0.01 to 2.25 mg 100g⁻¹, a total carotenoid from 0.36 to 13.96 mg 100g⁻¹, and ascorbic acid from 12.03 to 494.43 mg 100g⁻¹, respectively, in the medicinal species as *Anacardium occidentale*, *Sauropus androgynous*, and *Moringa pterygosperma*. The recorded values of the total carotenoid (34.00-1326 mg 100g⁻¹) and ascorbic acid (25.78-97.34 mg 100g⁻¹) contents are similar to our study, but the phenolic acids (3.65-20.85 mg 100g⁻¹) and β -carotene (21-410 mg 100g⁻¹) concentrations are generally lower. Yadav et al. (2013) showed that the amount of ascorbic acid was the highest with amaranth and Chenopod cultivars by 59.0-69.4 mg 100g⁻¹, with spinach by 51-60.6 mg 100g⁻¹, and the content of carotenoids was the maximum with amaranth (59.00-69.4 mg 100g⁻¹). In addition, total polyphenols ranged from 234-750.47 mg 100g⁻¹, 225.73 to 397.00 mg 100g⁻¹ in spinach, 941.57 to 1133.73 mg 100g⁻¹, 202.47 mg 100g⁻¹ g in lettuce, respectively. According to their values, the total carotenoids are much lower than the values of this study, but the amount of total polyphenol is lower. However, total polyphenol content is consistent with our data. Zdravković et al. (2014) investigated the amount of some bioactive chemicals in lettuce. According to results they recorded, the β -carotene ranged from 1.97 to 4.35 mg 100g⁻¹, lycopene from 1.32 to 2.22 mg 100g⁻¹, ascorbic acid from 7.3 to 10.9 mg 100g⁻¹, which are much lower than the results we achieved, however, the amount of total phenolic (70.56 to 78.98 mg 100g⁻¹) is much higher than the value recorded for the studied in this study. In another study, it has been indicated that the amount of chlorophyll, carotenoid,

carotene are lower than that of *Allium porrum*, *Amaranthus spinosis*, *Apium graveolens*, *Caralluma edulis*, *Chenopodium album*, *Urtica dioica* (Shad et al., 2016), of the weedy *Amaranthus* genotypes (Sarker and Oba, 2019).

Nitrogenous compounds are considered as markers of protein levels in plants because they are the building blocks of proteins, which are important nitrogenous sources for human nutrition and health (Molla et al., 2014; Demir et al., 2020). Also, they have many functions including skeletal muscle, atrophic conditions, sarcopenia, and cancer (Dioguardi, 2011; Kim et al., 2014). In the studied samples, the highest free amino acid level was recorded for *V. vinifera* (134.74 mg 100g⁻¹), followed by *A. acutifolius*, *E. tenuifolia* and *M. sylvestris* (128.68 mg 100g⁻¹, 113.69 mg 100g⁻¹, and 113.52 mg 100g⁻¹, respectively). Glycinebetaine levels ranged between 27.58 mg 100g⁻¹ (*C. album*) and 60.38 mg 100g⁻¹ (*M. sylvestris*) (Table 2). Total free amino acid levels of samples coincided with that obtained by Kim et al. (2014), Inyang (2016), who also determined that green leafy vegetables and many herbal leaves contained high-level free amino acids such as glycine, arginine, glutamate, aspartate, leucine, proline and others. Similarly, in a study carried out by Moran-Palacio et al. (2014), some medicinal species used in traditional medicine were found to be very rich in amino acids. Prasad and Chandra (2018) showed that the total essential amino acid levels were ranging between 35.58 mg 100g⁻¹ and 145.82 mg 100g⁻¹, and the amount of total amino acid content of *Pavetta indica* was 58.80 mg 100g⁻¹, *E. thymifolia* 123.92 mg g⁻¹, and *P. hirta* 225.73 mg 100g⁻¹.

Elemental status of the tested plant samples

The mineral status of 9 samples of edible species used as a flavour enhancer in salads, soups, yoghurt, and cheese, as well as cooked in the Kastamonu Region were measured and the values noted are shown in Table 3. Thirteen elements as major and trace were determined in all samples. Elements are inorganic materials that are necessary for maintaining normal lifestyles. They provide significant contributions in reducing the effects of health problems such as obesity, diabetes, and high blood pressure (Carvalho et al., 2016; FAO, 2016). The major-minerals are required in amounts greater than 100 mg dl⁻¹ and the trace-minerals are required in amounts less than 100 mg/dl (Miller and Welch, 2013; Okut, 2019). In this study, the values recorded for K, Ca, Mg, P, S, Na and Cl were 20470-65410 mg kg⁻¹, 2681 to 32630 mg kg⁻¹, 1004 to 10200 mg kg⁻¹, 2262 to 10410 mg kg⁻¹, 3339 to 9727 mg kg⁻¹, 100.4 to 11110 mg kg⁻¹ and 759.5 to 13930 mg kg⁻¹, respectively (Table 3). K, Ca, Mg, P, and S levels of species in this study were determined higher than those of other nutrients. The highest content of (mg kg⁻¹) K (65410) and Mg (759.5) was recorded in *C. album*, highest P and S in *A. acutifolius* (10410-9727), highest Ca in *C. bursa-pastoris* (32630), highest Na in *T. reticulatus* (3280) the lowest Ca and Mg (2681-1004) in *A. acutifolius*, the lowest Na and Cl in *C. album* (100.4-13930), respectively (Table 3).

Table 3. The amount of essential elements of nine species (mg kg⁻¹).

Species	Major					Trace	
	K	Ca	Mg	P	S	Na	Cl
<i>V. vinif.</i>	20470±30	18220±20	3105±32	4724±6	4787±5	100.8±0.00	759.5±1.2
<i>M. sylv.</i>	43070±40	30810±30	4693±39	5909±7	7007±6	100.9±0.00	2253±2
<i>T. orient.</i>	29720±30	32630±30	5000±39	5286±6	4833±5	100.5±0.00	5035±4
<i>A. acut.</i>	53260±50	16870±20	10200±50	4020±6	4088±4	381.6±16.0	6884±5
<i>S. excelsa</i>	44010±40	2681±12	1004±28	10410±10	9727±8	100.5±0.00	9648±7
<i>C. album.</i>	41210±40	5543±15	1201±21	6894±7	4447±4	100.6±0.00	970.5±1.3
<i>E. tenuifolia</i>	65410±50	16990±30	11780±50	3782±5	3944±4	100.4±0.00	3401±3
<i>T. reticulatus</i>	51620±40	18970±30	3569±42	4717±6	8645±7	11110.0±320	10940±10
<i>C. bursa-past.</i>	22520±30	27880±30	9838±57	2262±5	3339±4	3280.0±290	13930±10

On the other hand, the lowest values of (mg kg^{-1}) K and Cl was found in *V. vinifera* (20470-759.5), lowest Ca and Mg in *A. acutifolius* (2861-1004), lowest Na in *C.album* (100.4), and lowest P and S in *T.reticulatus*, respectively (Table 3). Major K, Ca, Mg, P, S, and trace elements as Na and Cl are presented in the human body, which is necessary for many metabolic functions (Roe et al., 2013; Celep et al., 2017; Topdas and Sengul, 2021). For example, Ca is present in the structures of bones, teeth, and muscles, K, Na, and Mg have an important role in the regulation of blood pressures (FAO, 2010; Stone et al., 2016). The results for the macroelement are supported by the studies of Guzelsoy et al. (2017), Özer and Aksoy (2019), Kibar (2020), who demonstrated that the elements with the highest level in plants are K, Ca, Mg, Na, P, and S in terms of essential nutrients. Similarly, Volpe et al. (2015) revealed that K was the most abundant element ranging between 26350 and 60235 (*S. asper* samples). And also, they found that Ca level ranged from 3417 mg kg^{-1} to 8589 mg kg^{-1} and Mg from 1550 to 7701 mg kg^{-1} in the studied species, respectively. Kibar and Kibar (2017) investigated to reveal some nutritional status of *Malva neglecta*, *Polygonum cognatum*, and *Trachystemon orientalis*, used as food in the Middle Black Sea Region of Turkey. Results showed that K content varied between 12.19 and $1867.47 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, P between 56.89 - $195.86 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, Ca between 282.96 - $688.32 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, and Mg between 112.54 - $165.7 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, respectively. Özer and Aksoy (2019) showed that K concentration ranged from 3883.8 to $5791.4 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$; P from 339.7 to $540.9 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$; Ca from 159.4 to $432.4 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$; Mg from 108 to $76.4 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, respectively in some edible herbal species, which lower than those of this study results. Satter et al. (2015) revealed that the amount of Ca ranged from 279.16 to $909.13 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, K from 858.39 to $20055.26 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, and Mg from 57.18 to $35.21 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, respectively, in some wild vegetables used in Bangladesh, similar to this study. Olujobi (2015) measured lower amounts of K (445.89 - $1159.93 \text{ mg kg}^{-1}$), Ca (70.23 - $480.27 \text{ mg kg}^{-1}$), and Mg (15.69 - 20.73 mg kg^{-1}) in the leaf samples of five native trees consumed as food. Values for macronutrients of this study are within the limits of values given in the literature (Table 3). According to literature, major and trace mineral requirements vary with age, sex, physiological conditions as well as characteristics of the living area, however, the recommended daily dose for some major elements are found in the human cell more than 0.01%, include K, Na, P, S, Mg, Ca and Cl has been as 4700, 1500, 700, 1000, 310-420, 1000-1200, 2300 mg (Smolin and Grosvenor, 2010; Freeland-Graves et al., 2016).

On the other hand, Fe, Co, Cr, Cu, I, Mn, Zn, Mo, Se, and Ni concentrations of human body cells are needed in only small levels as less than 0.01% (Celep et al., 2017). All of them are mandatory minerals since they exhibited a wide range of biological functions such as being components of enzymatic and redox systems, connective tissue, and nerve activation, maintaining immune system activities (Miller and Welch, 2013; Freeland-Graves et al. 2016). In terms of trace elements, Fe concentration varied from 77.6 to 4298 mg kg^{-1} , Mn from 34.9 to 243.1 mg kg^{-1} , Zn from 26.3 to 87.6 mg kg^{-1} , Ni from 8.2 to 25.3 mg kg^{-1} , Se from 0.06 to 0.4 mg kg^{-1} and Co from 3.9 to 11.2 mg kg^{-1} , respectively (Table 4). The element with the highest level among the examined species was Fe, which varies between 77.6 to 4298 mg kg^{-1} and the lowest ion was Se ranging between 0.06 to 0.49 mg kg^{-1} (Table 4). According to data, *S. excelsa* was rich in Cu and Se (25.4 - 0.49 mg kg^{-1}), *V. vinifera* rich in Mn (243 mg kg^{-1}), *A. acutifolius* rich in Zn (87.6 mg kg^{-1}), *T. reticulatus* rich in Fe and Co (4298 - 11.2 mg kg^{-1}) (Table 4). Tunçtürk et al. (2014) found a similar result that the macronutrient contents of *Malva sylvestris* *Falcaria vulgaris* and *Chenopodium botrys* were $580.53 \text{ mg kg}^{-1}$ for Fe, 79.54 mg kg^{-1} for Mn, 43.14 mg kg^{-1} for Zn. However, Zn was observed to be ranging between 1.02 (*T. occidentalis*) and $3.69 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ (*Psychotria* sp), but Mn from $0.56 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ to $1.430 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, both of them are lower than our results. Similar to this study, trace minerals as Na, Fe, Zn, Mn, Ni, Cu, and Co concentrations were

Variation of Minerals Content and Some Bioactive Compound in Some Wild and Cultivated Edible Plants Grown Naturally in Kastamonu Region

higher than those of other micronutrients in some edible plants, ranging from 201 to 15896, 3676 to 13290, 18.0 to 52.0, 21.2 to 86.5, 1.32 to 6.30 ($\mu\text{g g}^{-1}$), respectively (Targan et al. 2018). Moreover, the Se level of all samples was found to be low (0.08-0.25 $\mu\text{g g}^{-1}$), like the values we recorded (0.06-0.49 mg kg^{-1}). Also, Şimşek et al. (2017) analyzed four edible wild species to assess macro, trace, and toxic elements.

Table 4. The amount of micronutrients in the nine species (mg kg^{-1}).

Species	Fe	Mn	Zn	Ni	Cu	Se	Co
<i>V. vinif.</i>	261.5±1.5	243.1±0.9	39.5±0.30	10.6±0.3	20.8±0.24	0.46±0	8.3±1.4
<i>M. sylv.</i>	259.2±1.4	54.0±0.5	30.2±0.29	8.2±0.3	9.4±0.13	0.06±0	8.4±1.2
<i>T. orient.</i>	2629.0±5	125.9±0.7	44.3±0.30	25.3±0.4	13.0±0.13	0.47±0	10.1±1.5
<i>A. acut.</i>	220.7±1.3	77.3±0.5	27.6±0.25	8.4±0.3	20.4±0.23	0.20±0.1	7.7±1.2
<i>S. excelsa</i>	113.7±0.9	34.9±0.3	87.6±0.40	12.5±0.3	22.4±0.23	0.46±0	4.2±0.9
<i>C. album.</i>	77.6±0.7	54.4±0.4	72.3±0.40	10.6±0.3	25.4±0.24	0.49±0	9.4±1.4
<i>E. tenuifolia</i>	78.2±0.7	111.0±0.6	26.3±0.28	8.7±0.3	10.9±0.11	0.47±0	3.9±0.8
<i>T. reticulatus</i>	189.7±1.2	71.3±0.5	31.9±0.30	8.7±0.3	12.8±0.13	0.48±0	5.6±1.0
<i>C. bursa-past.</i>	4298.0±6	230.0±0.9	28.7±0.24	23.9±0.4	11.3±0.11	0.30±0.1	11.2±1.5

Their results indicated that the amounts of (mg kg^{-1}) Fe (160.5), Mn (18.21), Zn (12.47), Cu (9.98), Ni (6.11), Co (0.50), and Se (0.076) were higher than in other consumed species. As seen in the literature, Se content is lower generally lower than other micronutrients. Similarly, Płaczek and Patorczyk-Pytlik, (2020) reported that some species with low Se accumulation capacity contained less than 25 mg g^{-1} Se, named non-accumulators. It has been reported that the Se level is generally lower in vegetables (Oklo et al., 2017). Pehlivan et al. (2013) reported that *C. bursa pastoris* had the following minerals; Fe 44.36 mg kg^{-1} , Mn 4.5 mg kg^{-1} , Zn 5.48 mg kg^{-1} , Co 0.15 mg kg^{-1} , Cu 0.7 mg kg^{-1} , and Na 2.90 mg kg^{-1} in the consumable sections, very lower than our results. According to WHO, trace element deficiencies are a more common problem, and more than 2 billion human population in the world today suffer from micronutrient deficiencies primarily I, Fe, and Zn (Theodore and Tulchinsky, 2010). The recorded recommended levels for Fe, Zn, Ni, Cu, Cr in daily nutrition was 1-3 g, 10-15 mg, 150 μg and 13-60 mg, 13-61 mg, respectively, which are influenced by food taken (Abbaspour et al., 2014; Chen et al., 2018). These differences of measured bioactive compounds of nine studied plants may be due to genotype, the different ability to produce the secondary metabolites as well location differences (Janu et al., 2014; Kibar and Kibar, 2017). As seen in the literature, the most abundant element was K following Ca, Mg, P as macro-nutrients, but Na, Fe, and Zn are the most abundant elements in edible leafy species in terms of micronutrients. The highest macro-nutrient was also determined as K in our study. Depending on the mineral values of the nine species studied, *V. vinifera* was rich in Mn; *C. bursa-pastoris* in Ca; *A. acutifolius* in P, S, and Zn; *S. excelsa* in Cu; *C. album* in K and Mg; *E. tenuifolia* in Na and *T. reticulatus* in Cl, Si, and Fe (Table 3, Table 4). In this study, it was thought that genetic factors, growing variations, geographical differences, and analytical errors during the experiment may be effective in the differences observed in the studied species.

CONCLUSION

The present study exhibited that all the nine examined species have adequate levels of some bioactive compounds and minerals necessary for medicinal activity and benefits, and they are within the permissible range in terms of pigments, nitrogenous compounds, phenolic, and nutrient elements in this study. Based on bioactive compounds, *T. orientalis*, *V.s vinifera*, *M. sylvestris*, and *T. reticulatus* are the richest species with the high level of total chlorophyll, β -carotene, lycopene, phenolics, free amino acid,

glycine betaine, ascorbic acid, but *S. excelsa* and *C. album* are two poorest species. Considering the element profile of the genotypes, it has been observed that the mineral values are quite heterogeneous. However, the highest K and Mg were recorded in *E. tenuifolia*, P, S, and Zn in *S. excelsa*, Fe in *Capsella bursa-pastoris*, Mn in *V. vinifera*, and Ca in *T. orientalis*, respectively. When all data are considered, it can be said that these species are rich in some bioactive compounds and *minerals* higher and can be consumed in the diet for combating mineral deficiencies and strengthening body health.

Conflict of Interest

As an author, I declare that there is no conflict of interest in the planning, execution and writing of the article.

Author's Contributions

As the author, the planning, execution and writing of the articles was carried out by me.

REFERENCES

- Abbaspour N, Hurrell R, Kelishadi R, 2014. Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences*, 19(2):164-174.
- Ahmed A, Hameed A, Saeed S, 2020. Biochemical profile and bioactive potential of thirteen wild folk medicinal plants from Balochistan, Pakistan. *PLoS ONE*, 15(8): e0231612.
- Andarwulana N, Kurniasihb D Apriady RAb, Rahmat H, Anna V. Roto AV, Bollin BW, 2012. Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4:339-347.
- Atalay Aİ, Kamalak A, 2019. Effect of maturity stages on chemical composition, nutritive value and methane production of *Chenopodium album* Hay. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*. 6(3):489-492.
- Booker FL, Burkey KO, Jones AM, 2012. Re-evaluating the role of ascorbic acid and phenolic glycosides in ozone scavenging in the leaf apoplast of *Arabidopsis thaliana* L. *Plant Cell Environment*, 35 (8): 1456-1466.
- Camarena V, Wang G, 2016. The epigenetic role of vitamin C in health and disease. *Biology, Medicine Cellular, and Molecular Life Sciences*, 73 (8):1645-1658.
- Canlı K, Şimşek Ö, Yetgin A, Akata I, Altuner EM, 2017. Determination of the chemical composition and antimicrobial activity of *Frankenia hirsuta*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(4):463-469.
- Carvalho AM, Barata AM, 2016. The consumption of wild edible plants. In: Ferreira, I.C.F.R., Morales, P., Barros, L. (Eds.), *Wild Plants, Mushrooms and Nuts: Functional Food Properties and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp.159-198.
- Celeb GS, Kaynar P, Rastmanesh R, 2017. Biochemical functions of micronutrients. *Advances in Obesity, Weight Management, Control*, 6(2):43-45.
- Chen Y, Michalak M, Agellona LB, 2018. Importance of nutrients and nutrient metabolism on human health. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 91:95-103.
- Demir E, Turfan N, Özer H, Üstün NŞ, Pekşen A, 2020. Nutrient and bioactive substance contents of edible plants grown naturally in Salıpazarı (Samsun) *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 19(1): 151-160.
- Dioguardi FS, 2011. Clinical use of amino acids as a dietary supplement: pros and cons. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2(2):75-80.
- FAO, 2016. Minimum dietary diversity for women: a guide for measurement. Rome.
- FAO/WHO, 1990. Protein quality evaluation report of the joint FAO/WHO expert consultation on protein quality evaluation. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome, Italy, held in Bethesda, MD, December 4-8, 1989.
- Freeland-Graves JH, Mousa TY, Kim S, 2016. International variability in diet and requirements of manganese: causes and consequences. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38:24-32.

- Grieve CM, Grattan SR, 1983. Rapid assay for the determination of water-soluble quaternary ammonium compounds. *Plant Soil*, 70: 303-307.
- Guzelsoy NA, Ucurum Ö, Tokat E, Tan A, Tugrul S, Özbek K, 2017. Nutritional properties of some wild edible plant species in Turkey. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27(2):39-45.
- Inyang E, 2014. Nutrient content of four lesser-known green leafy vegetables consumed by efik and ibibio people in Nigeria. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*, 24(1): 1-5.
- Janu C, Sobankumar DR, Reshma MV, Jayamurthy P, Sundaresan A, Nisha P, 2014. Comparative study on the total phenolic content and radical scavenging activity of common edible vegetable oils. *Journal of Food Biochemistry*, 38 (1):38-49.
- Jones AD, 2017. A critical review of the emerging research evidence on agricultural biodiversity, diet diversity, and nutritional status in low- and middle-income countries. *Nutrition Reviews*, 75(10):769-782.
- Kaoma H, Shackleton CM, 2015. The direct-use value of urban tree non-timber forest products to household income in poorer suburbs in South African towns,” *Forest Policy and Economics*, 61(): 104-112.
- Kibar B, 2018. Determination of the interrelationships among plant properties, some quality properties, and elements in lettuce. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 4(2):149-160.
- Kibar B, 2020. Effects of microbial fertilizer application on germination and seedling growth in lettuce and white head cabbage. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 6(3):389-398.
- Kibar B, Kibar H. 2017. Determination of the nutritional and seed properties of some wild edible plants consumed as a vegetable in the Middle Black Sea Region of Turkey. *South African Journal of Botany*, 108:117-125.
- Kibar B, Temel S, 2016. Evaluation of Mineral composition of some wild edible plants growing in the eastern Anatolia region grasslands of Turkey and consumed as a vegetable. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40 (1): 56-66.
- Kim YB, Uddin MR, Lee MK, Kim HH, Chung E, Lee JH, Park SU, 2014. Accumulation of free amino acids in different organs of green and red mustard cultivars. *Asian Journal of Chemistry*, 26 (29):396-398.
- Klein BP, Perry AK, 1982. Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *Journal of Food Science*, 47 (941): 945, 948.
- Kordalı Ş, Bozhüyük AU, Beyzı E, Güneş A, Turan M, 2021. Antioxidant enzyme, phenolic substance and plant nutrient contents of *Malva sylvestris* L. and *Alcea rosea* L. species used as medicinal plants. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(1): 786-794.
- Lichtenthaler HK, 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148:350-382.
- Miller DD, Welch RM. 2013. Food system strategies for preventing micronutrient malnutrition. *Food Policy*. 42:115-28.
- Molla MR, Ali MR, Hasanuzzaman M, Al-Mamun MH, Ahmed A, Nazim-Ud-Dowla MAN, Rohman MM, 2014. Exogenous proline and betaine-induced upregulation of glutathione transferase and glyoxalase I in lentil (*Lens culinaris*) under drought stress. *Notulae Botanica Horti Agrobotanic Cluj-Napoca*, 42(421):73-80.
- Moore S, Stein WH, 1948. Photometric method for use in the chromatography of amino acids. *Journal of Biological Chemistry*, 176 (1): 367-388.
- Moran-Palacio EF, Tortoledo-Ortiz O, Yañez-Farias GA, Zamora-Álvarez LA, Stephens-Camacho NA, Soñanez-Organis JG, Ochoa-López LM, Rosas-Rodríguez JA, 2014. determination of amino acids in medicinal plants from Southern Sonora, Mexico. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* April, 13 (4): 601-606.
- Nagata M, Yamashita I, 1992. A simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish*, 39: 925-928.
- Narzary H, Swargiary A, Basumatary S, 2015. Proximate and vitamin C analysis of wild edible plants consumed by Bodos of Assam, India. *Journal of Molecular Pathophysiology*, 4(4).
- Oklo AD, Ato RS, Eneji IE, Igyor MA, 2017. Levels of selenium in vegetables, medicinal plants and soils from selected sites within the lower benue river basin development authority catchment, Nigeria. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 11(5): 211-30.

- Okut N, 2019. Heavy Metal Contents in Selected Medicinal Plants of Van-Turkey. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(1): 533-544.
- Olujobi OJ, 2015. Evaluation of the nutritive composition of five indigenous tree leaves used as vegetable in Ekiti State. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 4(1):185-197.
- Özer MÖ, Aksoy M, 2019. Mineral composition and nutritional properties of *Trachystemon orientalis* (L.) G. don populations in the central Black Sea Region of Turkey. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 18(4):157-167.
- Özer MÖ, Kibar B, 2018. Morphological characterization of kaldirayak (*Trachystemon orientalis* (L.) G. Don) Genotypes Collected from central Black Sea Region. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 4(2):178-186.
- Plączek A, Patorczyk-Pytlik B, 2020. Changes in the content of selenium in aerial parts of maize varieties, depending on the growing period and soil texture. *Journal of Elementology*, 25(2): 787-800.
- Prasad K, Chandra D, 2018. Amino Acid and antioxidant composition of some wild edible medicinal plants of Uttarakhand Himalayas. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 10(2):40-48.
- Rajalakshmi K, Banu N, 2015. Extraction and estimation of chlorophyll from medicinal plants. *International Journal of Science and Research*, 4 (11): 209-212.
- Roe M, Church S, Pinchen H, Finglas P, 2013. Nutrient analysis of fruit and vegetables. Analytical Report. Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich.
- Sarker U, Oba S, 2019. Nutraceuticals, antioxidant pigments, and phytochemicals in the leaves of *A. spinous* and *A. viridis* weedy species. *Scientific Reports*, 9(81): 20413.
- Sarker U, Oba S, 2020. Nutritional and bioactive constituents and scavenging capacity of radicals in *Amaranthus hypochondriacus*. *Scientific Reports*, 10 (1).
- Satter AMM, Khan MMRL, Jabin SA, 2015. Nutritional quality and safety aspects of wild vegetables consume in Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(2): 125-131.
- Shad AA, Bakht J, Shah HU, Hayat Y, 2016. Antioxidant activity and nutritional assessment of under-utilized medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29 (6):2039-2045.
- Shukla RK, Painuly D, Porval A, Shukla A, 2014. Proximate analysis, nutritional value, phytochemical evaluation, and biological activity of *Litchi chinensis* Sonn. leaves. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 20:196-208.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM, 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299:152-178.
- Smolin LA, Grosvenor MB, 2010. *Nutrition science and applications* 2nd ed. USA: John Wiley and Sons Wiley.
- Stone MS, Martyn L, Weaver CM, 2016. Potassium intake, bioavailability, hypertension, and glucose control. *Nutrients*, 8(7):444.
- Şener İ, Gür M, Verep D, Güney K, Altuner EM, 2017. Antimicrobial activities and some flavonoids in extracts of some medicinal plants. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3s):234-238.
- Şimşek A, Şimşek A, Demirkol M, Turan E. 2017. Macro, trace and toxic elements of 4 different edible wild plants from Karadeniz Region. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(3):225-237.
- Targan Ş, Yelboğa E, Cittan M, 2018. Macro and trace element contents of some wild plants consumed as vegetable in Manisa district, Turkey. *Journal of The Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 5(2):751-62.
- Theodore H, Tulchinsky. 2010. Micronutrient deficiency conditions: global health issues. *Public Health Reviews*, 32(1):243-255.
- Topdas EF, Sengul M, 2021. Mineral Composition of Various Extracts and Essential Oil of Pickled *Ferula orientalis* L. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(2): 1194-1204.
- Tunçtürk ME, Sekeroğlu N, Ozgokçe F, 2015. Chemical composition of some edible wild plants grown in Eastern Anatolia *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 2(3): 31-34.

- Vivek P, Prabhakaran S, Shankar SR, 2013. Assessment of nutritional value in selected edible greens based on the chlorophyll content in leaves. *Research in Plant Biology*, 3(5): 45-49.
- Volpe MG, Nazzaro M, DiStasi M, Siani F, Coppola R, De Marco A, 2015. Content of micronutrients, mineral and trace elements in some Mediterranean spontaneous edible herbs. *Chemistry Central Journal*, 9:57.
- Yadav RK, Kalia P, Kumar R, Jain V. 2013. Antioxidant and nutritional activity studies of green leafy vegetables. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 4 (7):707-712.
- Zdravković JM, Aćamović-Djoković GD, Mladenović JD, Pavlović RM, Zdravković MS, 2014. Antioxidant capacity and contents of phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in lettuce. *Hemijska Industrija*, 68(2):193-198.
- Znidarcic D, Ban D, Sircelj H, 2011. Carotenoid and chlorophyll composition of commonly consumed leafy vegetables in Mediterranean countries. *Food Chemistry*, 129: 1164-1168.

Atf İçin: Çıtak BY, Şirin E, Ertuğrul K, 2021. *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae)'nın anatomik, morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2518-2524, 2021.

To Cite: Çıtak BY, Şirin E, Ertuğrul K, 2021. Anatomical, morphological and micromorphological characteristics of *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae). Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2518-2524.

***Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae)'nın anatomik, morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri**

Burcu YILMAZ ÇITAK, Emrah ŞİRİN, Kuddisi ERTUĞRUL

ÖZET: Bu çalışmada *Isatis quadrialata*'nın ayrıntılı morfolojik ve anatomik özellikleri incelenmiş olup, meyve ve tohum mikromorfolojileri araştırılmıştır. Anatomik araştırmalarda, türün kök, gövde, yaprak ve meyve enine kesitleri alınmıştır. Kök enine kesitlerinde, epidermis dokusu koruyucu görev yapmaktadır. Gövdelerde, tek tabakalı epidermis hücreleri, korteks parankiması, iletim demetleri ve öz hücreleri yer almaktadır. Yapraklarda, iki tabakalı palizat parankiması ile sünger parankiması yer almakta olup bifasiyal tip mezofil gözlemlenmiştir. Meyve enine kesitleri tek tabakalı ekzokarp, çok tabakalı mezokarp ve çok tabakalı endokarpa sahiptir. Meyve yüzey ornamentasyonu ağimsi iken tohum yüzey ornamentasyonu ise kabarcıklıdır. *Isatis quadrialata*'nın anatomik karakterlerinin taksonomik önemi olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, *Boreava*, *Isatis*, morfoloji, mikromorfoloji

Anatomical, morphological and micromorphological characteristics of *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff (Brassicaceae)

ABSTRACT: In this study, detailed morphological and anatomical features of *Isatis quadrialata* were examined. With anatomical analysis, transverse sections of root, stem and leaf were examined. Epidermis is a protective tissue in root transverse sections. Transverse sections of stem contain one layered epidermis, cortex parenchyma, vascular bundles and pith cells. The cross sections of leaves have two layered palisade parenchyma and spongy parenchyma with bifacial mesophyll. Transverse sections of fruit have one layered exocarp, multi layered mesocarp and endocarp. In addition, fruit and seed micromorphologies were studied. The fruit surface ornamentation is reticulate while the seed surface ornamentation is blister. The anatomical characteristics of *Isatis quadrialata* were determined of taxonomic importance.

Keywords: Anatomy, *Boreava*, *Isatis*, morphology, micromorphology

¹Burcu YILMAZ ÇITAK (Orcid ID: 0000-0003-3703-7731), Emrah ŞİRİN (Orcid ID: 0000-0003-3408-7186), Kuddisi ERTUĞRUL (Orcid ID: 0000-0002-6463-2918), Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Burcu YILMAZ ÇITAK, e-mail: burcuyilmaz@selcuk.edu.tr

GİRİŞ

Brassicaceae familyasının tür sayısı açısından dünyadaki en zengin ülkelerinden biri içerdiği 571 türle Türkiye'dir. Türkiye Florası'nın ilk cildinde Brassicaceae familyasına ait 86 cins ve 464 tür verilmiştir (Davis, 1965). Onuncu ciltte bu sayı 88 cins ve 526 türe (Davis ve ark., 1988), on birinci ciltte ise 91 cins ve 555 türe yükseltilmiştir (Güner ve ark. 2000). Türkiye Florası'nın ikinci ek cildinde 1 cins, 28 tür ve 15 alttür ve 2 varyetenin eklenmesiyle toplam tür sayısı 583'e yükseltilmiştir (Al-Shehbaz ve ark., 2007). Türkiye'de *Isatis* cinsi 31 tür ve 15 alttür ile temsil edilmektedir (Güner ve ark. 2012). *Boreava* Jaub. & Spach cinsi Türkiye'de *B. orientalis* Jaub. & Spach ve *B. aptera* Boiss. & Heldr. olmak üzere iki tür ile temsil edilmektedir (Hedge, 1965; Mutlu, 2012). *B. aptera* türünün Türkçe ismi "kayşak" iken *B. orientalis* türünün ise "sarıot" olarak belirlenmiştir (Menemen ve ark., 2016). *B. orientalis* ve *B. aptera* türleri morfolojik ve moleküler özellikleri göz önünde bulundurularak sırasıyla *Isatis quadrialata* Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff ve *Isatis aptera* (Boiss. & Heldr.) Al-Shehbaz, Moazzeni & Mummenhoff olarak *Isatis* cinsine aktarılmıştır (Al-Shehbaz, 2012).

Isatis cinsi palinolojik, fitokimyasal ve biyoteknolojik bazı araştırmalara konu olmuştur (Perveen ve ark., 2014; Speranza ve ark. 2020). Cinsin anatomik yapısına dair araştırma ise oldukça sınırlıdır (Saeed and Yonus 2016). Bu çalışmada ise *Isatis quadrialata* türü anatomik, palinolojik ve mikromorfolojik açıdan değerlendirilmiştir. Bu karakterlerin türün sistematik ayırımına katkısı ve cinsin diğer türleri ile ayırımı noktasında nasıl bir destek sağlayacağı tespit edilmiştir.

MATERYAL VE METOT

İncelenen materyaller Konya Selçuk Üniversitesi kampüs alanı Ziraat Deresi çevresi 1150 metre rakımdan 29 Mayıs 2013 tarihinde çiçekli ve meyveli olarak toplanmıştır (Toplayıcı no: *B. Çıtak*-140) ve Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Anatomisi ve Morfolojisi araştırma laboratuvarında muhafaza altına alınmıştır. Morfolojik çalışmalarında olgun meyveden ve disekte edilmiş çiçekten ölçümler yapılırken diğer incelemeler kurutulmuş herbaryum örnekleri üzerinde yapılmıştır. Anatomik araştırmalar için %70 etil alkol dolu kaplara konulan bitki örnekleri kullanılmıştır. Bu örneklerden manuel olarak kesitler alınmıştır. Vardar (1987)'den yararlanarak kesitler boyanmıştır.

Taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak incelenen tohum ve meyve numuneleri ilk önce her biri 20 dakika süreyle %70, 80, 96 ve %100 alkol serisinden geçirilmiştir. Yüzeyler daha sonra yüksek vakum modunda ve farklı büyütmelede ZEISS EVO LS-10 taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile gözlemlenerek, fotoğrafları çekilmiştir. Ayrıca akenlerin stereo mikroskop görüntüleri için LEICA S8AP0 mikroskopuna takılı olan LEICA DFC295 dijital kamerasıyla fotoğraflanmıştır.

Meyve ve tohum mikromorfolojisi için Stearn (1992), Koul ve ark. (2000) ve Zeng ve ark. (2004) terminolojisi kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

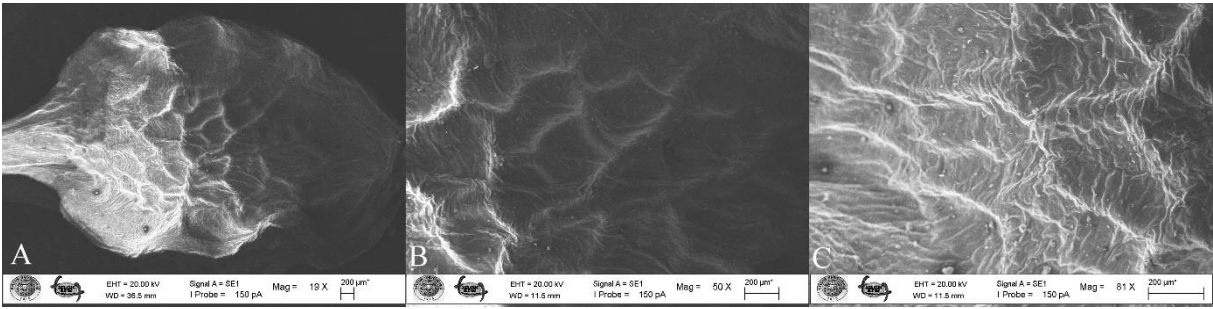
Morfolojik ve Mikromorfolojik Bulgular

I. quadrialata'nın morfolojik ve mikromorfolojik özellikleri şu şekildedir: Tek yıllık, 15–32 cm, orta–üst gövdeden gevşek ve braktesiz çiçek durumuna kadar dallanmış. Taban yaprakları 25–65 × 16–32 mm ölçülerinde, tüysüz, oblong–lanseolat, sarı, aurikuleyit veya sagit, kenarları tam, uçta akut; gövde yaprakları 13–20 × 8–12 mm ölçülerinde, sagit, tüysüz. Aurikuleyitler 1–10 mm, akut veya obtuz. Çiçek durumu panikula veya tüysüz. Petaller 4–5 mm ve spatulat, sepaller 1.5–3 mm ve sakkat, filamentler hafifçe genişlemiş. Meyve kapalı, dik, silikula, 1- tohumlu, gagalı, ovoid, pediseller 6–8 mm, 8–10 × 7 mm, 4 dalgalı kanatlı, uçta akut–piramidal (Şekil 1). Ovaryum 1–2 ovüllü, stigma kapitat,

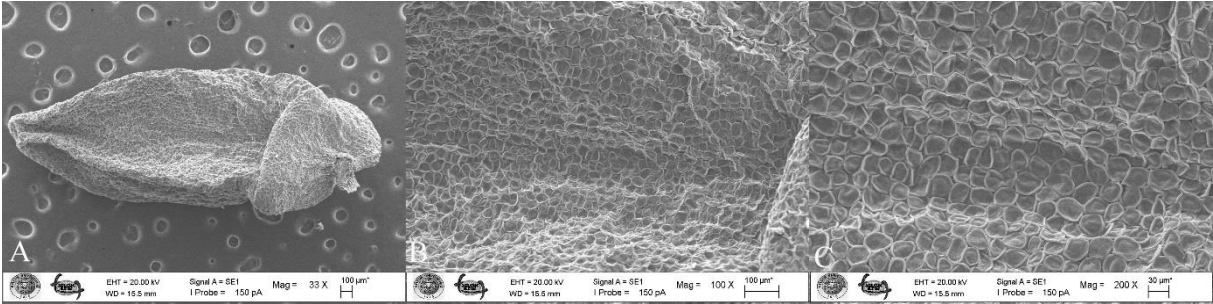
tohum siyahımsı kahverengi, lanseolat-ovat, kanatsız, tüysüz, $3.2-3.6 \times 1-1.4$ mm ölçülerinde. Meyvenin yüzey ornamentasyonu retikulat-striat, tohumunki ise verrukat (Şekil 2-3).



Şekil 1. *I. quadrialata*'nın meyvesi (A), çiçeği (disekte, B) ve gövde yaprağı (C)



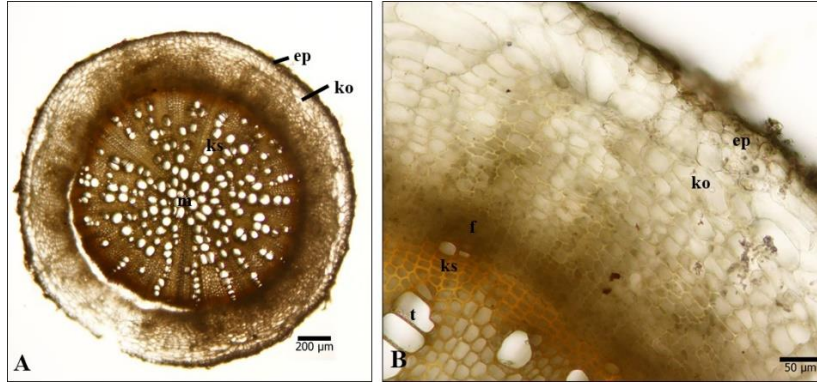
Şekil 2. *I. quadrialata*'nın meyve mikrografları: Genel görünüş (A), Yüzey ornamentasyonu (B) ve yüzey ornamentasyonu ayrıntısı (C)



Şekil 3. *I. quadrialata*'nın tohum mikrografları: Genel görünüş (A), Yüzey ornamentasyonu (B) ve Yüzey ornamentasyonu ayrıntısı (C)

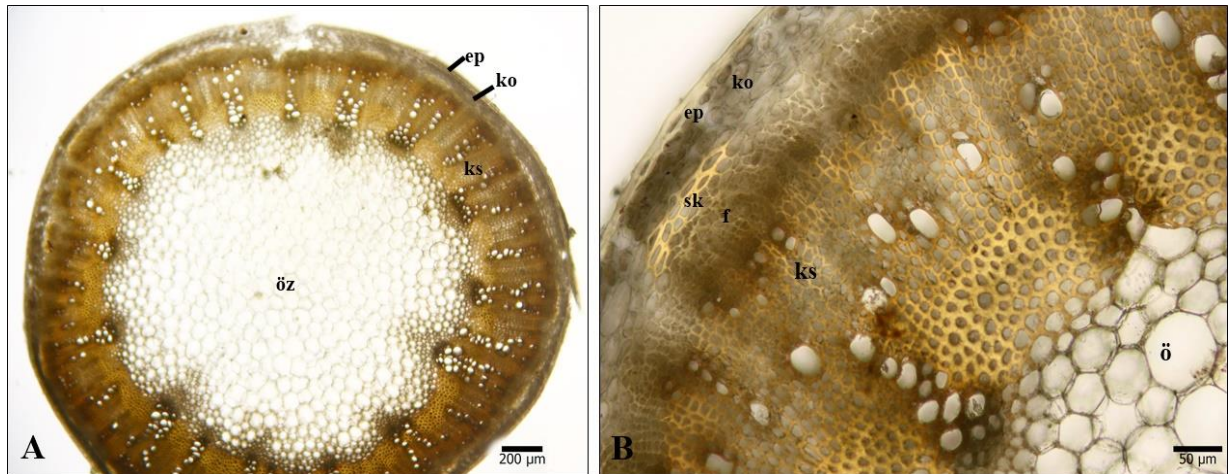
ANATOMİK BULGULAR

Kök Anatomisi: Köklerden alınan enine kesitler; koruyucu doku (epidermis), korteks parankimasi ve iletim dokusu olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır (Şekil-4-A). Epidermis dokusu tek sıralı olup, yuvarlak şekillidir. Korteks hücreleri parankimatik karakterlidir. İletim dokusu floem ve ksilem elemanlarından oluşmaktadır (Şekil 4-B). Her iki iletim elemanı iyi gelişmiştir. Ksilem dokusunda trake hücrelerinin düzensiz dizildiği gözlemlenmiştir. Kök enine kesitlerinin merkez kısmı ksilem elemanları ile doludur (Şekil 4-A).



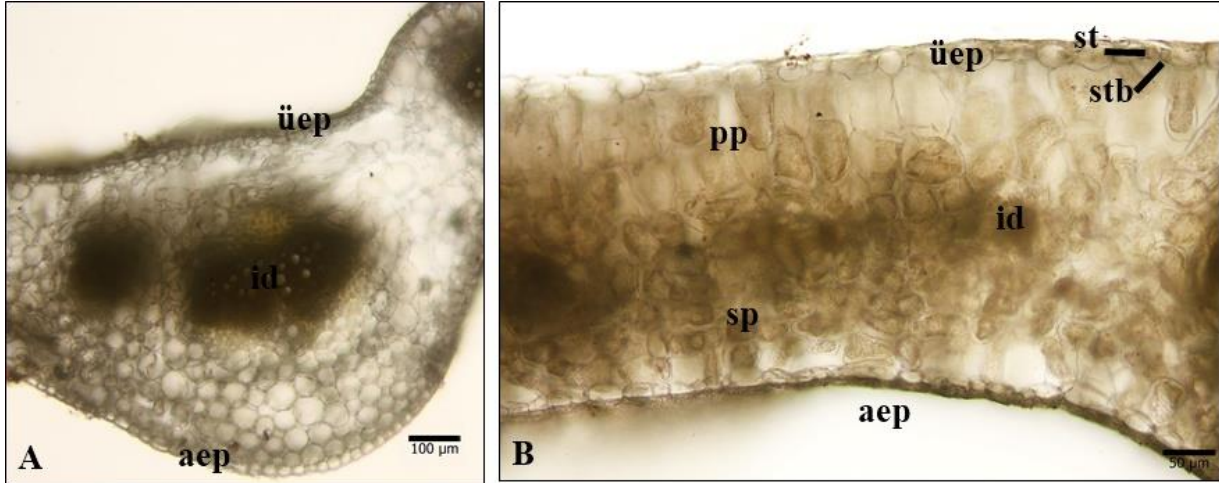
Şekil 4. *I. quadrialata*'nın kök enine kesit mikrofotografaları: Genel görünüş (A), Kök yakın görünüşü (B), ep: epidermis, ko: korteks parankiması, ks: ksilem, m: kök merkezi, f: floem, t: trake.

Gövde Anatomisi: Gövdelerden alınan enine kesitlerin en dış kısmında epidermis dokusu bulunmaktadır (Şekil 5-A). Epidermis tek sıralı ve dikdörtgen şekillidir. Korteks hücreleri 5 sıralı ve parankimatik karakterli olup, iletim demetlerinin hemen üzerinde bir kaç sıralı sklerenkima hücreleri bulunmaktadır. Floem hücreleri, sklerenkima hücrelerinin hemen aşağısında yer almaktadır. Ksilem dokusu oldukça gelişmiştir (Şekil 5-B). Gövdelerin öz bölgesinde parankimatik öz hücreleri bulunmaktadır. Öz bölgesi gövde enine kesitlerinde geniş yer kaplamaktadır.



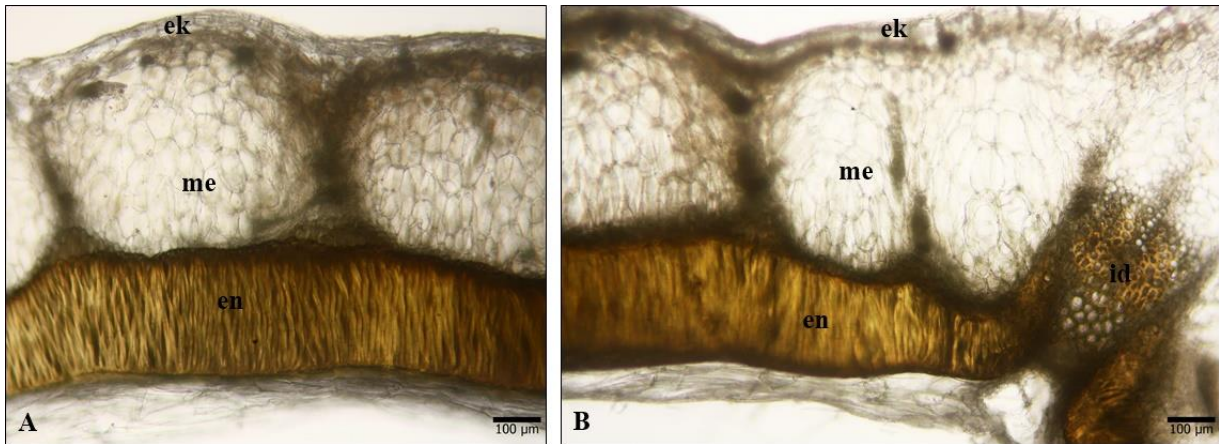
Şekil 5. *I. quadrialata*'nın gövde enine kesit mikrofotografaları: Genel görünüş (A), Gövde yakın görünüşü (B), ep: epidermis, ko: korteks parankiması, ks: ksilem, sk: sklerenkima, f: floem, ö: öz hücresi.

Yaprak Anatomisi: Yaprak enine kesitlerinde orta damar kısmı (midrip) triangular şekillidir (Şekil 6-A). Lamina kısmı ise lineardır (Şekil 6-B). Üst ve alt epidermis hücrelerin her ikisi de tek sıralıdır. Epidermis hücrelerinin arasında kalan mezofil dokusu palizat ve sünger parankimalarından oluşmakta olup, mezofil dokusuna göre bifasiyaldir. Orta damar kısmındaki iletim demetleri lamina kısmında yer alanlardan oldukça büyüktür (Şekil 6-A).



Şekil 6. *I. quadrialata*'nın yaprak enine kesit mikrofotografaları: Orta damar genel görünüş (A), Lamina yakın görünüş (B), üep: üst epidermis, aep: alt epidermis, id: iletim demeti, pp: palizat parankimasi, sp: sünger parankimasi, st: stoma, stb: stoma boşluğu.

Meyve Duvarı Anatomisi: Meyve duvarı anatomik yapısında ekzokarp, mezokarp ve endokarp olmak üzere üç anatomik yapı dikkati çekmektedir (Şekil 7-A). Ekzokarp hücreleri tek sıralı ve oval-dikdörtgen şekillidir. Mezokarp hücreleri parankimatik olup, çok sıralıdır. Endokarp hücreleri ise sıkı dizilimli, iğ şeklinli hücrelerden oluşmaktadır. Meyve enine kesitlerinde iyi gelişmiş iletim demeti yer almaktadır (Şekil 7-B).



Şekil 7. *I. quadrialata*'nın meyve duvarı enine kesitleri mikrofotografaları: Genel görünüş (A-B), ek: ekzokarp, me: mezokarp, en: endokarp, id: iletim demeti.

Morfolojik karakterler bitki sistematğinde çok önemli yer tutmaktadır. *I. quadrialata* türü, *I. aptera*'dan meyvenin dik ve uçta sivri olması (*I. aptera*'da yay şeklinde ve uçta küt), meyve ölçüleri ve kanatlı olması (*I. aptera*'da kanatsız) ve petallerin spatulat (*I. aptera*'da oblong-lanseolat) olmasıyla ayrılır (Türkiye Florası'nda *Boreava* olarak; Hedge, 1965).

I. quadrialata'nın morfolojik özellikleri Türkiye Florası (Hedge, 1965) ile uyumlu iken gövde ve taban yaprak ölçüleri, aurikuleyit ölçüm ve morfolojisi, çiçek durumu özellikleri ve sepal ölçüm ve morfolojisi ilk defa bu çalışmayla ortaya çıkarılmıştır.

Tohum mikromorfolojisi özellikleri Brassicaceae familyasında taksonların ayırımına katkı sağlamaktadır (Zeng ve ark., 2004; Bona, 2013; Koul, 2000; Karaismailoğlu ve Erol, 2018; Çıtak ve Dural, 2020a, Şirin ve Ertuğrul, 2021). Vaughan ve Whitehouse (1971) ışık mikroskopuyla yaptıkları

çalışmada, *I. glauca* Aucher ex Boiss., *I. lusitanica* L., *I. tinctoria* L., *I. trachycarpa* Trautv. ve *I. violascens* Bunge türlerinin tohum yüzey modellerini pürüzsüz şekilde yorumlamışlardır. *I. cappadocica* Desv. subsp. *cappadocica*'nın tohum yüzey modelinin ise ağsı olduğu tespit edilmiştir (Karaismailoğlu, 2019). Şirin ve Ertuğrul (2020) ise yapmış oldukları çalışmada *I. arenaria* Azn.'nin tohum yüzey modelini düzenli retikulat, *I. candolleana* Boiss., *I. cappadocica* Desv. subsp. *macrocarpa* (Jaub. & Spach) P.H. Davis, *I. erzurumica* P.H. Davis türlerinininkini ise düzensiz retikulat ve *I. floribunda* Boiss. ex. Bornm türününinkini ise pürüzlü şekilde yorumlamışlardır. Bu çalışmada, *I. quadrialata* türünün verrukat yüzeyli tohumları diğer türlerden farklılık göstermektedir.

Brassicaceae familyasında anatomik karakterlerin sistematik olarak kullanımı oldukça sınırlıdır (Karaismailoğlu, 2019; Çıtak ve Dural, 2020b). *Isatis* cinsi ile ilgili vejetatif organ anatomik yapısını aydınlatan çalışmalar ise oldukça sınırlıdır (Saeed and Yonus 2016). *Isatis quadrialata* türünün kök anatomik yapısında epidermis dokusu koruyucu doku olarak görev yapmaktadır. Korteks hücreleri parankimatik karakterli olup, köklerde dar bir alanı işgal etmektedir. Metcalfe ve Chalk (1950)'ın yapmış olduğu iletim demeti sıralanışına göre köklerin düzensiz bir sıralanması vardır. *Isatis* cinsi gövde enine kesitlerinin şekli oval olarak bildirilmiştir (Saeed ve Yonus 2016). *I. quadrialata* gövde enine kesitleri de ovaldır. Epidermis hücreleri tek sıralıdır. Fakat korteks ve sklerenkima hücrelerinin sıra sayısı farklıdır. Korteks parankimatik ve iletim demetlerinin üzerinde birkaç sıralı sklerenkimatik hücreler yer almaktadır. Saeed ve Yonus (2016), *Isatis* cinsinde gövde enine kesitlerinde sklerenkima hücrelerini bildirmemişlerdir. Gövdelerde öz bölgesi geniş bir yer kaplamaktadır. Saeed ve Yonus (2016), *Isatis* cinsinde gövdelerde öz bölgesinin fazla yer kapladığını bildirmişlerdir. *Isatis* cinsinde yaprak mezofil dokusu ekvifasiyal olarak bildirilmiştir (Metcalfe ve Chalk 1950, Saeed ve Yonus 2016). *I. quadrialata* türün de ise bifasiyal tipte mezofil dokusu tespit edilmiştir.

Meyve ve tohum anatomik özelliklerinin Brassicaceae familyasının taksonomisinde önemli yer tuttuğu belirlenmiştir (Mummenhoff ve ark., 2008; Mühlhausen ve ark., 2010; Lenser ve ark., 2016). *Isatis* cinsi için meyve duvar anatomik yapısı daha önceden bildirilmemiştir. Bu çalışma ile *Isatis quadrialata* türüne ait meyve duvar yapısında ekzokarp tek sıralı, mezokarp çok sıralı ve parankimatik olup, endokarp sıkı düzenlenmiş iğimsi şekilli hücrelerden oluşmuştur.

SONUÇ

Sonuç olarak, *I. quadrialata* türünün köklerinde dağınık düzenlenmiş ksilem elemanları, gövdelerinde parankimatik korteks hücreleri bulunmakta olup, yaprak mezofil dokusu bifasiyal tiptedir. Bu çalışmada belirlenen özellikler ile türün taksonomisine katkıda bulunulmuştur.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığı beyan olunur.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Al-Shehbaz IA, 2012. A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). *Taxon*, 61 (5): 931–954.
- Al-Shehbaz IA, Mutlu B, Dönmez AA, 2007. The Brassicaceae (Cruciferae) of Turkey, updated. *Turkish Journal of Botany* 31: 327–336.
- Bona M, 2013. Seed-coat microsculpturing of Turkish *Lepidium* (Brassicaceae) and its systematic application. *Turkish Journal of Botany*, 37: 662–668.
- Çıtak BY, Dural H, 2020a. Fruit and seed micromorphology of the genus *Iberis* L. (Brassicaceae) in Turkey and its utility in taxonomic delimitation. *Botanical Sciences*, 98 (4): 584–592.

- Çıtak BY, Dural H, 2020b. The Anatomical Structures Of The Genus *Iberis* L. (Brassicaceae) In Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 27: 213–224.
- Davis PH, Mill RR, Tan K, 1988. Cruciferae. Şu eserde: Davis P.H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (supplement) 10: 29–58, 232–235. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis PH, 1965. Cruciferae. Şu eserde: Davis P.H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 1: 248–495. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Bafler KHC, 2000. Cruciferae. Şu eserde: Davis P.H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 11: 29–41. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Hedge IC, 1965. *Boreava* Jaub. & Spach. Şu eserde: Davis PH (ed). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 1: 429–430. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Karaismailoğlu MC, Erol O, 2018. Seed structure and its taxonomic implications for genus *Thlaspi* sensu lato sections *Nomisma*, *Thlaspi*, and *Pterotropis* (Brassicaceae). *Turkish Journal of Botany*, 42 (5): 591–609.
- Karaismailoğlu MC, 2019. Comparative Morphology And Anatomy Of Seeds Of Some *Aethionema* W.T. Aiton (Brassicaceae) Taxa From Turkey. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, 26 (1): 1–12.
- Karaismailoğlu MC, 2019. The Value of the Seed in the Systematic of the Family Brassicaceae. In: *Research Reviews in Science and Mathematics–Summer*, pp. 51–80 Editor: Sağlık HA Gece Kitaplığı Yayınevi, New York, Ankara.
- Koul K, Ranjna N, Raina SN, 2000. Seed coat microsculpturing in *Brassica* and allied genera subtribes Brassicinae, Raphaninae, Moricandiinae. *Annals of Botany*, 86: 85–97.
- Lenser T, Graeber K, Çevik ÖS, Adıgüzel N, Dönmez AA, Grosche C, Kettermann M, Mayland Quellhorst S, Mérai Z, Mohammadin S, Nguyen T, Rümpler F, Schulze C, Sperber K, Steinbrecher T, Wiegand N, Strnad M, Scheid OM, Rensing SA, Schranz ME, Theißen G, Mummenhoff K, LeubnerMetzger G, 2016. Developmental control and plasticity of fruit and seed dimorphism in *Aethionema arabicum*. *Plant Physiology*, 172: 1697–1707.
- Menemen Y, Aytaç Z, Kandemir A, 2016. Türkçe Bitki Adları Yönergesi, Bağbahçe Bilim Dergisi 3(3): 1–3.
- Metcalf CR, Chalk L, 1950. *Anatomy of the dicotyledons*. Vol.1. Clarendon press. Oxford. pp. 80–87.
- Mummenhoff K, Polster A, Mühlhausen A, Theißen G, 2008. *Lepidium* as a model system for studying the evolution of fruit development in Brassicaceae. *Journal of Experimental Botany*, 60: 1503–1513.
- Mutlu B, 2012. *Boreava* Jaub. & Spach, Şu eserde: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., ve Babaç, M.T. (edlr.). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, s. 299. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Mühlhausen A, Polster A, Theissen G, Mummenhoff K, 2010. Evolution of fruit dehiscence in Brassicaceae: examples from *Aethionema* and *Lepidium*. VI International Symposium on Brassicas and Xviii Crucifer Genetics Workshop. 867: 207–219.
- Saeed JF, Yonus FD, 2016. Anatomical study of the genus *Isatis* L. (Brassicaceae) in Kurdistan Region of Iraq. *Zanco Journal of Pure and Applied Sciences*, 28 (5): 4–39.
- Stearn WT, 1992. *Botanical Latin*. David & Charles Pub, London.
- Şirin E, Ertuğrul K, 2020. Significance of seed coat morphology in some *Isatis* (Brassicaceae) Taxa. The 6th International Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, İzmir, pp. 68.
- Şirin E, Ertuğrul K, 2021. Seed-Coat microsculpturing of some *Cardamine* (Brassicaceae) taxa and its systematic importance. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 14 (1): 24–27.
- Vaughan JG, Whitehouse JM, 1971. Seed structure and the taxonomy of the Cruciferae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 64: 383–409.
- Zeng CL, Wang JB, Liu AH, Wu XM, 2004. Seed coat microsculpturing changes during seed development in diploid and amphiploid *Brassica* Species. *Annals of Botany*, 93: 555–566.

To Cite: Özbek F, Ekici M, Büyükkartal HN, Pınar NM, 2021. Anatomy, Palynology and Micromorphology of the Genus *Astragalus* L. (Fabaceae) Section *Uliginosi* Gray in Turkey. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2525-2536.

Anatomy, Palynology and Micromorphology of the Genus *Astragalus* L. (Fabaceae) Section *Uliginosi* Gray in Turkey

Funda ÖZBEK^{1*}, Murat EKİCİ¹, Hatice Nurhan BÜYÜKKARTAL², Nur Münevver PINAR²

ABSTRACT: The anatomical, palynological and leaflet and fruit micromorphological properties of two *Astragalus* L. species, namely *A. falcatus* Lam. and *A. odoratus* Lam. attributed to the section *Uliginosi* Gray (Fabaceae) from Turkey were considered via light (LM) and scanning electron microscopies (SEM) in order to determine their these characteristics and to assess the diagnostic value of these properties as taxonomic evidence. The leaflets type in terms of the anatomy, the type of stomata and trichomes, the shape and aperture of pollen grains and also the surface ornamentation of the fruits and trichomes are similar in these two species. Anatomical features such as the shape of the stem and petiole, the absence or presence of pith cavity in the stem and the number of vascular bundles in the petiole possess a systematic importance. Bifurcate trichomes are present on both surfaces of the leaflets. The ornamentation of trichomes is verrucate. The surface pattern of fruits is reticulate. The pollen grains are isopolar, radially symmetrical, trizonocolporate and prolate-spheroidal. Exine sculpturing is found to be a valuable characteristic for separating these species.

Keywords: *Astragalus*, *Uliginosi*, anatomy, pollen, micromorphology

¹ Funda ÖZBEK ([Orcid ID: 0000-0002-0135-0155](https://orcid.org/0000-0002-0135-0155)), Murat EKİCİ ([Orcid ID: 0000-0002-3402-177X](https://orcid.org/0000-0002-3402-177X)), Gazi University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

² Hatice Nurhan BÜYÜKKARTAL ([Orcid ID: 0000-0002-6376-1806](https://orcid.org/0000-0002-6376-1806)), Nur Münevver PINAR ([Orcid ID: 0000-0001-5466-795X](https://orcid.org/0000-0001-5466-795X)), Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey

***Corresponding Author:** Funda ÖZBEK, e-mail: fundaozbek@gazi.edu.tr

Bu çalışma Funda Özbek'in Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

Makalenin bir kısmı 5-7 Mayıs 2011 tarihlerinde Düzce'de düzenlenen "Ekoloji Sempozyumu'nda" poster; 21-27 Şubat 2011 tarihlerinde düzenlenen "Biosystematics Congress'de" poster ve 18-21 Kasım 2014 tarihlerinde Malezya'da düzenlenen "2. International Conference on Advances in Plant Sciences (ICAPS)'da" sözlü olarak sunulmuştur.

INTRODUCTION

Astragalus L. is one of the largest genera of flowering plants with about 2530 taxa worldwide. This genus is classified into 8 subgenera and approximately 245 sections (Maassoumi, 1998) and also recently according to Podlech and Zarre (2013) 2398 species and 136 sections. One-third of them are known to grow in America, and are called the New World species, and the remainder are known to grow in the continents of Asia, Europe and Africa, and are called the Old World species. The genetic center of the genus seems to be Eurasia. The number of this genus is particularly quite high in Central Asian steppes, Iran and Turkey. This genus is represented with 63 sections and 459 taxa indicating an endemism rate of 51% in Turkey (Ekici et al., 2015; Duman et al., 2020). The members of the genus *Astragalus* generally grow in a steppeic formation (in dry climates) and they are found just as much in the Irano-Turanian phytogeographic region of Holarctic world.

At first, Bunge (1868, 1869) comprehensively classified this genus into 10 subgenera for its species growing in the Old World. Podlech (1982) reduced the number of eight perennial subgenera in Bunge's system (1868, 1869) to only 2 groups as subgenus *Astragalus* and subgenus *Cercidothrix* Bunge. Later annual species were transferred to the subgenus *Trimeniaeus* Bunge (Podlech, 1994). The number of Bunge's subgenera was then reduced to 8 when the species from 2 subgenera were transferred into the others (Maassoumi, 1998). The section *Uliginosi* belongs to the subgenus *Cercidothrix*. *Cercidothrix* had been considered to be monophyletic (Podlech, 1998). However, molecular studies showed that this subgenus is polyphyletic. Within this subgenus only the sections *Ammodendron* Bunge and *Incani* DC. are monophyletic. As section *Uliginosi* includes *A. fragrans* Willd., which is the member of section *Acmothrix* Bunge, this section is a paraphyletic group (Kazempour et al., 2003).

The section *Uliginosi* is represented in Turkey with 2 species, namely *Astragalus falcatus* Lam. and *A. odoratus* Lam.; in Iran with 1; in the former USSR with 7; in Azerbaijan with 2; in Armenia with 2; in Syria with 1; in China with 3 and in Japan with 2 (Gontscharov et al., 1946; Chamberlain and Matthews, 1970; Maassoumi, 1998)

There are some reports of the family Fabaceae based on anatomy (Metcalf and Chalk, 1957; Çobanoğlu, 1989; Haddad and Barnett, 1989; Evren and Çobanoğlu, 1993; Pirani et al., 2006; Mehrabian et al., 2007; Saghi et al., 2015), palynology (Tewari and Nair, 1979; Perveen and Qaiser, 1998; Simons and Chinnappa, 2004; Akan et al., 2005; Ekici et al., 2005; Pınar et al., 2009; Al-Ghamadi et al., 2013; Çeter et al., 2013; Bagheri et al., 2019) and micromorphology (Vural et al., 2008; Karaman et al., 2009; Mourad and Sharawy, 2010; Grohar et al., 2016; Metin et al., 2018). Mehrabian et al. (2007) studied the petiole anatomy of 24 *Astragalus* species belonging to the section *Incani* DC. from Iran and detected that petiole anatomy was an appropriate characteristic for taxonomical differentiation at species level. Haddad and Barnett (1989) investigated the 14 species of European spiny *Astragalus* in terms of petiole anatomy and they found two major groups of species according to anatomical properties. Pirani et al. (2006) examined the spine anatomy of 35 species of the genus *Astragalus* and these researchers detected that this character was suitable for restricting the small natural groups and species even if it was not helpful for delimiting sections in spiny *Astragalus*. The pod morphological and anatomical studies of 26 *Astragalus* taxa distributed in Egypt were carried out with light and scanning electron microscopies and also numerically investigated the inter- and the infra-specific relationships by Mourad and Sharawy (2010). Saghi et al. (2015) studied on anatomical properties of the leaflet and petiole of 20 *Astragalus* species within the section *Caprini* distributed in Iran and they reported that variations in these characters were not useful for delimitation and identification of this section's species.

Pınar et al. (2009) examined the palynology of 29 *Astragalus* species within the section *Onobrychoidei* DC. using LM and SEM from Turkey. The pollen of 15 *Astragalus* taxa of section *Hololeuce* Bunge from Turkey were studied by Çeter et al. (2013). The researchers reported that especially exine sculpturing was significant for discriminating the taxa each other. Also, Al-Ghamadi et al. (2013) noticed that pollen grains were the most useful features in their examined 13 *Astragalus* species, which were growing in Saudi Arabia. The pollen morphology of 22 species of *Astragalus* attributed to the section *Hymenostegis* Bunge distributed in Iran were studied by Bagheri et al. (2019) and they stated that although there were low variations in pollen grains between the species, the differences occurred between the sections based on the pollen properties.

Karaman et al. (2009) investigated the micromorphology of leaflet belonging to the genus *Oxytropis* DC. in Turkey and it was determined that this character had a taxonomic value for supporting relationship between the examined taxa. The leaflet trichome micromorphology on the genus *Mimosa* L. was found to be diagnostic due to showing differentiation among the taxa by Grohar et al. (2016). Metin et al. (2018) studied the micromorphologies of leaflet, pollen and seed of *Astragalus victoriae* Podlech & Agerer-Kirchhoff and *A. melanophrurius* Boiss. endemic to Turkey and stated that the surface pattern of trichomes was a distinctive feature in taxonomy of their studied species.

The anatomical, palynological and leaflet and fruit micromorphological characteristics of the section *Uliginosi* have not been investigated before. The objectives of present research are to examine and determine the anatomy, palynology, and leaflet and fruit micromorphologies of this section in Turkey and to evaluate the taxonomic importance of these features.

MATERIALS AND METHODS

Plant Materials

Research samples were collected from their various localities in Turkey at flowering and fruiting periods (Table 1) within the scope of Gazi University Research Fund (05/2010-54) and deposited at Gazi University, Faculty of Science Herbarium (GAZI).

Table 1. The localities data of the investigated *Astragalus* specimens

Species	Locality	Voucher Number
<i>Astragalus falcatus</i>	A9 Kars: Kağızman-Cumaçay 26. km, roadsides, 1800 m, 14.07.2012;	<i>M.Ekici</i> 3148
	11.06.2010	<i>F.Özbek</i> 1007
<i>Astragalus odoratus</i>	B5 Kayseri: Erciyes University campus, 1100 m, 31.05.2011	<i>F.Özbek</i> 1023
	B6 Kayseri: Bünyan-Pınarbaşı 20. km, roadsides, 1491 m, 09.07.2002	<i>M.Ekici</i> 3024
	B9 Van: Y.Y.U., Faculty of education garden, 1640 m, 10.06.2010	<i>F.Özbek</i> 1001

Anatomical Analyses

The plant materials were also kept in 70% alcohol. Anatomical studies were made on the transverse sections of the stem, leaflet, petiole, and fruit using the paraffin method (Johansen, 1944) and by free hand. Free-hand sections were taken from the leaflet surface and some of the stem. Paraffin sections were stained with safranin-fast green and mounted using Entellan. Other sections were stained with Fluoroglycine-HCl and then mounted with 10% glycerine. Photographs were taken with a Leica DM1000 digital photomicrograph system.

Micromorphological Analyses

The micromorphologies of the leaflet and fruit were investigated by SEM. Both surfaces of the leaflet and fruit were put on stubs, covered with gold coating and then photomicrographs were taken with a JEOL JSM 6060 SEM. The terminology was adopted from Karaman et al. (2009) and Mourad and Sharawy (2010) for leaflet and fruit micromorphological characteristics.

Palynological Analyses

Pollen slides were prepared according to Wodehouse's method (1935) for LM. Pollen grains were stained with glycerin-jelly plus safranin. The prepared pollen slides were investigated and measured using an Olympus CX31 Light Microscope with an ocular micrometer. Measurements were performed for at least 30 pollen grains for each pollen morphological property. For SEM studies, pollen were placed on stubs and then coated with gold. They were investigated and photographed with a JEOL JSM 6060 SEM. The terminologies of Erdtman (1969), Faegri and Iversen (1992), Punt et al. (2007) and also Pınar et al. (2009) were used.

RESULTS AND DISCUSSION

The representatives of the section *Uliginosi* are different in terms of the anatomical, palynological and micromorphological features of leaflet and fruit. Our findings are consistent with the molecular results of Kazempour Osaloo et al. (2003) and Barneby's hypothesis (1964) that *A. falcatus* is not closely related to other members of the Old World section group. Kazempour Osaloo et al. (2003) stated that the section *Uliginosi* is a paraphyletic group. The Eurasian *A. falcatus* unites with the North American *A. oreganus* Nutt. ex Torr. & A. Gray (and *A. canadensis* L. of section *Uliginosi*), rather than with Eurasian *A. odoratus*.

Anatomical and Micromorphological Characteristics

Stem anatomy

In transverse section, the stem of *A. falcatus* is subcircular like a wave structure with the cells of epidermis protruding outward in shape and there is a pith cavity in the centre of the stem whereas the stem of *A. odoratus* is ovate and there are large parenchymatic cells in the pith (Figure 1A, E). The epidermis is composed of single layer of rectangular cells with thick-walled and it is covered with a cuticle layer of 8–10 μm thickness in *A. falcatus* and 5–7 μm thickness in *A. odoratus*. The collenchyma tissue found just below the epidermis is 6–9 layered cells on the corners and 1–2 layered cells between the corners in *A. falcatus*, while it is 4–7 layered cells on the corners and 2–3 layered cells between the corners in *A. odoratus* (Figure 1B, F). The chlorenchyma tissue, which is between the corners under the collenchyma, is composed of 4–5 layers in *A. falcatus* and 2–3 layers in *A. odoratus* of parenchymatous cells having many chloroplasts. Multilayered cortex has oval parenchymatous cells. The endodermis is located above the vascular bundles (Figure 1C, G). Vascular bundles are of the collateral type and they are larger at the corners than the others. The sclerenchymatous ring is situated above the phloem. The cambium is distinguishable and 2–4 layered cells. The xylem consists of trachea and tracheids (Figure 1D, F).

Leaflet anatomy and micromorphology

In transverse section, the leaflets of *A. falcatus* and *A. odoratus* have upper and lower epidermis covered by a thin cuticle consisting of uniseriate, thin-walled and differently-sized cells. The leaflets of two species are isobilateral, whereas the leaves in this family are usually dorsiventral and less frequently isobilateral (Metcalf and Chalk, 1957) and also amphistomatic (Figure 2A, E). The palisade tissue under the upper epidermis is 2–3 layered cells, above the lower epidermis is 2 layered cells. The thickness of mesophyll is $110.25 \pm 7.16 \mu\text{m}$ in *A. falcatus*, whereas in *A. odoratus* it is $168.34 \pm 15.32 \mu\text{m}$. There is a large median vascular bundle. Vascular bundles are surrounded by squarish or big parenchymatic cells. Small lateral bundles on the sides mostly vertically transcurrent (Figure 2B, F). Stomata are anomocytic and they are more abundant on the abaxial surface of the epidermis. They are placed at the same level as the epidermis in *A. falcatus* and slightly below the level of the epidermal cells in *A. odoratus*. Metcalfe

and Chalk (1957) stated that the hairs are non-glandular and equally or unequally two armed in species of *Astragalus*. The findings of this study are consistent with theirs. Trichomes are bifurcate, 0.3–0.5 mm long, verrucate, 3.32 ± 0.42 wart in $100 \mu\text{m}^2$; 3–4 on the adaxial surface and 8.21 ± 2.06 mm^2 on the abaxial surface in *A. falcatus*. Similarly in *A. odoratus*, trichomes are bifurcate, 0.3–0.5 mm long, verrucate, 2.35 ± 0.45 wart in $100 \mu\text{m}^2$; 3–4 on the adaxial surface and 13.75 ± 2.25 mm^2 on the abaxial surface (Figures 2C, D, G, H, 3, 4).

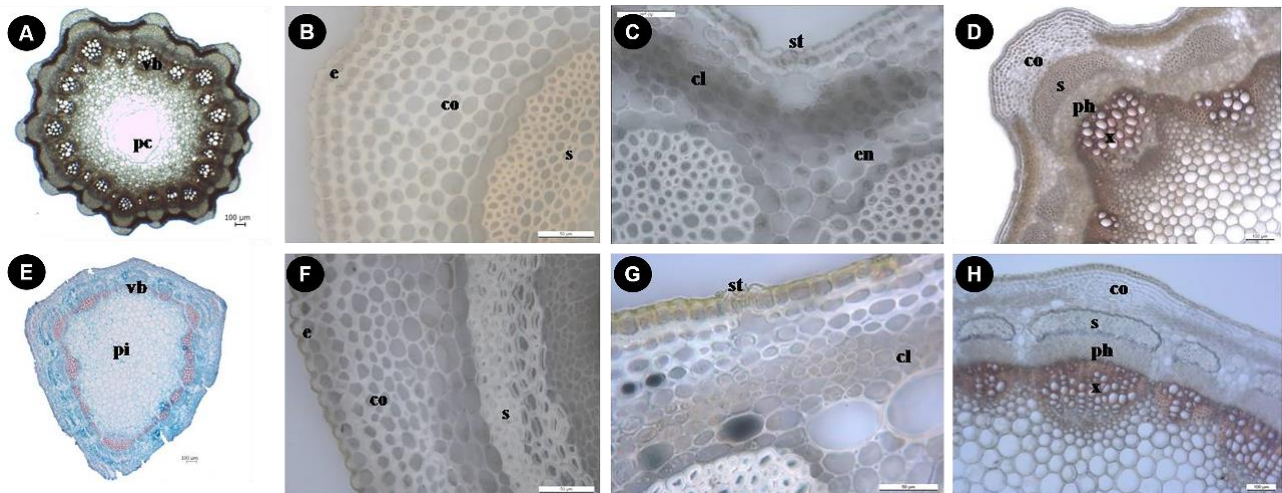


Figure 1. Transverse sections of the stem of *Astragalus falcatus* (A–D) and *A. odoratus* (E–H). cl: chlorenchyma, co: collenchyma, en: endodermis, e: epidermis, pc: pith cavity, ph: phloem, pi: pith, s: sclerenchyma, st: stoma, x: xylem, vb: vascular bundle

Karaman et al. (2009) were found to be various ornamentation in trichomes of *Oxytropis*. The common type was striate-verrucae, but in *O. persica* Boiss. and *O. engizekensis* H. Duman and Vural different surface patterns were determined between adaxial and abaxial surfaces and between the other taxa. In our study, only verrucate ornamentation on the trichome surface was observed in two species.

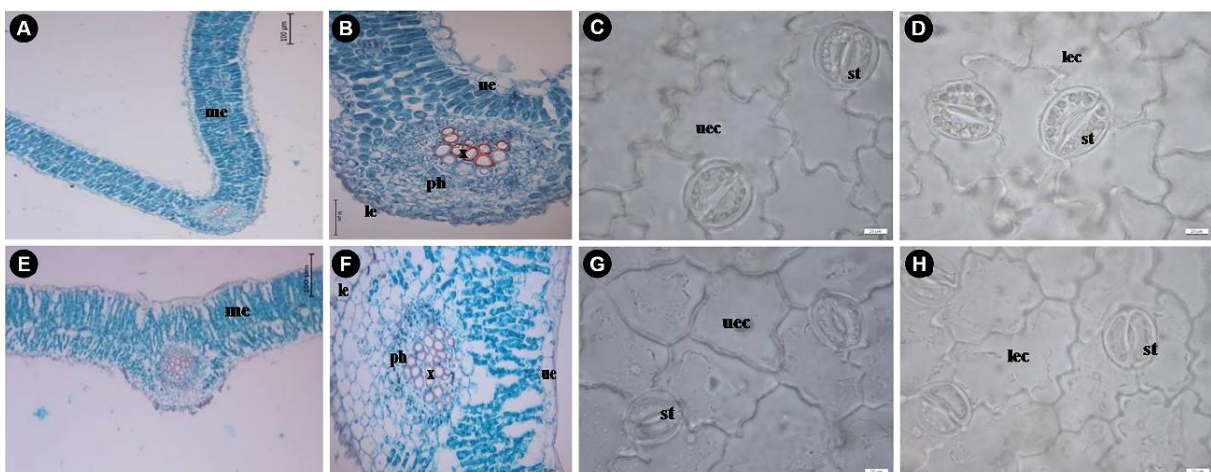


Figure 2. Transverse and surface sections of the leaflet of *Astragalus falcatus* (A–D) and *A. odoratus* (E–H): general view (A, E), the midrib (B, F), stomata on leaflet adaxial surface (C, G), stomata on leaflet abaxial surface (D, H). le: lower epidermis, lec: lower epidermis cell, me: mesophyll, ph: phloem, st: stoma, ue: upper epidermis, uec: upper epidermis cell, x: xylem

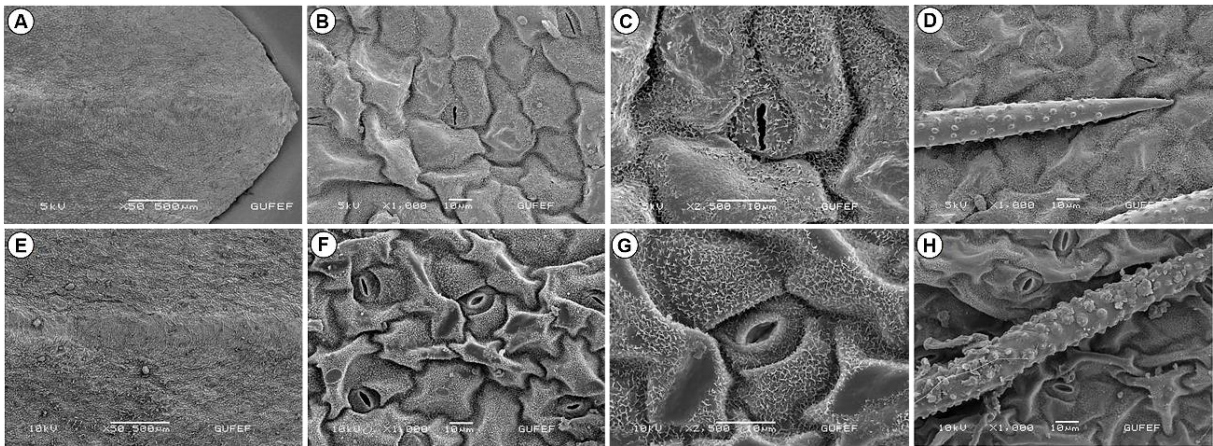


Figure 3. Scanning electron microscopy micrographs of adaxial surfaces of leaflets of *Astragalus falcatus* (A–D) and *A. odoratus* (E–H): general view (A, E), higher magnification of surfaces (B, F), stoma (C, G), parts of trichome (D, H)

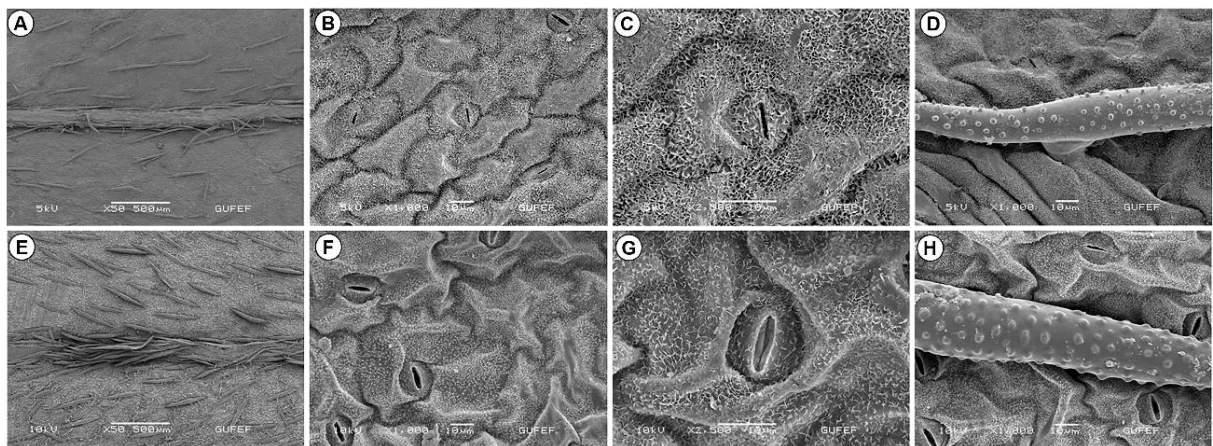


Figure 4. Scanning electron microscopy micrographs of abaxial surfaces of leaflets of *Astragalus falcatus* (A–D) and *A. odoratus* (E–H): general view (A, E), higher magnification of surfaces (B, F), stoma (C, G), parts of trichome (D, H)

Petiole anatomy

In transverse section, the petiole of *A. falcatus* is subcircular like a wave structure in that the cells of epidermis are protruding outward, while it is U-shaped in *A. odoratus* (Figure 5A, C). Haddad and Barnett (1989) reported that the variations in petiole outline and vascular bundles number between the their studied spiny *Astragalus*. It was found that the outline of petiole varied from subcircular to semiangular and the vascular bundles ranged from 5 to 11. Also, Mehrabian et al. (2007) recognized that the shape of cross section of the petiole varied from elliptic-ovate (*A. fridae* Rech. f., *A. homandicus* Maassoumi & Podlech), to broadly ovate (*A. punctatus* Bunge, *A. subalpinus* Boiss. & Buhse) to orbicular (*A. gudrunensis* Boiss & Hausskn., *A. supervisus* (Kuntze) Sheld.). The epidermis is formed of one layer of circular to rectangular shaped cells. The chlorenchyma tissue, between the large vascular bundles, is composed of 2–4 layers of parenchymatous cells having many chloroplasts. The cortex consists of 7–10 layers (*A. odoratus*) and 5–9 layers (*A. falcatus*) of differently-sized oval or amorphous parenchymatous cells. There are four large and four small vascular bundles in *A. falcatus*, whereas *A. odoratus* has three large and two small vascular bundles. The 4–6 layered sclerenchyma cells are located above the phloem (Figure 5B, D).

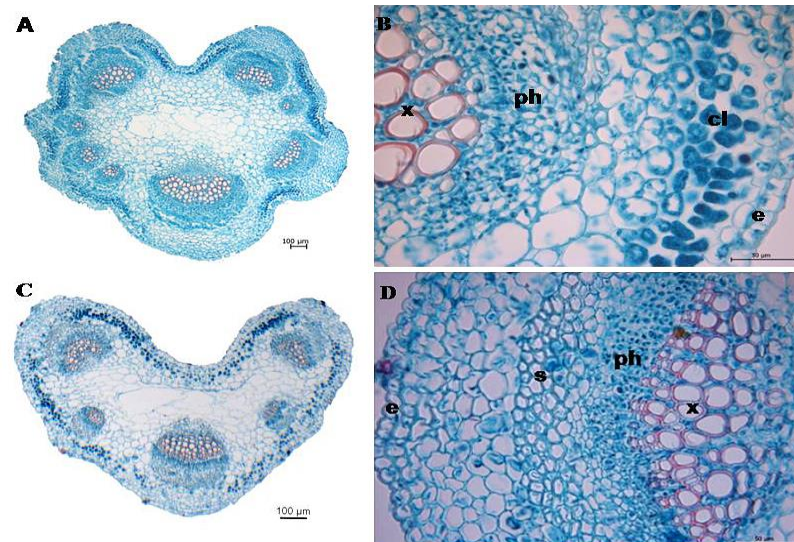


Figure 5. Transverse sections of the petiole of *Astragalus falcatus* (A, B) and *A. odoratus* (C, D): general view (A, C), enlargement showing internal structure (B, D). cl: chlorenchyma, e: epidermis, ph: phloem, s: sclerenchyma, x: xylem

Fruit anatomy and micromorphology

In transverse section, the fruits of *A. falcatus* and *A. odoratus* show the pericarp to have the following characteristics. The exocarp is composed of thin-walled, rectangular epidermis cells with a cuticle. The mesocarp consists of 3–7 layers (*A. falcatus*) and 5–7 layers (*A. odoratus*) of thin-walled parenchymatous cells of different sizes. Collateral vascular bundles are embedded into the mesocarp. The endocarp is composed of 2–4 layers (*A. falcatus*) and 4–6 layers (*A. odoratus*) of radial and tangential elongated sclerenchymatic cells. The inner epidermis is a single layer on the endocarp (Figure 6A, E). The surface ornamentation of the fruit is reticulate in two species. The thickness of the muri is $6.09 \pm 0.38 \mu\text{m}$, lumen size is $23.81 \pm 5.73 \mu\text{m}$ in *A. falcatus*, while the thickness of the muri is $6.65 \pm 0.42 \mu\text{m}$, lumen size is $17.24 \pm 2.15 \mu\text{m}$ (Figure 6B, F). There are few anomocytic stomata and ornamented verrucate, 4.71 ± 0.48 wart (*A. falcatus*) and 4.09 ± 0.5 wart (*A. odoratus*) in $100 \mu\text{m}^2$, bifurcate trichomes (Figure 6C, D, G, H).

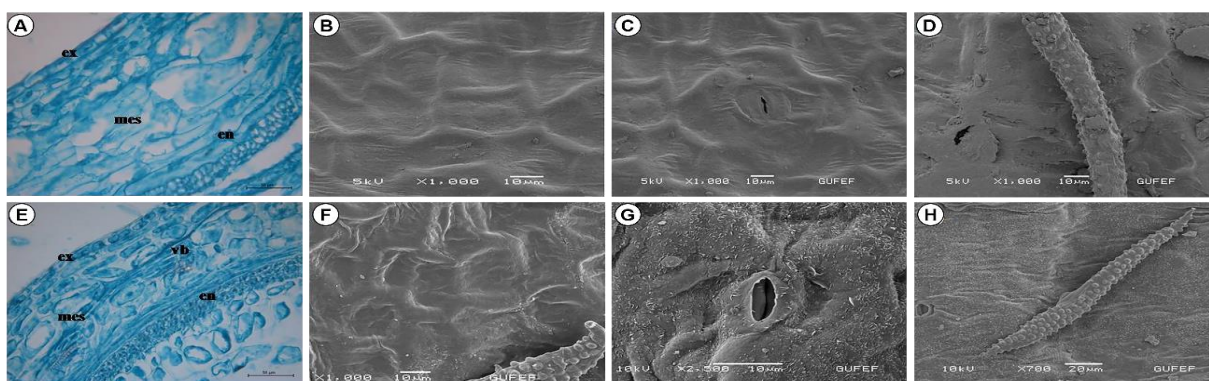


Figure 6. Fruit anatomy and micromorphology of *Astragalus falcatus* (A–D) and *A. odoratus* (E–H): transverse section of the fruit showing pericarp structure (A, E), reticulate sculpture under SEM (B, F), stoma under SEM (C, G), parts of trichome under SEM (D, H). en: endocarp, ex: exocarp, mes: mesocarp, vb: vascular bundle

In terms of fruit anatomy no significant differences are found between the two species. Our results are consistent with those of Mourad and Sharawy (2010). Moreover they noticed not only reticulate but also irregular reticulate, scalariform and rugose ornamentation in their studied *Astragalus* species. In contrast them, the fruit surface only shows reticulate ornamentation in our investigated two species.

Pollen Morphological Characteristics

The pollen grains of *A. falcatus* and *A. odoratus* are isopolar and radially symmetrical. Simons and Chinappa (2004) stated that the aperture type of *Astragalus* is generally tricolporate and also Akan et al. (2005) found only tricolporate apertures in the section *Alopecuroidei* DC. Our results are congruent with these researchers' findings. Pollens of the *Uliginosi* section are homogeneous and they are tricolporate.

The shape of them is prolate-spheroidal with the polar axis $24.53 \pm 0.8 \mu\text{m}$ and the equatorial axis $21.82 \pm 0.9 \mu\text{m}$ in *A. falcatus*. In *A. odoratus*, the sizes of the polar axis and equatorial axis are $26.50 \pm 0.94 \mu\text{m}$ and $22.70 \pm 0.78 \mu\text{m}$, respectively. Colpi are long and narrow with clear margins. Pores are lalongate in *A. falcatus*, whereas they are 50% circular and 50% lalongate in *A. odoratus*. The membrane of the apertures is granulate. The exine is subtectate; the ectexine is thicker than the endexine. The exine ornamentation of pollen grains of the two species is different. In *A. falcatus* the ornamentation is microreticulate in the meridional and polar optical sections and it is 90% microreticulate, 5% microrugulate and 5% perforate in equatorial optical section; 95% microreticulate-perforate, 5% perforate in polar optical section in *A. odoratus* (Figures 7, 8). While the general ornamentation in *Astragalus* species is microreticulate (Simons and Chinappa, 2004), the studied *A. odoratus* shows considerable variation in ornamentation type. The heteromorphy in pollen grains is based on some variations in ornamentation type (Mukherji, 1951; Nair and Kaul, 1965; Sharma, 1967; İnceoğlu, 1973). Oskouian et al. (2007) commonly observed reticulate exine sculpturing and seldom verrucate, Pınar et al. (2009) found microreticulate, but rarely reticulate or rugulate sculpturing in the equatorial region, psilate and perforate sculpturing in the polar region, and Çeter et al. (2013) noticed reticulate, perforate in polar section and perforate, reticulate, microreticulate, perforate-granulate, microreticulate-perforate, microrugulate-perforate, microrugulate-microreticulate, granulate-perforate, microreticulate-granulate sculpturing in equatorial region. Exine sculpturing on equatorial and polar optical sections has a systematic value for distinguishing taxa from each other. The detailed pollen morphological characters of two species are given Table 2.

Table 2. Pollen morphological data of *Astragalus falcatus* and *A. odoratus* (values in μm)

Species/ Characters		<i>Astragalus falcatus</i>	<i>Astragalus odoratus</i>
Polar Axes	Min.	23.07	24.6
	Max.	26.7	28.3
	Mean	24.5	26.5
Equatorial Axes	Min.	19.5	20.9
	Max.	23.3	24.2
	Mean	21.8	22.7
P/E ratio, Pollen Shape		1.12, Prolate-spheroidal	1.16, Prolate-spheroidal
Aperture Type		Trizonocolporate	Trizonocolporate
Ornamentation	Meridional	Microreticulate	90% Microreticulate, 5% Microrugulate, 5% Perforate
	Polar	Microreticulate	95% Microreticulate-perforate, 5% Perforate
Colpus (Cl)	Clg	20.97 ± 0.69	20.81 ± 0.78
	Clt	4.1 ± 0.35	5.11 ± 0.63
Pore (Pl)	Plg	6.56 ± 0.34	7.05 ± 0.55
	Plt	8.14 ± 0.33	8.43 ± 0.47
Exine thickness		0.43 ± 0.02	0.63 ± 0.09
Intine thickness		0.37 ± 0.02	0.47 ± 0.05

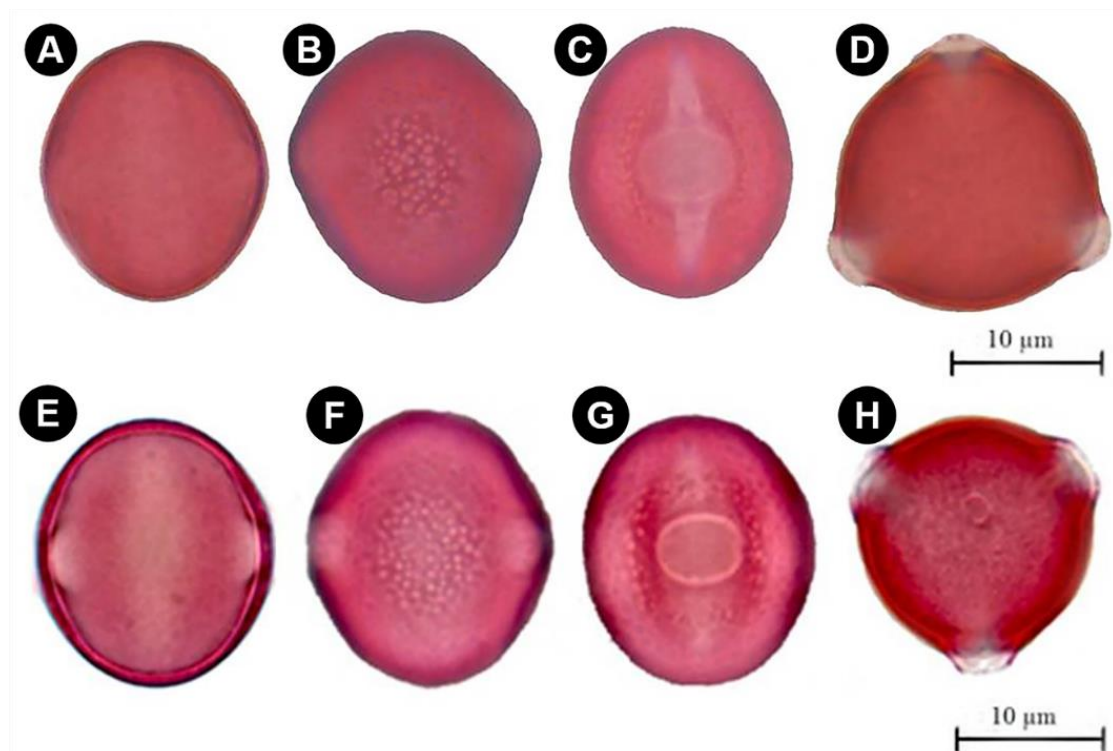


Figure 7. LM micrographs of pollen grains of *Astragalus falcatus* (A–D) and *A. odoratus* (E–H): equatorial view (A, E), ornamentation (B, F), apertures (C, G), polar view (D, H)

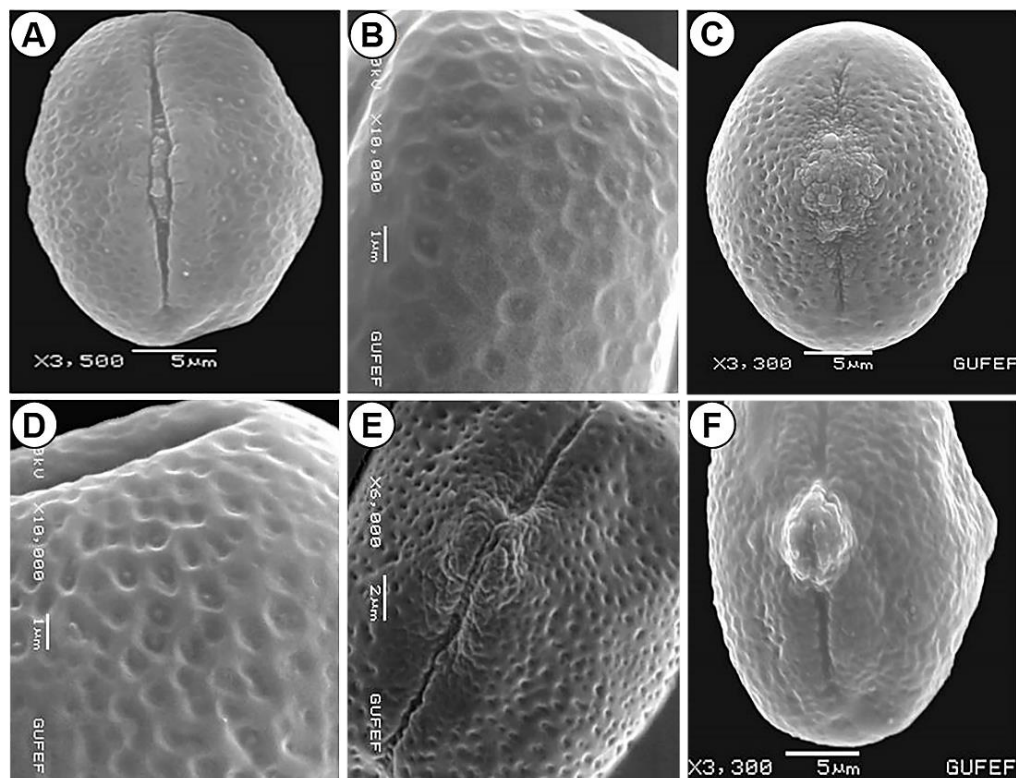


Figure 8. SEM micrographs of pollen grains of *Astragalus falcatus* (A, B) and *A. odoratus* (C–F): equatorial view and apertures (A, C), microreticulate ornamentation (B, D), perforate ornamentation (E), rugulate ornamentation (F)

CONCLUSION

The shape of stem and petiole, the number of vascular bundles in petiole and exine sculpturing at equatorial and polar regions of pollen grains have showed variations among the our studied species. Therefore, according to our findings from anatomy, palynology and micromorphology of 2 species of

the genus *Astragalus* belonging to the section *Uliginosi*, the stem and petiole anatomy and also exine ornamentation are valuable characteristics for distinguishing the species. Similarly, Haddad and Barnett (1989), Mehrabian et al. (2007), Pınar et al. (2009) and also Çeter et al. (2013) observed differences in these properties in their investigated *Astragalus* taxa and stated the importance of them for separating the taxa. As there is no significant differences in the micromorphologies of leaflet and fruit between the two species, these properties are not useful for the discrimination of species at species rank.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank to Gazi University Research Fund (05/2010-54) for its financial contribution.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Akan H, Tatlıdil S, Bıçakçı A, 2005. Pollen morphology of *Astragalus* L. section *Alopecuroidei* DC. (Fabaceae) in Turkey. *International Journal of Botany*, 1: 50-58.
- Al-Ghamadi F, El-Deen Osman AK, Guetat A, 2013. Contributions to the morphology of *Alopecuroidei* DC. (Fabaceae) in Turkey. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 12: 176-189.
- Bagheri A, Roofigar AA, Abbasi S, Maassoumi, AA, Rutten T, Blatner FR, 2019. Pollen morphology of *Astragalus* section *Hymenostegis* (Fabaceae) and evaluation of its systematic implications. *Grana*, 58: 328-336.
- Barneby R, 1964. Atlas of North American *Astragalus*. *Memoirs of The New York Botanical Garden*, 13: 1-1188.
- Bunge A, 1868. *Generis Astragali species Gerontogaeae. Pars prior. Claves diagnosticae. Mémoires de l'Académie impériale des sciences de St. Pétersbourg*, 11: 1-140.
- Bunge A, 1869. *Generis Astragali species Gerontogaeae. Pars altera. Specierum enumeratio. Diagnosticae. Mémoires de l'Académie impériale des sciences de St. Pétersbourg*, 15: 1-245.
- Chamberlain DF, Matthews VA, 1970. *Astragalus* L. In: Davis PH. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. 3. Edinburgh University Press: pp. 49-254, Edinburgh.
- Çeter T, Ekici M, Pınar NM, Özbek F, 2013. Pollen morphology of *Astragalus* L. section *Hololeuce* Bunge (Fabaceae) in Turkey. *Acta Botanica Gallica*, 160: 43-52.
- Çobanoğlu D, 1989. Morphological features of *Astragalus macrouroides* Hub.-Mor., *Astragalus altanii* Hub.-Mor., and *Astragalus elazigense* Ekim (Fabaceae). *Doğa TU Botanik Dergisi*, 13: 17-33.
- Duman H, Aytaç Z, Özbek F, 2020. *Astragalus aybarsii* a new species of sect. *Onobrychoidei* DC. (Fabaceae) from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 44: 661-669.
- Ekici M, Akan H, Aytaç Z, 2015. Taxonomic revision of *Astragalus* L. section *Onobrychoidei* DC. (Fabaceae) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 39: 708-745.
- Ekici M, Yüzbaşıoğlu D, Aytaç Z, 2005. Morphology, pollen, seed structure and karyological study on *Astragalus ovalis* Boiss. and Balansa (Sect. *Ammodendron*) in Turkey. *International Journal of Botany*, 1: 74-78.
- Erdtman G, 1969. *Handbook of palynology, morphology, taxonomy and ecology*. pp. 1-486, Munksgaard, Copenhagen.

- Evren H, Çobanoğlu D, 1993. Morphological and anatomical features of *Astragalus vexillaris* Boiss. and *Astragalus densifolius* Lam. (Fabaceae). Turkish Journal of Botany, 17: 81-90.
- Faegri K, Iversen J, 1992. Textbook of pollen analysis, 4th edition. Wiley: pp. 1-328, New York.
- Gontscharov NF, Borissova AG, Gorschkova SG, Popov MG, Vassilczenko IT, 1946. *Astragalus* L. In: Komarov VL and Shishkin BK. Flora USSR., vol. 12. Editio Academiae Scientiarum URSS: pp. 1-918, Leningrad, Moscow.
- Grohar M, Rosenfeldt S, Morales M, 2016. Leaflet trichome micromorphology in the *Dolentes–Brevipedes* taxonomic complex (*Mimosa* L., *Mimosoideae*). Turkish Journal of Botany, 40: 45-58.
- Haddad RS, Barnett JR, 1989. Variation in petiole anatomy of the European spiny species of *Astragalus* L. (Leguminosae-Papilionoideae-Galegeae). Botanical Journal of the Linnean Society, 101: 241-247.
- İnceoğlu O, 1973. Pollen morphology of *Asyneuma canescens* (W.K.) Griseb. & Schenk and heteromorphy pollen grains. Türk Biyoloji Dergisi, 23: 89-94.
- Johansen DA, 1944. Plant microtechnique. McGraw-Hill: pp. 1-523, New York.
- Karaman S, Suludere Z, Pınar M, Aytaç Z, 2009. The leaflets micromorphology of *Oxytropis* DC. (Leguminosae) in Turkey by SEM. Botany Research Journal, 2: 7-23.
- Kazempour Osaloo S, Maassoumi AA, Murakami N, 2003. Molecular systematics of the genus *Astragalus* L. (Fabaceae): Phylogenetic analyses of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers and chloroplast gene *ndhF* sequences. Plant Systematics and Evolution, 242: 1-32.
- Maassoumi AA, 1998. *Astragalus* in the Old World, Check-List. Research Institute of Forest and Rangeland: pp. 1-617, Tehran, Iran.
- Mehrabian AR, Zarre SH, Azizian D, Podlech D, 2007. Petiole anatomy in *Astragalus* sect. *Incarni* DC. (Fabaceae) in Iran. Iranian Journal of Botany, 13: 138-145.
- Metcalf CR, Chalk L, 1957. Anatomy of the dicotyledons, vol. 2. The Clarendon Press: pp. 476-535, Oxford.
- Metin H, Çeter T, Karaman Erkul S, 2018. Micromorphological characters of pollen, leaflet and seed of *Astragalus victoriae* and *Astragalus melanophrurius* endemic to Turkey. Mellifera, 18: 22-29.
- Mourad MM, Sharawy SM, 2010. The interspecific relationships of *Astragalus* species in Egypt assessed by the morphoanatomical characters of the pod. Feddes Repertorium, 121: 38-58.
- Mukherji S, 1951. Pollen analyses in *Mangifera* in relation to fruit set and taxonomy. The Journal of the Indian Botanical Society, 30: 49-56.
- Nair PKK, Kaul KN, 1965. Pollen grain in a gigantic of *Rauwolfia* serpentine. Current Science, 34: 256-257.
- Oskouian R, Kazempour Osaloo S, Maasoumi AA, 2007. Pollen morphology of *Astragalus* section *Malacothrix* and its allies (Fabaceae) in Iran. Journal of Science, 32: 177-181.
- Perveen A, Qaiser M, 1998. Pollen Flora of Pakistan-VIII Leguminosae (subfamily: Papilionoideae). Turkish Journal of Botany, 22: 73-92.
- Pınar NM, Ekici M, Aytaç Z, Akan H, Çeter T, Alan Ş, 2009. Pollen morphology of *Astragalus* L. sect. *Onobrychoidei* DC. (Fabaceae) in Turkey. Turkish Journal of Botany, 33: 291-303.
- Pirani A, Zarre SH, Tillich HJ, Podlech D, Niknam V, 2006. Spine anatomy and its systematic application in *Astragalus* sect. *Rhacophorus* s. L. (Fabaceae) in Iran. Flora, 201: 240-247.
- Podlech D, 1982. Neue Aspekte zur Evolution und Gliederung der Gattung *Astragalus* L. Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung München, 18: 359-378.
- Podlech D, 1994. Revision der altweltlichen anuellen Arten der Gattung *Astragalus* L. (Leguminosae). Sendtnera, 2: 39-170.

- Podlech D, 1998. Phylogeny and progression of characters in Old World *Astragali* (Leguminosae). In: Zhang A and Wu S. Floristic Characteristics and Diversity of East Asian Plants. China Higher Education Press: pp. 405-407, Beijing.
- Podlech D, Zarre S, 2013. A taxonomic revision of the genus *Astragalus* L. (Leguminosae) in the Old World, vol. 2. Naturhistorisches Museum Wien: pp. 1540-1550, Austria.
- Punt W, Hoen PP, Blackmore S, Nilsson S, Le Thomas A, 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 143: 1-81.
- Saghi MR, Jafari A, Yazdanbakhsh Z, 2015. Anatomical study of *Astragalus* sect. *Caprini* (Leguminosae) from NE Iran. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 7: 173-180.
- Sharma BD, 1967. Pollen abnormalities in *Helicteres isora* L. *Botanical Survey of India*, 53-61.
- Simons EP, Chinnappa CC, 2004. Pollen morphology and taxonomic status of North American *Astragalus* and *Oxytropis* (Papilionoideae: Fabaceae). *Beitrage zur Biologie der Pflanzen*, 73: 307-319.
- Tewari RB, Nair PKK, 1979. Pollen morphology of some Indian Papilionaceae. *Journal of Palynology*, 15: 49-73.
- Vural C, Ekici M, Akan H, Aytaç Z, 2008. Seed morphology and its systematic implications for genus *Astragalus* L. sections *Onobrychoidei* DC., *Uliginosi* Gray, and *Ornithopodium* Bunge (Fabaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 274: 255-263.
- Wodehouse RP, 1935. *Pollen Grains*. McGraw-Hill: pp. 1-574, New York, USA.

Atf İçin: Atçı E, Akan H, 2021. Cittaslow Şehri Halfeti (Şanlıurfa)'nin "Meyve Yemekleri Festivali"nin Etnobotanik Açından Değerlendirilmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2537-2548.

To Cite: Atçı E, Akan H, 2021. Ethnobotanical Evaluation of "Fruit Food Festival" of Halfeti (Şanlıurfa), Cittaslow City. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2537-2548.

Cittaslow Şehri Halfeti (Şanlıurfa)'nin "Meyve Yemekleri Festivali"nin Etnobotanik Açından Değerlendirilmesi

Emine ATÇI¹, Hasan AKAN^{1*}

ÖZET: Bu araştırmanın amacı 2016 yılından beri Halfeti'de geleneksel olarak düzenlenen Meyve Yemekleri festivalindeki kullanılan bitkilerin etnobotanik açıdan değerlendirilmesidir. Cittaslow Uluslararası "sakin şehir" ağına dâhil olan Halfeti'de slowfood organizasyonunun öncülüğünde her sene meyve yemekleri festivali düzenlenmektedir. Bu sene beşincisi düzenlenen festivalde yörede yetişen bitkilerden yapılan Erik Tava, Yenidünya Kebabı, Nar Ekşili Soğan Kebabı, Ayva Güveci ve Karışık Kuru Meyve Pilavı gibi çok sayıda meyve yemeklerinin sunulduğu gözlenmiştir. Ancak önceki yıllarda Yumurtalı Erik, Kavun Dolması, Ayva Dolması, Erikli Sote, Dut Soslu Şabut Balık ve Dut Pilavı gibi 25 farklı meyve yemeklerinden yapılan lezzetlerin sergilendiği tespit edilmiştir. Festivalde sunumu yapılan yemeklerde kullanılan bitkilerin 20 familya ve 41 bitkiye ait olduğu tespit edilmiştir. Gastronomi turizmi açısından da önemli bir etkinlik olan bu festivalde yöre halkının yemek kültürünün tanıtılması ve gelecek kuşaklara aktarılması da hedeflenmektedir. Yemeklerde kullanılan bitkilerin etnobotanik özellikleri 12 yerleşim yerinde yapılmış ve 45 kaynak kişiden bilgi alınmıştır. Bu makalede, Halfeti'de geleneksel olarak düzenlenen "Meyve Yemekleri Festivali" inde sunulan yöresel yemeklerin yapımında kullanılan bitkilerin bilimsel ve yöresel isimleri, hangi yemeklerde nasıl kullanıldığı ve bu bitkilerden yapılmış bazı yemeklerin görsellerine yer verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Etnobotanik, festival, gastronomi, Halfeti, meyve yemekleri

Ethnobotanical Evaluation of "Fruit Food Festival" of Halfeti (Şanlıurfa), Cittaslow City

ABSTRACT: The aim of this research is to evaluate the plants used in the Fruit Food Festival traditionally held in Halfeti since 2016 in terms of ethnobotany. In Halfeti, which is included in the Cittaslow International "slow city" network, a fruit food festival is held every year under the leadership of the slowfood organization. In the festival, which was held for the fifth time this year, it was observed that many fruit dishes such as Plum Pan, Loquat Kebab, Pomegranate Sour Onion Kebab, Quince Casserole and Mixed Dried Fruit Rice were served. However, in previous years, it was determined that tastes made from 25 different fruit dishes such as plum with egg, stuffed melon, stuffed plum, sauteed plum, fish sauced with mulberry and mulberry pilaf were exhibited. It has been determined that the plants used in the meals and presented at the Fruit Food Festival belong to 20 families and 41 plant species. In this festival, which is an important event in terms of gastronomic tourism, it is also aimed to introduce the food culture of the local people made from plants and to transfer them to future generations. The ethnobotanical characteristics of the plants used in the dishes were made in 12 settlements and information was obtained from 45 sources. In this article, scientific and local names of the plants used in the production of the local dishes presented in the "Fruit Food Festival" traditionally held in Halfeti, in which dishes they are used, and the visuals of the dishes made from these plants are given.

Keywords: Ethnobotany, festival, gastronomy, Halfeti, fruit dishes

¹Emine ATÇI ([Orcid ID: 0000-0002-3541-0814](https://orcid.org/0000-0002-3541-0814)), Hasan AKAN ([Orcid ID: 0000-0002-3033-4349](https://orcid.org/0000-0002-3033-4349)), Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hasan AKAN, e-mail: hakan@harran.edu.tr

Tez alıntısı: Bu çalışma Emine ATÇI'nın Doktora tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Beslenme insanlığın temel ihtiyacıdır. Günümüzde insanlar bu temel ihtiyacı büyük oranda fastfood zincirleri ile karşılamaktadır. Çağımızda hızlı yaşamın olumsuz etkileri nedeniyle alternatif bir yaşam tarzı olan Cittaslow hareketi ve buna bağlı olarak slowfood hareketinin gelişmesine neden olmuştur. Halfeti, tarihi mirası, geleneksel mutfağı, eşsiz kültürü ve sıra dışı coğrafyasıyla 2013 yılında Uluslararası Cittaslow birliğine üyeliği kabul edilmiş ve güneydoğunun ilk "sakin şehir unvanını almıştır (Anonim, 2021). Bu durum yerli ve yabancı birçok turistini ilgisini çekmiştir (Olca ve ark., 2017). Slowfood hareketinin gelişmesi ve yaygınlaşması düşüncesi ile her sene geleneksel olarak "Halfeti Meyve Yemekleri Festivali" düzenlenmektedir. Halfeti sular altında kalmadan önce nehir kenarında her çeşit meyvelerin yetiştirildiği ve bu meyvelerle de her çeşit meyve yemeklerinin yapıldığı bilinmektedir.

Dünyadaki festivallerin %30'unu gastronomi festivalleri oluşturmaktadır (Doğdubay ve İlsay, 2016). Gastronomi festivalleri yöreye özgü mutfak kültürleri ve lezzetleri gibi birçok unsuru içinde barındırmaktadır (Cohen ve Avieli, 2004). Böylece, gıda ve tarımsal çeşitliliğin korunmasını teşvik etmekte ve yerel ürünlerin sürdürülmesine yardımcı olmaktadır (Hall ve Sharples, 2003).

İlçenin simgesi haline gelmiş ve adına diziler çekilmiş olan Siyah gülü (*Rosa odorata* (Andrews) Sweet 'Louis XIV' Martyn Rix) 2021 yılında coğrafi işaret tescilini alan güller arasına girmiştir. Halfeti'nin Kara Gülü, 1859 yılında Fransız gül yetiştiricisi Guillot tarafından üretilen "14. Louis" türü olduğu belirlenmiştir (Özçelik, 2018).

Bu çalışmada, 2016-2021 yılları arasında düzenlenen "Halfeti (Şanlıurfa) Meyve Yemekleri Festivali" inde sergilenen bitkisel ürünlerin etnobotanik açıdan değerlendirilmesi ve meyve yemeklerinin halk kültürü ile ilişkisinin ortaya çıkartılması amacıyla yapılmıştır.

Çalışmamızla alakalı direkt bir araştırmaya rastlanmamıştır ancak ülkemizde gastronomi (yemek/gıda) festivalleri ile alakalı; Deveci ve ark. (2013), Aksoy ve Sezgi (2015), Özkan ve ark. (2015), Bakırcı ve ark. (2017), Kurnaz ve ark. (2018), Saatici ve ark. (2018), Çetin ve ark. (2019), Doğan (2019), Keleş ve Demirdağ (2019), Özbay ve ark. (2020) ve Demirci ve ark. (2020)'nin çalışmaları mevcuttur.

MATERYAL VE METOT

Alan Seçimi ve Özellikleri

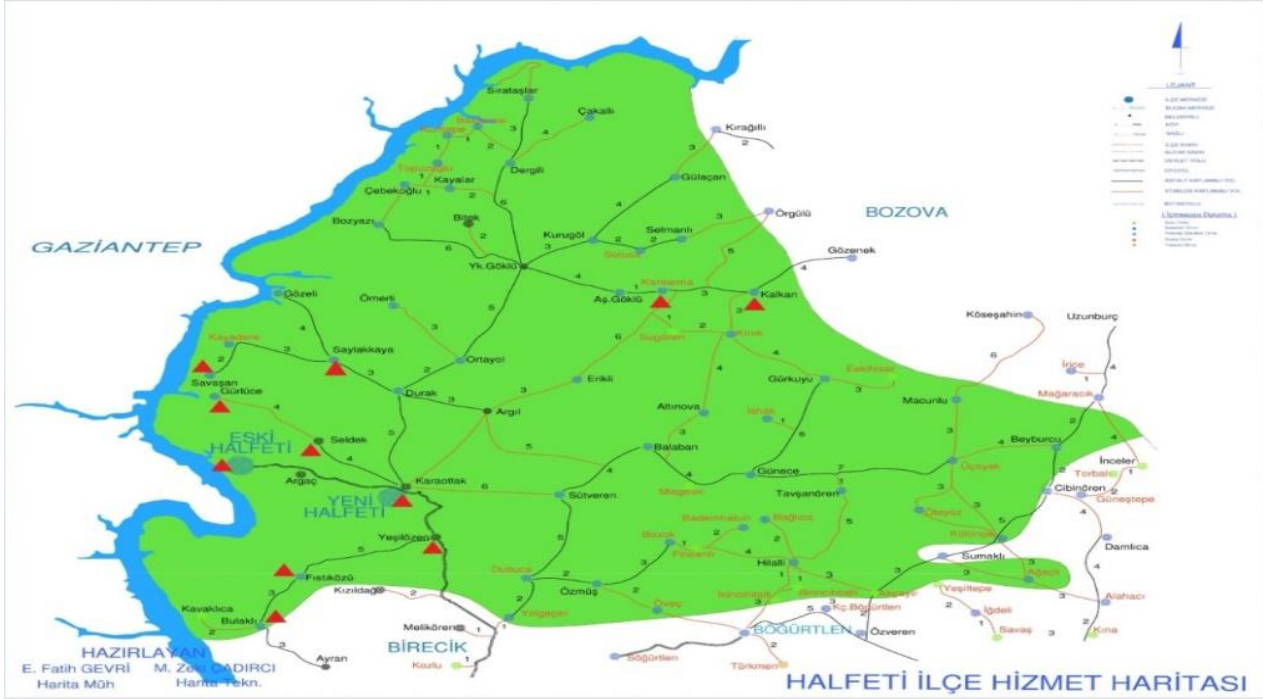
Halfeti, Şanlıurfa il merkezinin 130 km batısında, Fırat nehrinin doğusunda yer almaktadır (Şekil 1). Yüzölçümü 643 km²'dir (Anonim, 2019). Rakım 525 metredir (Boyras ve Bostancı, 2015). 2020 yılı Genel Nüfusuna göre ilçenin nüfusu 41.258'dir. İlçede karasal iklimin etkisi görülmele beraber Akdeniz'e yakınlık nedeniyle de bir mikroklima özellik gösterir (Karabulut, 2017). Halfeti'de alıç, elma, armut, ayva, bergamot, erik, kiraz, vişne ve fındık gibi birçok meyve türleri yetiştirilmektedir (Benek, 2006).

Kaynak kişiler ve etnobotanik bilgi formları

Her sene geleneksel olarak bahar aylarında yapılan meyve yemekleri festivali bu sene 10-11 Nisan 2021 tarihleri arasında düzenlenmiştir. Festivalde sergilenen meyve yemekleri ile alakalı bilgi alınan kişiler Slowfood, kaymakamlık ve belediye yetkilileri, Halk Eğitim Müdürlüğünde yemek yapan kadınlar, festival organizasyonunda görev alan aşçılar, meyvelerin toplandığı yerleşim yerlerindeki yerel insanlar, muhtarlar, festivale katılan ziyaretçiler, yerli ve yabancı turistlerdir.

Bu çalışmada yüz yüze görüşmeler ile yarı yapılandırılmış ve katılımlı gözlem tekniği kullanılarak görüşmeler sağlanmış ve etnobotanik bilgi formları düzenlenmiştir (Çizelge 1).

Araştırma alanı, Davis'in kareleme (Grid) sistemine göre C7 karesinde yer almaktadır (Davis, 1965).



Şekil 1. Çalışma alanının harita üzerindeki konumu (Halfeti kaymakamlığından temin edilmiştir)

Çizelge 1: Etnobotanik bilgi formu

Festivalde sergilenen yemeklerin isimleri ve yapılışı
Yemeklerde kullanılan bitkilerin yöresel isimleri
Bitkilerin kullanılan kısımları
Bitkilerin yemeklerdeki kullanım şekli
Kaynak kişinin bilgileri (yaşı, eğitim durumu ve mesleği)

Araştırma kapsamında Yeni Halfeti, Eski Halfeti, Savaşan, Gürlüce, Seldek, Bulaklı, Yeşilözen, Fıstıközü, Gözeli, Saylakkaya, Kantırma ve Kalkan olmak üzere 12 mahallede 45 kaynak kişi ile birebir görüşmeler yapılmıştır.

Görsellerin makalede verilmesi: Festivalde sergilenen meyve yemeklerinin bazı fotoğrafları Şekil 6 A-J'de verilmiştir.

Bitkilerin teşhisi ve adlandırılması: Toplanan bitkilerin teşhisi için Türkiye Florası (Davis, 1965-85), (Davis ve ark., 1988), (Güner ve ark., 2000), Resimli Türkiye Florası 1. cilt (Güner, 2014) ve 2. Cilt (Güner ve ark., 2018) adlı eserlerden yararlanılmıştır. Çalışma alanındaki Bitkilerin listesi ve otör isimleri (Güner ve ark., 2012; Anonim 2013)'e göre verilmiştir. Bitki örnekleri Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunda (HARRAN) muhafaza edilmektedir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Halfeti meyve yemeklerinin etnobotanik özellikleri ile ilgili bilgiler Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2: Festivalde sergilenen meyve yemekleri ve içeceklerin isimleri ve yapılışı

Yemeğin Adı	Yemekte Kullanılan Meyve ve Diğer Bitki Çeşitlerinin Türkçe İsimleri	Kullanılan Bitkilerin Yöresel İsimleri	Yemeklerin Yapımında Kullanılan Bitkilerin Bilimsel Simleri	Yiyecek ve İçeceklerin Yapılışı
Patlak Aşı (Patlak kavurması)	Ham İncir Meyvesi	Patlak Hayır	<i>Ficus carica</i> L. subsp. <i>carica</i>	İncirler temizlenir, ikiye bölünür. haşlanır, süzgeçten geçirilir, tuz, baharat, salça ilave edilir ve zeytinyağında kavrulur. Pişmiş yumurta eklenir.
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
	Kırmızı Pul Biberi	İsot, İsota Sor	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Biber Salçası	Biber Reçeli	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Zeytinyağı	Zeyta Zeytunan	<i>Olea europaea</i> L.	
Çağla Aşı	Badem	Çağla, Çağale, Payam,	<i>Amygdalus communis</i> L.	Çağla meyvesinin çekirdekleri çıkarılır, haşlanır, süzülür, kuşbaşı eti, nohut, tuz ve baharat eklenir. Süzme yoğurt ve yumurtayı pişirilen yemeğin içine konulur. Tereyağı safran tavada kızdırıp serpilir.
	Nohut	Nohut	<i>Cicer arietinum</i> L.	
	Safran	Zaferan	<i>Crocus sativus</i> L.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
Erik Tava (Erik Aşı)	Yeşil Erik	Herug	<i>Prunus x domestica</i> L.	Erik tava yemeği için kuzu eti fırın kabına konulur, soğan, sarımsak, biber ve baharatlarla birlikte zeytinyağı eklenir. Sonra erikler domateslerle birlikte eklenir. Odun fırınında pişirilir.
	Zeytin yağı	Zeyta Zeytunan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Kara Kekik,	Zahter, Ceğdi, Teğlik	<i>Thymus vulgaris</i> L.	
	Kimyon	Kemun	<i>Cuminum cyminum</i> L.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
	Domates	Bacanê Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
	Arpacık Soğan	Pîvaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Sarımsak	Sîr	<i>Allium sativum</i> L.	
	Kırmızı toz Biber Biber Salçası	İsot, İsota Sor Biber Reçeli	<i>Capsicum annuum</i> L.	
Nar Ekşili Soğan Kebabı (kebaba pivaz)	Soğan	pîvaz	<i>Allium cepa</i> L.	Nar ekşili soğan kebabı için yoğurma kabına kıyma konulur, tuz ve baharat ilave edilir, ikiye bölünmüş soğanların arasına yoğurulmuş et köfte halinde yerleştirilir, nar ekşisi ve salça serpştirilir, fırında pişirilir.
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
	Kırmızı Toz Biber	İsot, İsota Sor	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Nar Ekşisi	Henar tırş Henare dımıs	<i>Punica granatum</i> L.	
	Domates (salça)	Bacanê Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
Ayva Güveci	Ayva	Ayva	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Ayva güveci için kuzu eti ayva, patates, havuç ve soğanla birlikte güveç çanağında zeytinyağı ile kavrulur. Su ve baharatlar eklenerek fırında pişirilir.
	Patates	Pataes	<i>Solanum tuberosum</i> L.	
	Kekik	Zahter, Ceğdi, Teğlik	<i>Thymbra spicata</i> L.	
	Havuç	Gizêr	<i>Daucus carota</i> L.	
	Soğan	Pîvaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Domates (Salça)	Bacanê Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
	Zeytin yağı	Zeyta Zeytunan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Karabiber	Bibera reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
	Pul Biber,	İsot, İsota Sor	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Yeşilbiber	Biber	<i>Capsicum annuum</i> L.	

Çizelge 2'nin devamı

Yenidünya Kebabı	Yeni Dünya	Yengi dünya	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Yenidünya kebabı için tuz ve baharatla yoğrulmuş kıyma eti hazırlanır, çekirdeği çıkartılmış yenidünya meyvesinin içine kıyma eti yerleştirilir, yağlanmış fırın tepsisine dizilir, üzerine domates, yeşil biber ve kuru soğan ve fırında pişirilir.
	Soğan	Pıvaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
	Zeytin Yağ	Zeyta Zeytûnan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Yeşil Biber	Biber	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Domates	Bacanê Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
Kuru Meyveli İç Pilav	Pirinç	Riz, Birinc	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>sativa</i> L.	Islatılmış pirinç, tereyağlı tencereye alınır, tuz ve baharat eklenir, kısık ateşte pişirilirken kuru yemiş ve kuru meyvelerle harmanlanır ve tekrar pişirilir.
	Badem	Çağla, Çağale, Payam	<i>Amygdalus communis</i> L.	
	Antep Fıstığı	Fıstık	<i>Pistacia vera</i> L.	
	Üzüm	Tırı	<i>Vitis vinifera</i>	
	Kayısı	Kayısı	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	
Kavun Dolması	Kavun	Kelek	<i>Cucumis melo</i> L.	Kavun dolması için kavunun çekirdekleri temizlenir, içi oyulur, haşlanmış pirinç, soğan, et kıyma ve baharatlardan oluşan karışım kavunun içine konulur ve kavunun kapağı kapatılarak fırında pişirilir.
	Pirinç	Riz Birinc	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>sativa</i> L.	
	Kuş Üzümü	Tırı	<i>Vitis vinifera</i> L.	
	Zeytinyağı	Zeyta Zeytûnan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Badem	Çağla, Çağale, Payam	<i>Amygdalus communis</i> L.	
	Çam Fıstığı	Fıstığı Çama	<i>Pinus pinea</i> L.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
	Kışniş	Kışniş	<i>Coriandrum sativum</i> L.	
Biberiye	Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.		
Nohut Tava	Soğan	Pıvaz	<i>Allium cepa</i> L.	Nohut tava için ıslatılmış nohut, soğan, yeşilbiber, kırmızıbiber, salça ve baharatlar harmanlanarak tepsiye yayılır ve odun fırında pişirilir.
	Nohut	Noğut	<i>Cicer arietinum</i> L.	
	Kırmızı Biber,	İsot, İsota Sor	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Yeşilbiber	İsotu Kesk	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Zeytinyağı	Zeyta Zeytûnan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Soğan	Pıvaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Domates (Salçası)	Bacanê Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
Patlıcan Kebabı (Kebabe bacanê reş)	Patlıcan	Beğcan	<i>Solanum melongena</i> L.	Patlıcan kebabı için patlıcanlar kesilir, et kıyma baharatlarla yoğrulur, şişe dizilir, mangalda pişirilir.
	Kırmızı biber	İsot, İsota Sor	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Domates	Bacanê Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
Kayısı Tavuk Sote	Kayısı	Kayısı	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	Kayısı tavuk sote için arpacık soğanlar tereyağında kavrulur, tavuk eti ilave edilir, üzerine tuz, baharat, krema ve kayısı eklenerek tavada pişirilir.
	Arpacık Soğan	Pıvaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Kırmızı Biber	İsot, İsota Sor	<i>Capsicum annuum</i> L.	

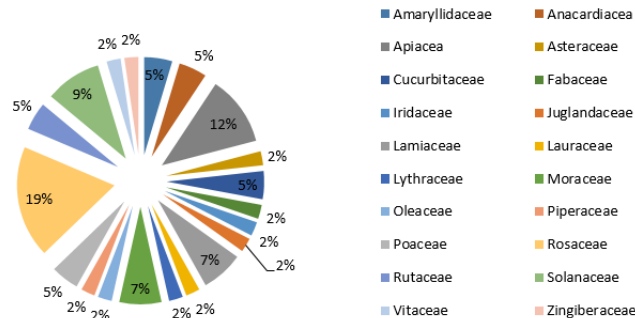
Çizelge 2'nin devamı

Elma Kebabı (kebabe sève)	Yeşil Elma	Sev	<i>Malus x domestica</i> Borkh.	Elma kebabı için et kıyma baharatlarla yoğrulur, elmalar dört parçaya bölünerek arasına et kıyma konular, tepsiye dizilir, üzerine domates, biber ve su katılarak fırında pişirilir.
	Kırmızı toz Biber	İsot, İsota Sor	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Domates	Bacanê Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
	Karabiber	Binera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
Karagül Şerbeti (şerbete güla reş)	Karagül	Siyah Gül Arap Kızı Arap Gelini Güla Reş	<i>Rosa odorata</i> (Andrews) Sweet	Karagül şerbeti için gül yaprakları yıkanır, şeker ile yoğrulur, yoğrulan gül yaprakları bekletilir, tülbent ile süzülür, su ile tencerede kaynatılır, birkaç limon damlası damlatılır, kıvama geldikten sonra tarçın ve nane eklenir.
	Nane	Neğne	<i>Mentha x piperita</i> L.	
	Tarçın	Darçın	<i>Cinnamomum verum</i> L.	
	Limon	Leymun	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f.	
Bergamot Reçeli (Kebate reçeli)	Bergamot	Kebate	<i>Citrus aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle	Bergamot reçeli için bergamotlar yıkanılır, kabuğun içi ve dışı parçalara bölünür, haşlanır, gün içinde birkaç kez suyu değiştirilir, daha sonra toz şeker, limon suyu ve su eklenerek tencerede kaynatılır.
	Limon	Leymun	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f.	
Firik Pilav	Nohut	Noğut	<i>Cicer arietinum</i> L.	Firik pilav için ıslatılmış nohut, ayıklanmış firik ve bulgur karıştırılır. Ayı bir tencerede soğanlar kavurular, sıcak su, tuz ve baharat eklenir. Firik ve bulgur karışımını ilave edilerek ateşte kaynatılır.
	Firik, Bulgur	Bulğur	<i>Triticum aestivum</i> L.	
	Soğan	Pîvaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Zeytinyağı	Zeyta, Zeytûnan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Biber Salçası,	Biber Reçeli	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Kırmızı Pulbiber	İsot, İsota Sor	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
Ayva Dolması	Ayva	Ayva	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Ayva dolması için ayvaların içi oyulur, kararmaması için taze limon suyunda bekletilir, et kıyma, kuru soğan, pirinç, maydanoz, tuz, zeytinyağı ve baharatlardan oluşan iç harcı Ayva meyvesinin içine doldurulur ve tencerede pişirilir.
	Soğan	Pîvaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Zeytinyağı	Zeyta Zeytûnan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Pirinç	Riz Birinc	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>sativa</i> L.	
	Limon	Leymun	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f	
	Üzüm (Pekmezi)	Tiriy	<i>Vitis vinifera</i> L.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
	Kimyon	Kemun	<i>Cuminum cyminum</i> L.	
	Maydanoz	Bexdenûs	<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Nyman A.W.Hill	
Taze Otlu Elmalı Kısır	Bulguru	Bulğur	<i>Triticum aestivum</i> L.	Taze otlu elmalı kısır için elmalar küp şeklinde doğranır. Kısır için domates ve yeşillikler doğranır, baharat, tuz ve salça eklenir, hazırlanan kısırın içine elmalar eklenerek karıştırılır. Daha sonra içine limon, nar suyu ve zeytinyağı ekledikten sonra servis edilir.
	Nane	Neğne	<i>Mentha x piperita</i> L.	
	Maydanoz	Bexdenûs	<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Nyman A.W.Hill	
	Domates	Bacanê Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
	Elma	Sev	<i>Malus domestica</i> Borkh.	
	Soğan	Pîvaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Nar ekşisi	Henar Tırş Henare Dımıs	<i>Punica granatum</i> L.	
	Limon	Leymun	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f	
	Ayçiçeği (yağ)	Gulberojk	<i>Helianthus annuus</i> L.	
Tereyağlı İncir Kavurması	İncir	Patlak Ğayır	<i>Ficus carica</i> L. subsp. <i>carica</i>	İncirleri yıkanır doğranır tavaya yağ ve şekerle alıp kavurular, suyu ilave edilir. Su çekince cevizleri ilave edilir İster ılık ister dondurma eşliğinde soğuk servis edilir.
	Ceviz	Guz	<i>Juglans regia</i> L.	
	Tarçın,	Darçın	<i>Cinnamomum verum</i> L.	

Çizelge 2'nin devamı

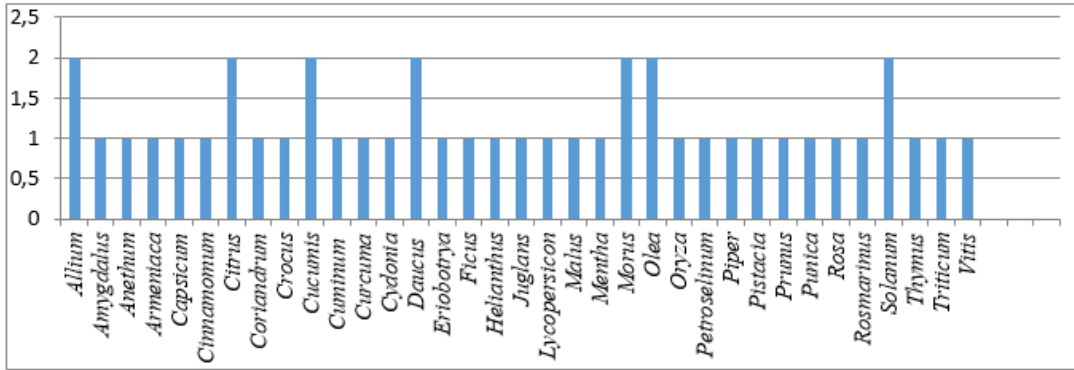
Ayvalı bulgur pilavı	Bulgur	Bulgır	<i>Triticum aestivum</i> L.	Ayvalı bulgur pilavı için ayvalar doğranır ve kararmaması için limon suyunda bekletilir, süzülür, tereyağlı ve zerdeçalı pilavın içine ayvalar katılır ve tencerede pişirilir.
	Ayva	Ayva	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
	Zerdeçal	Zerdeçal	<i>Curcuma longa</i> L.	
	Limon	Leymun	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f	
Dut çullama	(Kuru) Dut	Tu Dut	<i>Morus nigra</i> L.	Dutların sapları ayıklanır, sıcak suda bekletilir, tereyağında kavrulur, üzerine şeker ve yumurta konulur, ceviz içi serpilerek servis edilir
	Ceviz	Guz	<i>Juglans regia</i> L.	
Üzüm boranası	Üzüm (siyah kuru), üzüm (pekmezi)	Tırı	<i>Vitis vinifera</i> L.	Üzüm boranası için bir tencereye kuzu eti konularak tereyağı ve zeytinyağı ile kavrulur, haşlanmış nohut, su, tuz ve baharatlar eklenerek kaynatılır, en sonda üzüm ve üzüm pekmezi eklenerek tencerede tekrar pişirilir.
	Nohut	Nohut	<i>Cicer arietinum</i> L.	
	Zeytin (yağı)	Zeyta Zeytûnan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Biberiye	Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
Seferceliyye (etli Ayva)	Ayva	Ayva	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	Seferceliyye için ayvalar doğranır, kararmaması için limonlu suda bekletilir. Daha sonra kayısı, Ayçiçek yağı ve kuzu eti tencerede kavrulur, ayva meyvesi ve bademler katılır, üzerine su ve bal ilave edilerek pişirilir.
	Badem	Çağla, Çağale, Payam,	<i>Amygdalus communis</i> L.	
	Kuru Kayısı	Kayısı	<i>Armeniaca vulgaris</i> Lam.	
	Ayçiçek	Ayçiçek	<i>Helianthus annuus</i> L.	
Yumurtalı erik	Yeşil Erik	Herug	<i>Prunus x domestica</i> L.	Yumurtalı erik için arpacık soğanları yağda kavrulur, soğanların üzerine yumurtalar ilave edilir, erikler eklenir ve kavurmaya bırakılır. Salça ve baharatlar eklenerek pişirilir, dereotu serpilerek servis edilir.
	Arpacık Soğan	Pivaz	<i>Allium cepa</i> L.	
	Kabak	Kündir	<i>Cucurbita pepo</i> L.	
	Ayçiçeği (yağ)	Gulberojk	<i>Helianthus annuus</i> L.	
	Biber (Salçası)	Biber Reçeli	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Dereotu	Dereotu	<i>Anethum graveolens</i> L.	
	Zerdeçal	Zerteçal	<i>Curcuma longa</i> L.	
Dut soslu şabut balığı	Dut	Tu	<i>Morus nigra</i> L.	Şabut balığı temizlenir, içine salça ve baharatlar konulur, limon suyu, zeytinyağı ve karadut şurubundan oluşan sos ile terbiye edilir. Balığın üzerine kuru soğanlar halka şeklinde doğranarak dizilir ve kurutulmuş karadut tozu serpilerek fırında pişirilir.
	Zeytin (yağı)	Zeyta Zeytûnan	<i>Olea europaea</i> L.	
	Domates (Salça)	Balcane Sor	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	
	Kırmızı Biber,	İsot İsota Sor Pul Biber	<i>Capsicum annuum</i> L.	
	Karabiber	Bibera Reş	<i>Piper nigrum</i> L.	
Karagül reçeli (ricale güla reş)	Soğan	Pivaz	<i>Allium cepa</i> L.	Karagül reçeli için taç yapraklar tencereye alınır, toz şekeri konulur, Şekerli gül karışımı tencerede kaynatılır, pişmeye yakın limon suyu sıkılır ve kıvamına gelene kadar tencerede kaynatılır.
	Karagül	Karagül Siyah Gül Arap Kızı Arap Gelini Güla Reş	<i>Rosa odorata</i> (Andrews) Sweet 'Louis XIV' Martyn Rix	
	Limon	Leymun	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.f	

Bu çalışmada en çok takson içeren familyalar sırasıyla Rosaceae (8), Apiaceae (4), Solanaceae (4) ve Lamiaceae (3)'tür (Şekil 2).



Şekil 2. Familyaların dağılım oranı

Bu çalışmada 35 farklı cinse ait bitkilerin kullanımı tespit edilmiştir. En çok takson içeren cinsler *Allium* (2), *Citrus* (2), *Olea* (2), *Morus* (2), *Cucumis* (2), *Daucus* (2) ve *Solanum* (2)'dir (Şekil 3).



Şekil 3. Cinslerin dağılım oranı

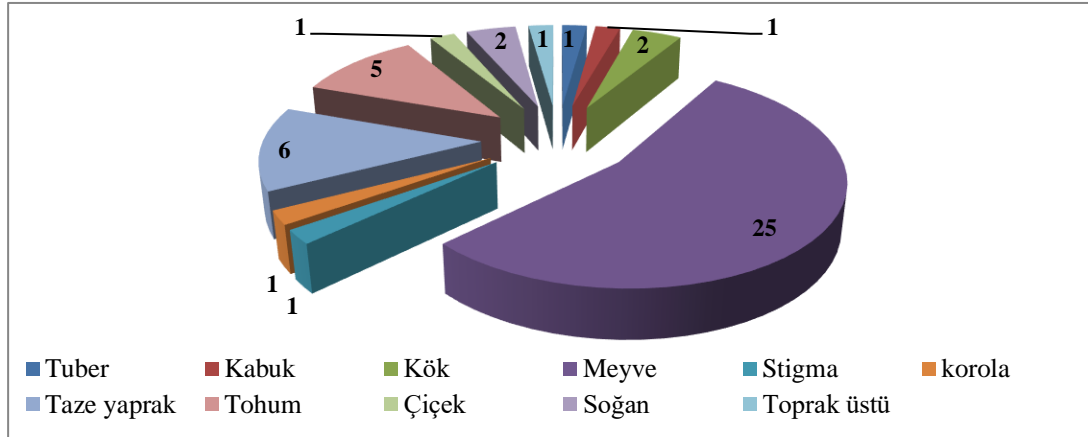
Bu çalışmada farklı etnik grupları yapısında barındıran 12 mahalle pilot olarak seçilmiş ve 45 kaynak kişi ile görüşmeler sağlanmıştır. Görüşme yapılan kaynak kişilerin yaş aralığı 18-82 arasında olup, yaş ortalaması 41'dir. Kaynak kişilerin en çok lise düzeyinde bir eğitime sahip oldukları belirlenmiştir. Kaynak kişilerin demografik bilgileri Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Kaynak kişilerin demografik özellikleri

		f	%		f	%	
Cinsiyet	Kadın	14	31.1	Katılımcıların meslekleri	Esnaf	6	2.7
	Erkek	31	68.8		Memur	1	0.45
Yaş	17-45 yaş	28	62.2		Avukat	1	0.45
	46-65 yaş	14	31.1		Belediye Başkanı	1	0.45
	65 yaş üstü	3	6.6		Eczacı	1	0.45
Eğitim	Okumamış	1	2.2		Parti İlçe Başkanı	1	0.45
	İlkokul	9	20		Halk Eğitim Kursiyeri	5	2.25
	Ortaokul	2	4.4		Ebe	1	0.45
	Lise	20	44.4		Çiftçi	2	0.9
	Lisans üstü	3	6.6		Kaptan	1	0.45
					Öğretim Görevlisi	3	1.35
					Garson	4	1.8
					Öğrenci	2	0.9
					Ev hanımı	3	1.35
					Koordinatör	1	0.45
					Öğretmen	3	1.35

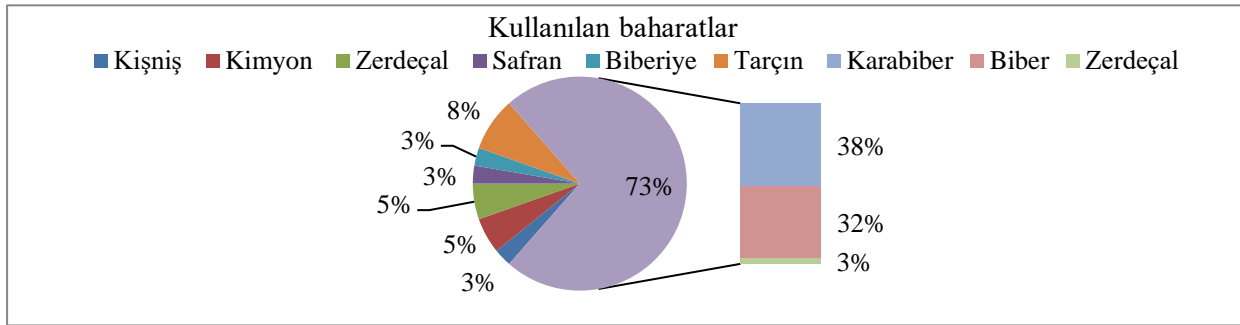
Çalışmada, 25 farklı yiyecek ve içeceklerin yapıldığı tespit edilmiştir. Bu yiyecek ve içecekler için 41 bitki taksonunun kullanıldığı tespit edilmiştir. Çalışmamız, Süzer ve Özkanlı (2020) tarafından yapılan Gaziantep yemekleri ile ilgili çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmada, bitkilerin en çok kullanılan kısımları %60.97 oranıyla meyveleri olduğu tespit edilmiştir. Taze yapraklar %14.63 oranıyla ikinci sırada ve tohumlar %12.19 oranıyla üçüncü sırada gelmektedir (Şekil 4).



Şekil 4. Bitkilerin en çok kullanılan kısımları

Festivaldeki yemeklerde kullanılan baharat çeşitleri arasında %38 oranı ile karabiber, %32 oranı ile biber ve %8 oranıyla tarçın gelmektedir (Şekil 5). Kullanılan diğer baharatlar ise kişniş, kimyon, zerdeçal, safran ve kekik'tir.



Şekil 5. Yemeklerde kullanılan baharatların dağılımı

Bölgede yapılan diğer yakın araştırmalara bakacak olursak; Urfa Mutfağı: Lezzet Sanatı (Ekinci, 2016) isimli çalışmada Yahudi köftesi, çiğ köfte, boranı, patlıcan kebabı, safranlı pirinç pilavı ve palıza'ya yer verilmiştir.

Akalın ve Akalın (2011) tarafından "Tandırılıktan gelen lezzet:" geleneksel Urfa yemekleri" isimli çalışmada Ekşili dolma, acır dolma, biryan tava, bostanalı tas kebabı, elmalı tepsi kebabı ve üzmelili pilavına yer verilmiştir.

Güldemir ve Halıcı (2009) tarafından yapılan "Türk mutfağında geleneksel etli meyve yemekleri" isimli çalışmada Ayva dolması, ayva galesi; ayva yahnisi, badem yemeği, çağla yemeği, elma dizmesi, elma ve zerdali aşısı gibi birçok meyveli yemeklere yer verilmiştir.

Bingöl Mutfak Kültürü ve Gastronomisi (Irmak, 2019) konulu çalışmada yöreye özgü Bingöl tava, gudu faslun ve kiremitte güveç gibi yemeklere yer verilmiştir.

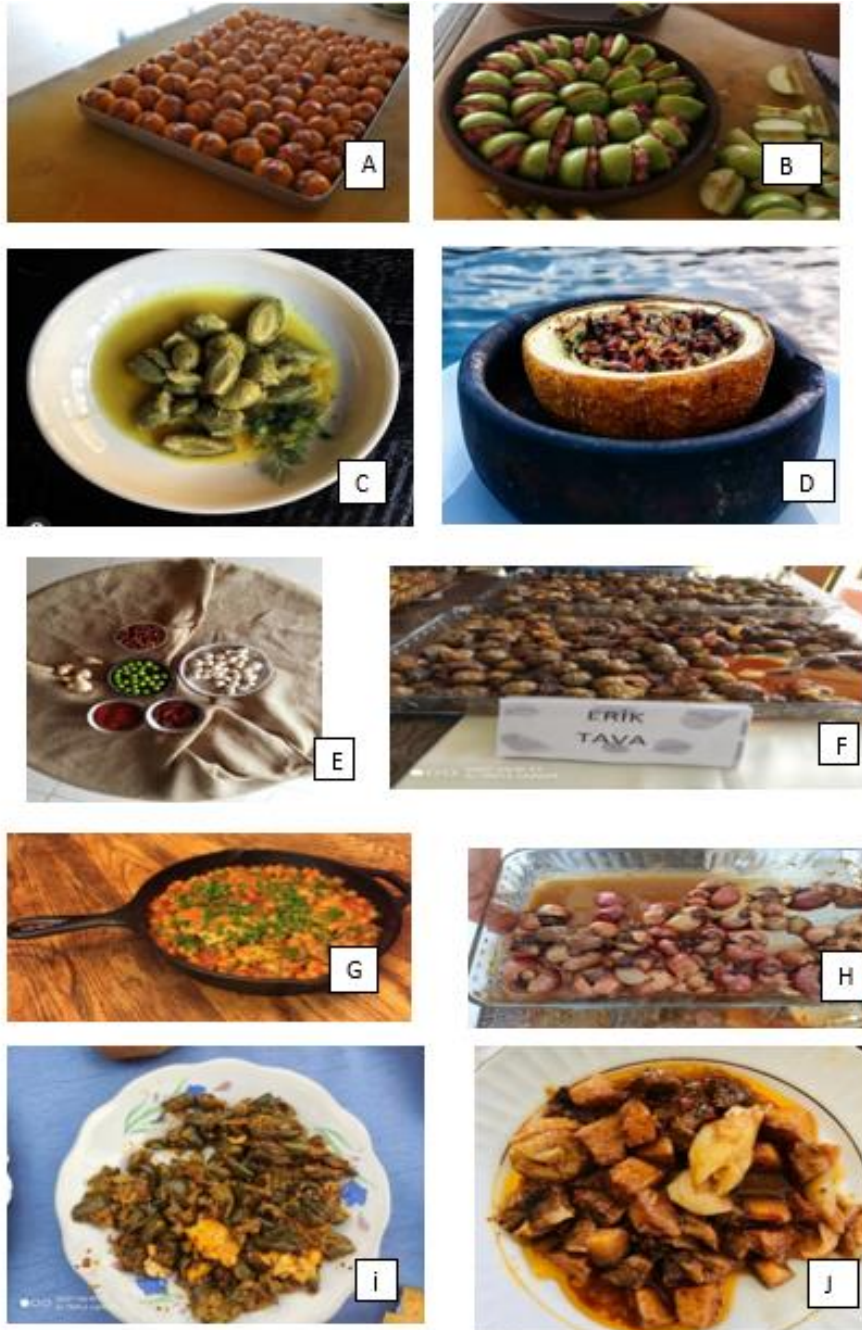
Şahin ve ark.(2018) tarafından yapılan Gaziantep Mutfak kültüründe yer alan klasik lezzetlerden örnekler isimli çalışmada yuvalama, nohut dürüm, patlıcan dolması, soğan kebabı, ve yenedünya kebabı gibi yemeklere yer verilmiştir.

Olçay ve ark. (2017) tarafından yapılan araştırmada Halfeti'de yavaş kent politikalarının etrafıca uygulanması, Halfeti'yi turistik açıdan daha cazip hale getireceği belirtilmektedir.

Halfeti, tarih boyunca farklı medeniyetlere ev sahipliği yapmış bir nehir mutfağına sahip olduğu belirtilmiştir (Ekinci, 2016).

SONUÇ

Bu çalışma, 2016-2021 yılları arasında düzenlenen "Halfeti (Şanlıurfa) Meyve Yemekleri Festivali" inde sergilenen bitkisel ürünlerin etnobotanik açıdan değerlendirilmesi ve meyve yemeklerinin halk kültürü ile ilişkisinin ortaya çıkartılması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada, 25 farklı meyve yemeklerinin sergilendiği tespit edilmiştir. Yapılan yemeklerin 20 familya ve 41 bitki türüne ait olduğu tespit edilmiştir. Festivalde sergilenen meyve yemeklerinin bazı fotoğrafları Şekil 6 A-J'de verilmiştir.



Şekil 6 A-J. Halfeti meyve yemekleri festivalindeki bazı ürünler **A**-Yeni dünya kebabı, **B**-Elma kebabı, **C**-Erik aşısı, **D**-Kavun dolması, **E**-Erik tava malzemeleri, **F**-Erik tava, **G**-Nohut tava, **H**-Soğan kebabı, **İ**-Patlak aşısı, **J**-Ayva kebabı.

TEŞEKKÜR

Çalışmamızda görsellerini bizimle paylaşan Halfeti Slow food temsilcisi Nihat ÖZDAL'a, Gastronomi uzmanı Ahmet Güzelyağdöken'e ve bilgilerini paylaşan kaynak kişilere teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Akalın L, Akalın M, 201. Tandırlıktan gelen lezzet: geleneksel Urfa yemekleri. Şanlıurfa Belediyesi Kültür ve Sosyal İşler Müdürlüğü, Navi Medya.
- Aksoy M, Sezgi G, 2015. Gastronomi turizmi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi gastronomik unsurları. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies* 3(3):79-89.
- Anonim 2013. <http://www.bizimbitkiler.org>. (Erişim tarihi: 02.02.2021)
- Anonim 2019. <http://www.halfeti.gov.tr>. (Erişim tarihi: 25. 06. 2021)
- Anonim 2021. Cittaslow Halfeti. <https://cittaslowturkiye.org>. (Erişim tarihi: 07.05.2021)
- Bakırcı GT, Bucak T, Turhan KN, 2017. Bölge gastronomi turizmi üzerine yöresel ürün festivallerinin etkisi: Urla örneği. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 5 (özel sayı 2): 230-240.
- Benek S, 2006. Şanlıurfa ilinin tarımsal yapısı, sorunları ve çözüm önerileri. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, 4 (1): 67-91.
- Boyras Z, Bostancı MS, 2015. Birecik barajı sonrası yer değiştiren eski Halfeti'nin (Şanlıurfa) turizm potansiyali. *Zeitschrift für die Welt der Türken/Journal of World of Turks*, 7 (3): 53-77.
- Cohen E, Avieli N, 2004. Food in Tourism: Attraction and Impediment. *Annals of Tourism Research*, 31(4): 755-778.
- Cömert M, Çetin K, 2017. Gastronomi temalı yerel festivaller üzerine bir değerlendirme. *Journal of International Social Research*, 10(54):1092-1101.
- Çetin M, Demirel H, Çetin K, 2019. Gastronomi konulu festivaller: Türkiye örneği. In: VIII. National IV. International Eastern Mediterranean Tourism Symposium, Mersin, Bildiri kitabı, pp19-20.
- Davis PH, Mill RR, Tan K. (eds), 1988. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 10. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Demirci B, Yılmazdoğan OC, Düşmezkalender E, 2020. Festival algısı, festival memnuniyeti, festival değeri ve aidiyet ilişkisi: Eskişehir sokak lezzetleri festivali örneği. *Business & Management Studies: An International Journal*, 8(1):1096-1112.
- Deveci B, Türkmen S, Avcıkurt C, 2013. Kırsal turizm ile gastronomi turizmi ilişkisi: Bigadiç örneği. *International Journal of Social and Economic Sciences*, 3(2):29-34.
- Doğan S, 2019. Turizm haftası etkinlikleri kapsamında yöresel yemek yarışmaları: Aksaray. *Studies*, 7(3):1958-1982.
- Doğdubay M, İlsay S, 2016. Bir iletişim biçimi olarak gastronomi turizmi. Detay Yayıncılık, Ankara.
- Ekinci A, 2016. Urfa mutfağı: lezzet sanatı. *Şehir ve İrfan Araştırmaları Dergisi*, (3):85-94
- Ersöz T, 2012. Bitkisel ilaçlar ve gıda takviyeleri ile ilgili genel yaklaşım ve sorunlar. *Mised* sayı 27-28: 9- 19.
- Güldemir O, Halıcı N, 2009. Türk mutfağında geleneksel etli meyve yemekleri. In: *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, Bildiri kitabı, pp 565-569, Van.
- Güner A, Ekim T, 2014. Resimli Türkiye Florası Cilt 1. Ali Nihat Gökyiğit Vakfı. Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları, İstanbul.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC, 2000. *Flora of Turkey and the east aegean islands* (supp. 2). Edinburgh: Edinburgh University Press.

- Güner A, Kandemir A, Menemen Y, Yıldırım H, Aslan S, Ekşi G, Güner İ, Çimen AÖ (Eds.), 2018. Resimli Türkiye Florası cilt 2. ANG Vakfı Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları. İstanbul.
- Hall CM, Sharples L, 2003. The consumption of experiences or the experience of consumption? An introduction to the tourism of taste in food tourism around the World. In: Hall CM, Sharples L, Mitchell R, Macionis N, Cambourne B (eds) Food Tourism Around the World: Development, management and market, Elsevier Ltd. All.
- Irmak Y, 2019. Bingöl mutfak kültürü ve gastronomi turizmi. Bingöl Araştırmaları Dergisi, 6(1):111-144.
- Karabulut M, 2017. Halfeti (merkez) geçiş dönemleri. Ardahan Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Keleş MÇ, Demirdağ ŞA, 2019. Samsun yöresel ot yemekleri festivaline katılım motivasyonları. In: 4. Uluslararası Gastronomi Turizmi Araştırmaları Kongresi Bildiri Kitabı ss 223-226, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Nevşehir.
- Kurnaz A, İşlek E, 2018. Aşçılık kültürünün festival turizmi kapsamında kullanılması: Mengen uluslararası aşçılık ve turizm festivali. Journal of Tourism and Gastronomy Studies, 6 (özel sayı 3): 3-13.
- Küçük M, 2013. Kültür turizmi kapsamında yer alan festival etkinliklerinin yerel kalkınmaya katkısı: Uluslararası Beyşehir göl festivali üzerine bir araştırma, In: I. Kop Bölgesel Kalkınma Sempozyumu Bildiriler Kitabı, ss 345-357.
- Mitchell R, Hall CM, 2003. Consuming tourism: food tourism consumer behavior. In: Hall, CM, Sharples L, Mitchell R, Macions N, Cambourne B (eds.) Food tourism around the world: development, management and markets, Boston: Butterworth Heinemann.
- Olçay A, Giritlioğlu İ, Özekici YK, 2017. Sakin şehir prensiplerinin Halfeti'nin yerel mutfak üzerindeki etkisinde yerel halkın tutumu üzerine bir araştırma. Journal of International Social Research, 10(51):1330-1343.
- Özbay G, Semint S, 2020. Gastronomi temalı festivallerde katılımcı deneyimi üzerine bir araştırma: Uluslararası pişmaniye festivali örneği. Süleyman Demirel Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, (38):315-341.
- Özçelik H, 2018. Türkiye'nin siyahi yediveren güllerinin tanıtımı. Kahramanmaraş Tarım ve Doğa Dergisi, 21(3):407-423.
- Özkan E, Curkan SC, Sarak EC, 2015. Festivallerin katılan ziyaretçiler üzerine etkileri: Alaçatı ot festivali örneği. Gümüşhane Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Elektronik Dergisi 6(14):59-68. Saatçı G, Yalçınkaya T (2018) Yöresel festivallerin yerel halk üzerindeki etkileri: Alaçatı ot festivali örneği. Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 18:153-170.
- Sabbağ Ç, 201. 8. Gaziantep Yeme İçme Kültürü. *Fırat'tan Volga'ya*, 199. Adıyaman Üniversitesi yayınlar.
- Süzer Ö, Özkanlı O (2020) Bölge mutfaklarının kullanılan malzemeler bağlamında değerlendirilmesi: Gaziantep yemekleri üzerine bir inceleme. Safran Kültür ve Turizm Araştırmaları Dergisi, 3(2):117-138.
- Şahin KS, İşlek E, Bingöl Z, 2018. Gaziantep mutfak kültüründe yer alan klasik lezzetlerden örnekler. Türkbilim, 8(özel sayı): 53-59.

Atf için: Kocuturk M, Altındag F, 2021. Bir Azo Boyası Olarak Maxilon Blue 5G'nin Solucanlar Üzerindeki Akut Ekotoksikolojik ve Histopatolojik Etkileri. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2549-2558.

To Cite: Köktürk M, Altındağ F, 2021. Acute Ecotoxicological and Histopathological Effects of Maxilon Blue 5G as an Azo Dye on Earthworms. Journal of the Institute of Science and Technology, **11(4): 2549-2558.**

Bir Azo Boyası Olarak Maxilon Blue 5G'nin Solucanlar Üzerindeki Akut Ekotoksikolojik ve Histopatolojik Etkileri

Mine KOKTURK¹, Fikret ALTINDAG^{2*}

ÖZET: Günümüzde boya ların çevre ve yaşam sağlığı üzerindeki etkileri önemli bilimsel konulardır. Maxilon blue 5G'nin toprak yapısı için çok önemli organizmalar olan solucanlar üzerindeki histopatolojik ve ekotoksikolojik çalışmalarını ilk kez bu yazıda sunuyoruz. Solucanlar, Maxilon blue 5G'ye, 1.0-8000 mg L⁻¹ aralığında farklı doz lar da, direkt enjeksiyon yöntemiyle 48 saat süreyle maruz bırakıldı. Deneysel analiz, 5000 mg L⁻¹ ve 8000 mg L⁻¹ Maxilon blue 5G dozajlarının enjeksiyonu ile solucanlar da bazı önemli morfolojik anormalliklerin tespit edildiğini gösterdi. Maxilon Blue 5G'nin solucan deneylerindeki LD₅₀ değerleri 48 saat sonra 6324.56 mg L⁻¹ olarak hesaplanmıştır ve bu değerler literatür için ilk deneysel bulgular dır. Çalışmanın bulguları, yüksek doz da Maxilon blue 5G enjekte edilen solucanların bağırsaklarında ve tüm vücudunda gözlenen birçok ciddi doku hasarının histopatolojik incelemeleri ile desteklendi.

Anahtar Kelimeler: Solucan, Ekotoksikolojik etkiler, Boyar madde, Histopatoloji, Maxilon blue 5G

Acute Ecotoxicological and Histopathological Effects of Maxilon Blue 5G as an Azo Dye on Earthworms

ABSTRACT: Today, the effects of dyes on the environment and life health are important scientific issues. In this paper, for the first time, we report the histopathological and ecotoxicological studies of Maxilon blue 5G on earthworms as very important organisms for soil structure. Earthworms was exposed to Maxilon blue 5G by direct injection method with different doses in a range of 1.0- 8000 mg L⁻¹ for 48 h. The experimental analysis showed that some considerable morphological abnormalities in the earthworms were detected with the injection of 5000 mg L⁻¹ and 8000 mg L⁻¹ of Maxilon blue 5G dosages. LD₅₀ values of Maxilon Blue 5G in earthworms' experiments were calculated as 6324.56 mg L⁻¹ after 48 h, and these values are the first experimental findings for the literature. The findings of the study were supported by histopathological investigations that are many severe tissue damages that were observed in the intestine and the whole body of earthworms injected with a high dosage of Maxilon blue 5G.

Keywords: Earthworm, ecotoxicological effects, dyestuff, histopathology, Maxilon blue 5G

¹Mine KOKTURK ([Orcid ID: 0000-0003-4722-256X](https://orcid.org/0000-0003-4722-256X)), Department of Organic Agricultural Management, İğdır University, School of Applied Sciences, İğdır, Turkey

^{2*} Fikret ALTINDAG ([Orcid ID: 0000-0002-7085-623X](https://orcid.org/0000-0002-7085-623X)), Department of Medical Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Van Yüzüncü Yıl University, Van, Turkey

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Fikret ALTINDAG, e-mail: altindagfikret@gmail.com

INTRODUCTION

Today, many industrial product components consist of dyestuffs or organic compounds, so dyestuffs are vital and irreplaceable for industrial sectors (Rawat et al., 2016). However, dyestuffs appear as problematic substances, and exhibit adversely affects natural resources. Emitting of dyestuffs into natural sources from industries of paper, textile, printing, and distillery cause numerous environmental problems because these substances pollute the aquatic and soil life (Nas et al., 2019; Tkaczyk et al., 2020). Synthetic dyestuffs consisted of complex and different compositions that exhibit various thermal, optical, and physical/chemical features (Alkan et al., 2008). It has been demonstrated that dyes and degraded dyes products have toxic impacts on various living terrestrial and aquatic living organisms and human beings (Puvaneswari et al., 2006; Copaciu et al., 2013). Especially, azo based dyes possess some recalcitrant and xenobiotic nature that makes a long-life challenge on natural functions and structure for the ecosystem (DeVito, 1993). Normally, the mentioned ecosystems exhibit some altering or remediation effects against dyes, but the products formed from physicochemical and microbial factors are not always less toxic or non-toxic substances (Levine, 1991). According to a study, about 900,000 tons of dyes are manufactured annually, and more than 70% of this amount is azo dyes (Carmen and Daniel, 2012; Balapure et al., 2015). Additionally, a considerable amount of industrial wastes (15-20 %) comprised of dyes and their derivatives are released into the environment (Kant, 2012). Nearly, 50 % of produced annual dye productions spread to the environments either directly or due to dyestuff production losses (Carmen and Daniel, 2012; Hassaan and El Nemr, 2017). Annually, over 10.000 different dyestuffs with 7.10^5 tons of productions are applied to industrial sectors, and azo based dyes consisted of the main group of these dyes (Langhals, 2004).

As mentioned above, releasing dyes to the environment causes several adverse effects for human beings and the other organism (Reile et al., 2020; Moorthy et al., 2021). It can be inferred from the aforementioned information, although dyes have a vast release amount into the environment, limited studies have been conducted to reveal their toxicity effects on living creatures. Therefore, very limited information is known about the carcinogenic and mutagenic effects of dyes and especially related to azo based dyes (Alderete et al., 2021; Haque et al., 2021). In vivo and in vitro studies based on azo dyes to compare genotoxicity and toxicity effects possess some considerable difficulties, so we can say that studies to elucidate toxicities of dyes are very important (Köktürk et al., 2021).

Earthworms are one of the leading ecosystem engineers for terrestrial ecosystems (Lavelle et al., 1998). Some of the earthworms' functions, including casting, burrowing, mixing of soil, and litter, are very effective in the keeping of soil life (Langdon et al., 2003). Therefore, earthworms are very important creatures in soil structure/stability, flowing of air into deep parts of soil, leaking of water in the soil as well as biotic features such as plant community structure, food webs underground, nutrient cycling, microbial activity, mineralization, density and distributions of soil invertebrates (Eisenhauer, 2010). Additionally, earthworms are accepted as the most suitable organism as an indicator in the ecotoxicological evaluation due to their 60-80 % constitution of soil biomass and vital functions (moisture, aeration, and nutrients cycling) in soil, and they are also very sensitive against the very low amount of toxicants (Pino et al., 2015; Yang et al., 2017). That's why, to detect toxicant substances in soil, earthworm acute toxicity tests are recommended by the authorized environments programs and agencies (Genázio Pereira et al., 2017). To best of this study is that no study has been conducted to detect the toxicological effects of Maxiolon Blue 5G, as an azo based dye, on earthworm yet. Thus, due to the lack of toxicological data on the azo dye Maxilon blue 5G, the present study aimed to evaluate the ability of this dye to induce toxic and histopathological effects on earthworms.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

Maxilon Blue 5G dye ($C_{16}H_{26}N_3O$, MW:266 g mol⁻¹) used in the experiments was purchased from commercial companies, in Bursa in Turkey. Maxilon Blue 5G dye was of analytical grade with a purity > 99.5 %. Dye solutions were prepared using pure water.

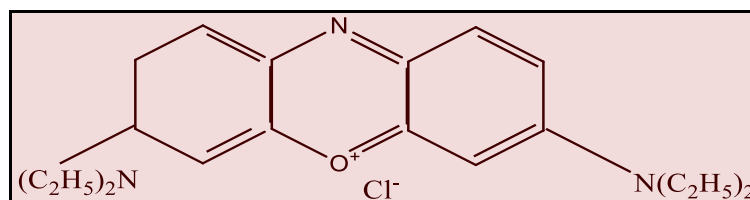


Figure 1. The chemical formula of Maxilon blue 5G

Acute Toxicity Test with Earthworms

Earthworms called *Eisenia fetida* were purchased commercially, and the earthworms used in the study kept under controlled conditions ($20 \pm 2^\circ C$, 75% humidity and 16:8 hours light-dark) at the research laboratory of Iğdır University. These earthworms were fed with cow manure at regular intervals. To adapt to the test conditions, the earthworms used in the experiments were kept under controlled laboratory conditions for two weeks.

Maxilon Blue 5G Injection to *Eisenia Fetida*

The direct injection route as conducted elsewhere was applied to investigate the toxic effects of Maxilon blue 5G on *Eisenia fetida* by given the dye into the coelomic cavity of the earthworm (Park et al. 2012; Yesudhasan et al. 2018). A syringe having a needle with a 0.5 ml micro fine plus was used in the injection of earthworm. Earthworms were placed in wet filter paper to empty all contents of the gut for 24 h before the test. Initially, before injection, earthworms were placed on ice for calm during 15 min. 8 groups ranging control, 1, 10, 100, 1000, 3000, 5000, and 8000 mg L⁻¹ (injecting 50 µl) were prepared for experiments. The experiments were performed using 6 earthworms in each group and 3 repetitions. The experiment was performed with adult earthworms with clitellum (300-350 mg). The medium earthworms kept in was set at 75 % humidity and 20 ° C during all the experiments, and filter paper was renewed daily. Dead earthworms were recorded and removed; therefore, the other earthworms were protected from being affected by the dead earthworms. Morphological abnormalities recorded at 48 h both the control and treated groups.

Histopathological Experiments

For histopathological evaluation, randomly four earthworms obtained from each group at 24 and 48 h were fixed in a 10 % formalin. It was embedded in paraffin, after histological tissue was followed. Transverse sections with a thickness of 4µm were taken in the microtome. After the sections were stained with Hematoxylin&Eosin (H&E), they were examined by light microscopy (Nikon Y-IM 7551012, Japan). For histopathological evaluation, an average of 15-17 areas was evaluated by random sampling for each animal in the groups. The findings were semiquantitatively evaluated. according to the average number of lesions observed in the microscopically examined areas.

LD₅₀ values for the Maxilon Blue 5G compound was calculated by Probit analysis that is performed by SPSS 20.0 software programme. Each of the toxicity data sets was compared with its corresponding control, followed by one-way ANOVA and Tukey' test. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Ecotoxicology studies are performed to reveal the basic mechanisms originated from the pollutants that may disrupt the normal physiological state of biological systems and to prevent the negative consequences arising from there (Connon et al., 2012). There are limited studies related to dye ecotoxicology using terrestrial organisms in the literature (Genázio Pereira et al., 2017; Oliveira et al., 2018). In this study, *E. fetida*, as a terrestrial organism model, was used to detect the acute toxicity of Maxilon blue 5G. The experiments of probit analysis were performed by observing died or survived earthworms after 48 h. Additionally, LD₅₀ values of Maxilon Blue 5G in earthworms' experiments were calculated as 6324.56 mg L⁻¹ after 48 h, and these values are the first experimental findings for the literature. In the study, the survival rate of earthworms was reduced depending on doze and time by the injection process (Figure1). Especially, the survival rated at high dose (8000 mg L⁻¹) was detected to be highly reduced ($p < 0.05$) compared to the control group, and the death rate at the same dosage was found to be 80 % at 48 h (Figure 2).

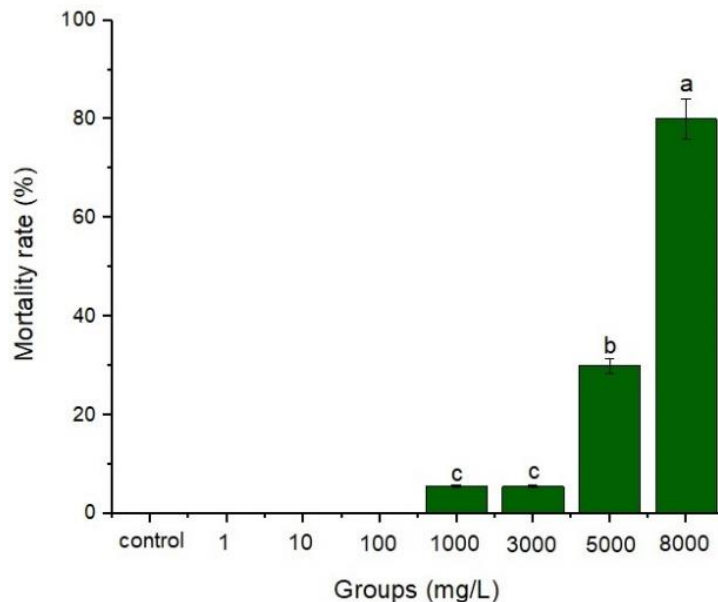


Figure 2. The mortality rate of earthworms during the exposure time of 48 h. Data are expressed as means \pm S.D. from three independent experiments. ($p < 0.05$; ANOVA, Tukey's test).

Similar studies conducted with textile dyes (Direct Black 38, Reactive Blue 15) on earthworms have been carried out by some researchers, and due to low mortality, LC₅₀ values could not be detected at 24 h and 48 h. However, a study reported that LC₅₀ values were detected with the high dosage of textile dyes (Indigo Carmine) at 72 h (Genázio Pereira et al., 2017). In our work, somebody abnormalities like thinning in the body, a rupture in areas near the tail with swelling in some areas, and blood collection in the tail area were observed after injection of Maxilon Blue 5G (Figure 3). The morphological abnormalities compared to the control group after the injection process of 5000 mg L⁻¹ and 8000 mg L⁻¹ dosages were determined as considerably effective ($p < 0.05$). Serious morphological variations like swelling and thinning in some parts of earthworms were detected with toxic dyes in elsewhere (Gopinathan et al., 2015; Genázio Pereira et al., 2017). Histopathological findings are given in Table 1.

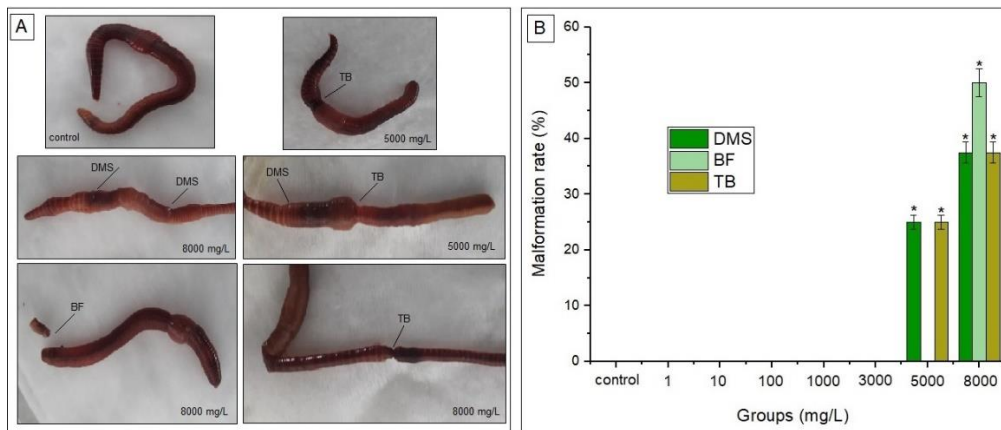


Figure 3. (A) Malformations of earthworms exposed to Maxilon Blue 5G and (B) percentage of observed malformations. * $p < 0.005$ compared with the control group (by one-way ANOVA and Tukey's comparison). Data are expressed as means \pm S.D. from three independent experiments. DMS: disruption of metamer segmentation; BF: body fragmentation at posterior region; TB: thinning of the body wall. The malformations were recorded during the exposure time of 48 h.

Control groups were seen in normal histological appearances after 24 h (Figure 4A and 5A) and 48 h (Figure 4B and 5B). At the same time, the group injected with 1 mg L⁻¹ of Maxilon Blue 5G (Figure 4C, 5C) and 10 mg L⁻¹ (Figure 4D, 5D) exhibited a normal appearance at 48 h. However, another group injected 100 mg L⁻¹ of Maxilon Blue 5G exhibited mild atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer (Figure 4E), but the intestinal epithelium exhibited normal appearances at 48 h (Figure 5E). After 24 h (Figure 4F) and 48 h (Figure 4G), the group injected 1000 mg L⁻¹ of Maxilon Blue 5G was observed with mild atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer, and intestinal epithelium has a normal histological appearance (Figure 5F and 5G). The group injected 3000 mg L⁻¹ of Maxilon Blue 5G exhibited moderated atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer, and mild degeneration and necrosis were observed in the epidermis both at 24 h (Figure 4H) and at 48 h (Figure 4I), the intestinal epithelium exhibited mild degeneration and necrosis both at 24 h (Figure 5H) and at 48 h (Figure 5I). The group proceeded using 5000 mg L⁻¹ of Maxilon Blue 5G was observed with moderately atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer, mild atrophy and deformation in the circular muscle layer, mild degeneration and necrosis in the epidermis (Figure 4J), and moderate degeneration and necrosis in the intestinal epithelium (Figure 5J) at 24 h. However, the same group proceeded using 5000 mg L⁻¹ of Maxilon Blue 5G at 48 h exhibited severe atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer, moderate atrophy and deformation in the circular muscle layer, moderate degeneration and necrosis in the epidermis (Figure 4K), and moderate degeneration and necrosis in the intestinal epithelium, mild hyperemia in vessels (Figure 5K). The latest group injected with 8000 mg L⁻¹ of Maxilon Blue 5G was observed with severe atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer, moderate atrophy and deformation in the circular muscle layer, moderate degeneration and necrosis in the epidermis (Figure 4L), and moderate degeneration and necrosis in the intestinal epithelium, mild hyperemia in vessels (Figure 5L) at 24 h. But after 48 h, the same group exhibited severe atrophy and deformation in the longitudinal and circular muscle layer, severe degeneration, and necrosis in the epidermis (Figure 4M). Moderate degeneration and necrosis in the intestinal epithelium, mild hyperemia in vessels (Figure 5M).

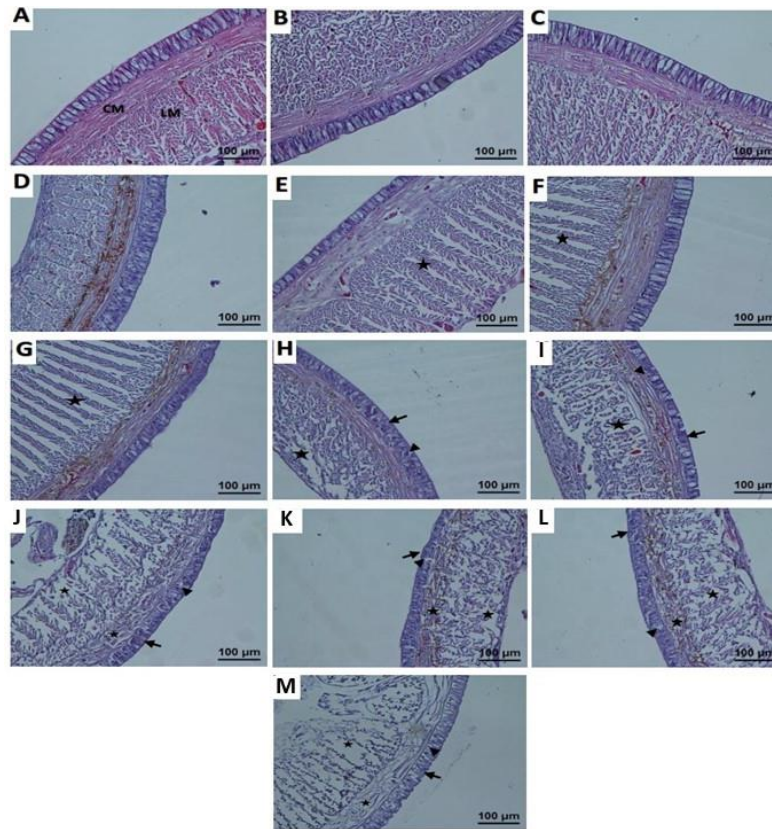


Figure 4. Cross-sections of worms. **LM:** Longitudinal muscle, **CM:** Circular muscle, **E:** Epidermis. **Control 24 h (A), Control 48 h (B), 1 mg L⁻¹ 48 h (C), 10 mg L⁻¹ 48 h (D) groups** in normal histological appearance. **100 mg L⁻¹ 48 h group (E):** Mild atrophy and deformation (star) in the longitudinal muscle layer. **1000 mg L⁻¹ 24 h group (F):** Mild atrophy and deformation (star) in the longitudinal muscle layer. **1000 mg L⁻¹ 48 h group (G):** Mild atrophy and deformation (star) in the longitudinal muscle layer. **3000 mg L⁻¹ 24 h group (H):** Moderate atrophy and deformation (star) in the longitudinal muscle layer, mild degeneration (arrowhead), and necrosis (arrow) in the epidermis. **3000 mg L⁻¹ 48 h group (I):** Moderate atrophy and deformation (star) in the longitudinal muscle layer, mild degeneration (arrowhead), and necrosis (arrow) in the epidermis. **5000 mg L⁻¹ 24 h group (J):** Moderate atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer, mild atrophy and deformation the circular muscle layer (star), mild degeneration (arrowhead), and necrosis (arrow) in the epidermis. **5000 mg L⁻¹ 48 h group (K):** Severe atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer, mild atrophy and deformation the circular muscle layer (star), mild degeneration (arrowhead), and necrosis (arrow) in the epidermis. **8000 mg L⁻¹ 48 h group (L):** Severe atrophy and deformation in the longitudinal muscle layer, mild atrophy and deformation the circular muscle layer (star), mild degeneration (arrowhead), and necrosis (arrow) in the epidermis. **8000 mg L⁻¹ 48 h group (M):** Severe atrophy and deformation (star) in the longitudinal and circular muscle layer, Severe degeneration (arrowhead), and necrosis (arrow) in the epidermis. H-E. x20.

Table 1. Evaluation of histopathological formations of soil worms in different doses of Maxilon Blue 5G in the whole body and intestinal tissue

Histopathological parameters	Control 24 h	Control 48 h	1 mg/L 48 h	10 mg/L 48 h	100 mg/L 48 h	1000 mg/L 24 h	1000 mg/L 48 h	3000 mg/L 24 h	3000 mg/L 48 h	5000 mg/L 24 h	5000 mg/L 48 h	8000 mg/L 24 h	8000 mg/L 48 h
Deformation in longitudinal muscle layer, atrophy	-	-	-	-	-	+	+	++	++	++	+++	+++	+++
Deformation, atrophy in the circular muscle layer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++	+++
Degeneration in the epidermis	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++	+++
Necrosis in the epidermis	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++	+++
Degeneration in intestinal epithelium	-	-	-	-	-	-	-	+	+	++	++	++	++
Necrosis in intestinal epithelium	-	-	-	-	-	-	-	+	+	++	++	++	++
Hyperemia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

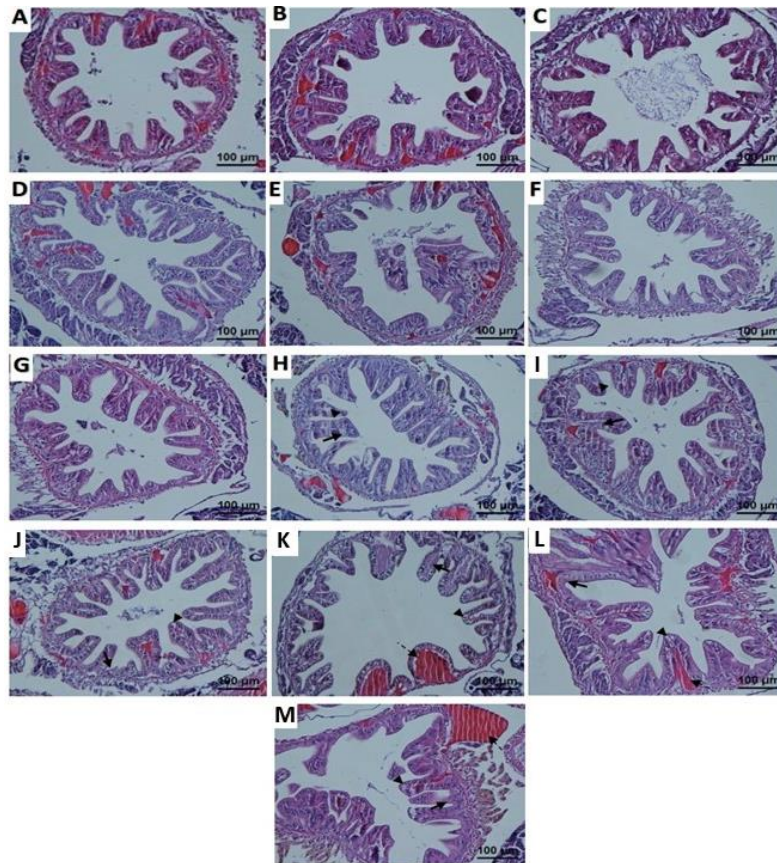


Figure 5. Cross-sections of worms. In the **Control 48 h (B)**, **1 mg L⁻¹ 48 h (C)**, **10 mg L⁻¹ 48 h (D)**, **100 mg L⁻¹ 48 h (E)**, **1000 mg L⁻¹ 24 h (F)** and **1000 mg L⁻¹ 48 h (G)** groups, the intestinal tract has a normal histological appearance. **3000 mg L⁻¹ 24 h group (H)**: Mild degeneration (arrowhead) and necrosis (arrow) in the intestinal epithelium. **3000 mg L⁻¹ 48 h group (I)**: Mild degeneration (arrowhead) and necrosis (arrow) in the intestinal epithelium. **5000 mg L⁻¹ 24 h group (J)**: Moderate degeneration (arrowhead) and necrosis (arrow) in the intestinal epithelium. **5000 mg L⁻¹ 48 h group (K)**: Moderate degeneration (arrowhead) and necrosis (arrow) in the intestinal epithelium, mild hyperemia in the vessels (dashed arrow). **8000 mg L⁻¹ 48 h group (L)**: Moderate degeneration (arrowhead) and necrosis (arrow) in the intestinal epithelium, mild hyperemia in the vessels (dashed arrow). **8000 mg L⁻¹ 48 h group (M)**: Moderate degeneration (arrowhead) and necrosis (arrow) in the intestinal epithelium, mild hyperemia in the vessels (dashed arrow). H-E. x20.

The intestine is a vital organ responsible for the metabolism of various compounds such as azo dyes (Sweeney et al., 1994). Intestinal microflora of humans and animal species can decrease azo groups of xenobiotics (Cerniglia et al., 1982). The decline reaction is responsible for the manufacture of aromatic amines with carcinogenic and mutagenic effects (Govindwar et al., 2014; Beer et al., 2019). Bacterial degradation of azo dyes has generally been reported when tearing of nitrogen bonds is initiated by the biotransformation process of the azo reductase enzyme (Zanoni et al., 2013; Franco et al., 2018). In the light of the above data and literature information, we can evaluate that the observing the degenerations of intestinal epithelium in earthworms exposed to 5000 mg L⁻¹ and 8000 mg L⁻¹ of Maxilon Blue 5G showed the reduction of Maxilon blue 5G by intestinal microflora that conversion the dye into harmful amines. It was predicted that lower levels of intestinal degeneration in soil worms treated with Maxilon Blue 5G than in other tissues might be due to the success of enteric bacteria in the intestine's ability to remediate chemicals (Nayak et al., 2018; Banerjee et al., 2019). The main process of muscle atrophy is myofiber decline, which is the result of high protein deterioration (Washington et al., 2011; Cai et al., 2018). This demolition process can be induced by chronic inflammation and acute metabolic change (Albadarin and Mangwandi, 2015).

CONCLUSION

Summarized, Maxilon blue 5G as the azo dye is extensively used in the textile industry, and its presence in nature is increasing day by day. Our study proved that Maxilon Blue 5G could cause cell injuries such as degeneration and necrosis besides deformation and atrophy of muscles in earthworms. With this report, we revealed that severe injury of tissue and cells such as necrosis in epidermis tissue, hyperemia in vessels, necrosis in the intestinal epithelium, deformation, and atrophy of muscles in earthworms exposed to Maxilon Blue 5G dye. The findings of the current study can be explained as the main reasons for observing atrophy in the muscle layer of earthworms exposed with high (3000, 5000 and 8000 mg L⁻¹) dye dosage is that the forming of oxidative stress or nitrosative stress due to enhanced the number of reactive oxygen species (ROS) or reactive nitrogen species (RNS) in tissues by Maxilon Blue 5G. Further studies to determine the mechanism of action of Maxilon blue 5G dye and their effects on other target organisms are necessary to predict the future effects of this dye and to take precautions

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was carried out with the Laboratories facilities of Department of Medical Histology and Embryology, Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine and I Department of Organic Agricultural Management, Iğdır University, School of Applied Sciences.

Conflict of Interest

The authors declared that there is no conflict of interest

Author's Contributions

Mine Köktürk planned the study, performed experiments, commented on the data, wrote and edited the manuscript. **Fikret Altındağ** performed the histopathological examination, commented the histopathological findings.

REFERENCES

- Albadarin AB, Mangwandi C, 2015. Mechanisms of Alizarin Red S and Methylene blue biosorption onto olive stone by-product: Isotherm study in single and binary systems. *Journal of environmental management*, 164: 86–93.
- Alderete BL, da Silva J, Godoi R, da Silva FR., Taffarel SR, da Silva LP, Picada JN, 2021. Evaluation of toxicity and mutagenicity of a synthetic effluent containing azo dye after advanced oxidation process treatment. *Chemosphere*, 263: 128291.
- Alkan M, Doğan M, Turhan Y, Demirbaş Ö, Turan P, 2008. Adsorption kinetics and mechanism of maxilon blue 5G dye on sepiolite from aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal*, 139(2): 213–223.
- Balasure K, Bhatt N, Madamwar D, 2015. Mineralization of reactive azo dyes present in simulated textile waste water using down flow microaerophilic fixed film bioreactor. *Bioresource Technology*, 175: 1–7.
- Banerjee A, Biswas JK, Pant D, Sarkar B, Chaudhuri P, Rai M, Meers E, 2019. Enteric bacteria from the earthworm (*Metaphire posthuma*) promote plant growth and remediate toxic trace elements. *Journal of Environmental Management*, 250: 109530.
- Beer F, Ubat F, Franz CMAP, Huch M, Kulling SE, Bunzel M, Bunzel D, 2019. The human fecal microbiota metabolizes foodborne heterocyclic aromatic amines by reuterin conjugation and further transformations. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(10): 1801177.
- Cai X, Yuan Y, Liao Z, Xing K, Zhu C, Xu Y, Yu L, Wang L, Wang S, Zhu X, Gao P, Zhang Y, Jiang Q, Xu P, Shu G, 2018. α -Ketoglutarate prevents skeletal muscle protein degradation and muscle atrophy through PHD3/ADRB2 pathway. *The FASEB Journal*, 32(1): 488–499.

- Carmen Z, Daniel S, 2012. Textile organic dyes – characteristics, polluting effects and separation/elimination procedures from industrial effluents – a critical overview. *Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention - Environmental and Analytical Update*. InTech publications No:3, pp. 55-86, Shanghai-China.
- Cerniglia CE, Freeman JP, Franklin W, Pack LD, 1982. Metabolism of azo dyes derived from benzidine, 3,3'-dimethylbenzidine and 3,3'-dimethoxybenzidine to potentially carcinogenic aromatic amines by intestinal bacteria. *Carcinogenesis*, 3(11): 1255–1260.
- Connon RE, Geist J, Werner I, 2012. Effect-based tools for monitoring and predicting the ecotoxicological effects of chemicals in the aquatic environment. *Sensors*, 12(9): 12741–12771.
- Copaciu F, Opriş O, Coman V, Ristoiu D, Niinemets Ü, Copolovici L, 2013. Diffuse water pollution by anthraquinone and azo dyes in environment importantly alters foliage volatiles, carotenoids and physiology in wheat (*Triticum aestivum*). *Water, Air, & Soil Pollution*, 224: 1478.
- De Oliveira GAR, Leme DM, de Lapuente J, Brito LB, Porredón C, Rodrigues L de B, Brull N, Serret JT, Borràs M, Disner GR, Cestari MM, De Oliveira DP, 2018. A test battery for assessing the ecotoxic effects of textile dyes. *Chemico-Biological Interactions*, 291: 171–179.
- DeVito SC, 1993. Predicting azo dye toxicity. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 23(3): 249–324.
- Eisenhauer N, 2010. The action of an animal ecosystem engineer: Identification of the main mechanisms of earthworm impacts on soil microarthropods. *Pedobiologia*, 53(6): 343–352.
- Franco JH, da Silva BF, Dias EFG, de Castro AA, Ramalho TC, Zanoni MVB, 2018. Influence of auxochrome group in disperse dyes bearing azo groups as chromophore center in the biotransformation and molecular docking prediction by reductase enzyme: Implications and assessment for environmental toxicity of xenobiotics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 160: 114–126.
- Genázio Pereira PC, Reimão RV, Pavesi T, Saggiaro EM, Moreira JC, Veríssimo Correia F, 2017. Lethal and sub-lethal evaluation of Indigo Carmine dye and byproducts after TiO₂ photocatalysis in the immune system of *Eisenia andrei* earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 143: 275–282.
- Gopinathan R, Kanhere J, Banerjee J, 2015. Effect of malachite green toxicity on non target soil organisms. *Chemosphere*, 120: 637–644.
- Govindwar SP, Kurade MB, Tamboli DP, Kabra AN, Kim PJ, Waghmode TR, 2014. Decolorization and degradation of xenobiotic azo dye Reactive Yellow-84A and textile effluent by *Galactomyces geotrichum*. *Chemosphere*, 109: 234–238.
- Haque MM, Haque MA, Mosharaf MK, Marcus PK, 2021. Decolorization, degradation and detoxification of carcinogenic sulfonated azo dye methyl orange by newly developed biofilm consortia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1): 793-804.
- Hassaan MA, El Nemr A, 2017. Health and environmental impacts of dyes: mini review. *American Journal of Environmental Science and Engineering*, 1: 64–67.
- Kant R, 2012. Textile dyeing industry an environmental hazard. *Natural Science*, 04(1): 22–26.
- Köktürk M, Altındağ F, Ozhan G, Çalimli MH, Nas MS, 2021. Textile dyes Maxilon blue 5G and Reactive blue 203 induce acute toxicity and DNA damage during embryonic development of *Danio rerio*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 242:108947.
- Langdon CJ, Pearce TG, Meharg AA, Semple KT, 2003. Interactions between earthworms and arsenic in the soil environment: a review. *Environmental Pollution*, 124(3): 361–373.
- Lavelle P, Pashanasi B, Charpentier F, Gilot C, Rossi JP, Derouard L, André J, Ponge JF, Bernier N, 1998. Large-scale effects of earthworms on soil organic matter and nutrient dynamics. *Lucie Press*, pp.103–122.
- Levine WG, 1991. Metabolism of AZO dyes: Implication for detoxication and activation. *Drug Metabolism Reviews*, 23(3&4): 253–309.

- Moorthy AK, Rathi BG, Shukla SP, Kumar K, Bharti VS, 2021. Acute toxicity of textile dye Methylene blue on growth and metabolism of selected freshwater microalgae. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 82: 103552.
- Nas MS, Kuyuldar E, Demirkan B, Calimli MH, Demirbaş O, Sen F, 2019. Magnetic nanocomposites decorated on multiwalled carbon nanotube for removal of Maxilon Blue 5G using the sono-Fenton method. *Scientific Report*, 9: 10850.
- Nayak AK, Panda SS, Basu A, Dhal NK, 2018. Enhancement of toxic Cr (VI), Fe, and other heavy metals phytoremediation by the synergistic combination of native *Bacillus cereus* strain and *Vetiveria zizanioides* L. *International Journal of Phytoremediation*, 20(7): 682–691.
- Park BS, Yoo JH, Kim JH, Kim JE, Lee SE, 2012. Biotransformation of endosulfan by the tiger worm, *Eisenia fetida*. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 1: 20-27.
- Pino MR, Val J, Mainar AM, Zuriaga E, Español C, Langa E, 2015. Acute toxicological effects on the earthworm *Eisenia fetida* of 18 common pharmaceuticals in artificial soil. *Science of The Total Environment*, 518–519: 225–237.
- Puvaneswari N, Muthukrishnan J, Gunasekaran P, 2006. Toxicity assessment and microbial degradation of azo dyes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 44: 618-626.
- Rawat D, Mishra V, Sharma RS, 2016. Detoxification of azo dyes in the context of environmental processes. *Chemosphere*, 155: 591–605.
- Reile CG, Rodríguez MS, de Sousa Fernandes DD, de Araújo Gomes A, Diniz PHGD, Di Anibal CV, 2020. Qualitative and quantitative analysis based on digital images to determine the adulteration of ketchup samples with Sudan I dye. *Food Chemistry*, 328, 127101.
- Sweeney EA, Chipman JK, Forsythe SJ, 1994. Evidence for Direct-Acting Oxidative Genotoxicity by Reduction Products of Azo Dyes. *Environmental Health Perspectives*, 102(6): 119-122.
- Tkaczyk A, Mitrowska K, Posyniak A, 2020. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: a review. *Science of The Total Environment*, 717: 137222.
- Washington TA, White JP, Davis JM, Wilson LB, Lowe LL, Sato S, Carson JA, 2011. Skeletal muscle mass recovery from atrophy in IL-6 knockout mice. *Acta Physiologica*, 202(4): 657–669.
- Yang G, Chen C, Wang Y, Peng Q, Zhao H, Guo D, Wang Q, Qian Y, 2017. Mixture toxicity of four commonly used pesticides at different effect levels to the epigeic earthworm, *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142: 29–39.
- Yesudhasan BV, Kanniah P, Subramanian ER, Pnesakki V, Rajendiran V, Sivasubramaniam S, 2018. Exploiting the unique phenotypes of the earthworm *Eudrilus eugeniae* to evaluate the toxicity of chemical substances. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190: 145.
- Zanoni TB, Lizier TM, Assis M das D, Zanoni MVB, De Oliveira DP, 2013. CYP-450 isoenzymes catalyze the generation of hazardous aromatic amines after reaction with the azo dye Sudan III. *Food and Chemical Toxicology*, 57: 217–226.
- Zollinger H, 2003. *Color Chemistry. Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*. Verlag Helvetica Chimica Acta publications No:3, pp. 1–125, Zürich-Switzerland.

Atf İçin: Dıraz Yıldırım E, Güneş H, 2021. Tuz ve Kuraklık Stresi Altında Yetiştirilen Buğday Bitkisine (*Triticum aestivum* L.) Silikon Uygulamalarının Bazı Stres Parametreleri Üzerine Etkisi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2559-2572.

To Cite: Dıraz Yıldırım E, Güneş H, 2021. The Effect of Silicon Applications on Some Stress Parameters of Wheat Plant (*Triticum aestivum* L.) Grown Under Salt and Drought Stres. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2559-2572.

Tuz ve Kuraklık Stresi Altında Yetiştirilen Buğday Bitkisine (*Triticum aestivum* L.) Silikon Uygulamalarının Bazı Stres Parametreleri Üzerine Etkisi

Emel DIRAZ YILDIRIM¹, Hakan GÜNEŞ^{1*}

ÖZET: Tuz ve kuraklık stresi gibi iki önemli abiyotik stres, bitkilerin gelişimini etkileyerek morfolojik, fizyolojik ve moleküler seviyede pek çok aksaklıklara neden olmaktadır. Silikonun biyotik ve abiyotik strese karşı etkili olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, tuz ve kuraklık stresi koşullarında yetiştirilen bir ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi olan Ceyhan-99'a 100 ppm ve 200 ppm silikon sulama suyuna katılarak bitkiler üzerindeki morfolojik karakterlere ve fotosentetik pigmentler üzerine etkisi araştırılmış ve optimal silikon konsantrasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Ceyhan-99 tuza toleransı düşük ve kuraklığa toleransı da orta seviyede bir ekmeklik buğday çeşididir. Silikon bitkilere toplamda 2 defa uygulanmıştır. Tuz stresi için bitkiler birinci hafta 100 mM, ikinci hafta 200 mM tuz sulama suyuna katılarak strese maruz bırakılmışlardır. Kuraklık stresi için bitkiler birer hafta arayla sulanarak kuraklığa maruz bırakıldı. Araştırmada bitki boyu, bitki ağırlığı, kök boyu, kök ağırlığı, bağıl su miktarı, klorofil a, klorofil b, karotenoid ve toplam klorofil miktarı tespit edilmiştir. Stres uygulanan gruplarda incelenen parametrelerin olumsuz yönde etkilendiği görülmüş fakat silikon uygulamaları ile büyüme parametreleri ve bağıl su miktarından kontrole yakın değerler elde edilmiştir. Kontrol gruplarına 100 ppm silikon uygulamasında kök ağırlığında değişim görülmezken, bitki boyu, bitki ağırlığı, kök ağırlığı gibi diğer parametrelerde istatistiksel olarak artış tespit edilmiştir. Fotosentetik pigmentler incelendiğinde stres altında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarlarında kontrole göre azalış görülürken, karotenoid miktarında artış görülmüştür. Kontrol gruplarına silikon uygulamasında ise klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarında artış gözlenirken, karotenoid miktarında azalış saptanmıştır. Araştırma sonucunda çalışılan parametrelerde silikon uygulamalarının, kuraklık ve tuz stresinin zararlı etkilerinin azaltılmasına yardımcı olduğu, kurak ve tuzluluğun neden olduğu yarı kurak bölgelerde su kıtlığının şiddetini azaltarak buğday bitkisinin gelişmesini arttırabileceği görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Buğday, Ceyhan-99, Silikon, Abiyotik Stres, Fotosentetik Pigment

The Effect of Silicon Applications on Some Stress Parameters of Wheat Plant (*Triticum aestivum* L.) Grown Under Salt and Drought Stres

ABSTRACT: Two important abiotic stresses, such as salt and drought stress, affect the growth of plants and cause many malfunctions at the morphological, physiological and molecular level. Silicone is known to be effective against biotic and abiotic stress. In this study, a bread wheat (*Triticum aestivum* L.) Ceyhan-99 variety grown under salt and drought stress conditions, 100 ppm and 200 ppm silicon was added to irrigation water, and its effect was investigated on morphological characters and photosynthetic pigments on plants and the optimal silicon concentration was tried to be determined. Ceyhan-99 is a bread wheat variety with low salt tolerance and moderate drought tolerance. Silicon was applied to the plants 2 times in total. For salt stress, plants were exposed to stress by adding 100 mM salt in the first week and 200 mM salt in the second week. For drought stress, plants were exposed to drought by watering at one week intervals. In the study, plant height, plant weight, root height, root weight, relative water content, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid and total chlorophyll amount were determined. While no change was observed in root weight in 100 ppm silicon application to the control groups, a statistical increase was found in other parameters such as plant height, plant weight, and root weight. When photosynthetic pigments were examined, the amount of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll decreased under stress condition compared to the control but the amount of carotenoid increased. As a result of the research, silicon applications in the studied parameters helped to reduce the harmful effects of drought and salt stress, it is seen that it can increase the development of wheat plant by reducing the severity of water scarcity in semi-arid regions caused by drought and salinity.

Keywords: Wheat, Ceyhan-99, Silicon, Abiotic Stress, Photosynthetic Pigment

¹ Emel DIRAZ YILDIRIM ([Orcid ID: 0000-0001-5299-8122](https://orcid.org/0000-0001-5299-8122)), Hakan GÜNEŞ ([Orcid ID: 0000-0002-4097-4729](https://orcid.org/0000-0002-4097-4729)), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hakan GÜNEŞ, e-mail: guneshkn@hotmail.com

Bu çalışma Hakan Güneş'in Doktora tez çalışmasından üretilmiştir.

GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla artması ve buna karşılık ekilebilir tarım alanlarının sınıra dayanmış olması, tarımda birim alandan daha az girdi ile yüksek kaliteli daha fazla verim alabilme zorunluluğunu getirmiştir (Doğan ve ark., 2015).

Tarımsal verimlilik, çeşitli abiyotik faktörlerden dolayı olumsuz yönde etkilenmektedir. Sürdürülebilir üretim, küresel iklim değişikliklerine bağlı olarak meydana gelen düzensiz yağışlar, ekilebilir alan ve suyun daha az bulunması gibi nedenlerden dolayı verimini yitirmektedir (Takeda ve Matsuoka, 2008). Dünyanın gün geçtikçe daha sıcak ve daha kurak hale gelmesi nedeniyle, çevresel strese tolerans gösteren mahsullerin yüksek talep göreceği kaçınılmazdır (Battisti ve Naylor, 2009; Pradhan ve ark., 2015).

Olumsuz çevresel koşullar özellikle tarım ürünlerinin verimliliğinde önemli kayıplara neden olmaktadır. Çeşitli abiyotik faktörler arasında, tuzluluk ve kuraklık stresi diğer abiyotik streslerden daha fazla verim kaybına yol açmaktadır (Singh ve ark., 2008). Tuz ve kuraklık stresi daha geniş anlamıyla bitkilerde su stresi meydana getirmektedir. Hücre sinyalizasyonu bitki tepkilerini ve adaptasyonu kontrol ettiğinden, muhtemelen su stresi sinyallerinin yeryüzündeki florayı büyük ölçüde şekillendirdiğini söylemek abartı değildir (Rana ve ark., 2015; İnan ve ark. 2018).

Kuraklığa bağlı su stresine maruz kalan bitki, stomalarını kapatarak transpirasyon seviyesini en aza indirir. Bu yüzden de karbondioksit alımının azalması ile fotosentez miktarında düşüşler gerçekleşmektedir. Bitki gelişiminde yararlanan karbonhidrat molekülleri ve enerji, fotosentez ile üretildiğinden bu düşüşler bitki gelişimi ve büyümesini olumsuz etkilemektedir. Ayrıca, bitki stomalarının kapanması, yaprak yüzey sıcaklığının artmasına neden olmakta ve dolayısıyla membran sisteminin hasarlanması sonucu hücre ölümleri ortaya çıkmaktadır (Farooq ve ark. 2009; Dolferus, 2014; Bat ve ark., 2020). Kuraklığa bağlı su stresi, bitkilerin canlılık faaliyetlerinin sürdürülmesinde rol oynayan genlerin ifadesindeki değişimler, bitkilere zarar verebilen veya strese karşı tolerans sağlayacak bir mekanizmanın parçası olan proteinlerin üretimi ve degradasyonundaki değişimler ve kuraklık stresine tolerans sağlayabilen yeni metabolitlerin sentezi için metabolizmanın değiştirilmesi gibi etkileşimli modifikasyonlara neden olabilmektedir (Babita ve ark., 2010; Mohammadi ve ark., 2012; Batlang ve ark., 2013; Kumari ve ark., 2013; Yıldız ve ark., 2020).

Tuzlu topraklarda yetiştirilen bitkilerde verim kaybı görülmesinin birçok nedeni bulunmaktadır. Bunlar arasında, toprakta yüksek düzeyde bulunan Sodyum (Na^+) ve Klor (Cl^-) gibi iyonların toksik etki göstermesi, bitkilerin bünyesinde bulunan iyon dengesindeki bozulmalar, bitkilerin bir bölgesinden diğer bölgesine besin taşınmasındaki aksaklıklar, özellikle fotosentez ve solunum gibi fizyolojik işlevlerin zarar görmesi gösterilmektedir (Kara ve ark. 2011; İnan ve ark. 2018). Ayrıca, toprakta aşırı miktarda çözünebilir tuz bulunması, topraktaki çözünen maddelerin ozmotik potansiyelini azaltarak su açığına neden olarak kökleri çevreleyen ortamdaki su alımını zorlaştırmaktadır (Rengasamy, 2010; Şen ve Sarsu, 2018). Toprakta bulunan tuzun miktarı, bitkilerin büyüme ve gelişimini farklı seviyede etkileyebildiği gibi değişik bitki türlerinin tepkileri de farklı olmaktadır (Ghoulam ve Fares 2001; İnan ve ark. 2018).

Kültür bitkilerinin kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres koşullarına karşı farklı seviyelerde dayanıklılık gösteren genotiplere sahip oldukları bilinmektedir. Bitkisel üretim aşamasında tercih edilen genotiplerin de abiyotik stres koşullarına karşı tolerans seviyelerinin yetersiz olması bitkilerde birçok metabolik olayı olumsuz yönde etkilemekte ve ürün kalitesi ile verim kayıplarına sebep olmaktadır. Artan nüfus ve buna bağlı olarak her geçen gün artan gıda ihtiyacı her türlü çevre şartlarında yüksek verimli tahıl bitkilerinin üretim ihtiyacını doğurmuştur (Korkmaz ve Durmaz, 2017)

Buğday tarımı, insan beslenmesindeki temel besinlerin ham maddesi olması açısından, Dünya'da ve ülkemizde diğer tarımsal ürünlere oranla daha fazla önem arz etmektedir (Doğan ve ark., 2015). Buğday için tuzluluk ve kuraklığa bağlı su stresi faktörlerine direnç geliştirilmesi zaruri hale gelmiştir. Geçici çözümler tuzluluğun ve kuraklığın bitki üzerindeki olumsuz etkisini azaltmasına rağmen, bu çözümleri uygulamak her zaman kolay değildir (Rana ve ark., 2015; İnan ve ark. 2018). Bu nedenle, en etkili çözümlerden biri, tuz ve kuraklığa bağlı su stresine toleransı arttıran yöntemlerin araştırılması ve geliştirilmesidir (Mostafa, 2011).

Bitkilerde tuzluluğun ve kuraklığın olumsuz etkilerine karşı dışsal olarak hormonlar, büyüme düzenleyici bileşikler ve bazı elementler uygulanmaktadır. Silikon uygulamaları, stresin olumsuz etkilerini hafiflettiği ve strese toleransı arttırdığı için bitkilere uygulanması etkili bir yöntem olarak benimsenmiştir (Zhu ve Gong 2014; Zhang ve ark., 2020). Tuz stresi, metal toksisitesi, kuraklık stresi, radyasyon hasarı, besin dengesizliği, yüksek sıcak ve donma gibi birçok abiyotik stres üzerinde, stresin meydana getirdiği olumsuz durumların giderilmesinde etkili olduğu bilinmektedir (Feng Ma, 2004). Ayrıca abiyotik stres koşullarında silikon; daha iyi su alımı ve taşınmasında etkili olan fizyolojik değişikliklerde rol oynar, fonksiyonel moleküllerin zararlı oksidatif hasarını hafifletir, geliştirilmiş anti-oksidatif savunma yeteneği ile böceklere ve patojenlere karşı daha iyi bitki bağışıklığı kazandırır (Ahmed ve ark, 2015). Bitki biyolojisinde yeri henüz tam olarak anlaşılmasa da silikonun bitkiler için yarı gerekli bir element olduğu görüşü yaygınlaşmaya başlamıştır (Pilon-Smits ve ark, 2009; Zhang ve ark., 2020).

Bu çalışmada, tuz ve kuraklık gibi iki önemli abiyotik stres koşullarında yetiştirilen buğday bitkisine iki farklı konsantrasyonda silikon uygulanarak bitkiler üzerindeki etkisini araştırmak ve optimal silikon konsantrasyonunu belirlemek amaçlanmıştır. Araştırmada eksojen uygulama yapılan bitkilerle kontrol gruplarının büyüme parametreleri, bağıl su içeriği ve fotosentetik pigment miktarları tespit edilmiş, tuz ve kuraklık stresinin etkileri değerlendirilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Bitki Materyali

Çalışmamızda bitki materyali olarak bir ekmeklik buğday çeşidi olan *Triticum aestivum* L. cv. Ceyhan 99 kullanılmıştır. Ceyhan 99 türünün seçmemizin nedeni, yüksek verimli ve ekmeklik kalitesi oldukça yüksek olmasıdır. Ayrıca tuza toleransı düşük, kuraklığa toleransı ise orta seviyede bir buğday çeşididir. Buğday tohumları 200 ml hacimli, içerisinde toprak, torf ve perlit (2:1:1) karışımı bulunan saksılara ekilmiştir. Bitkiler iklimlendirme odasında 24 ± 2 °C sıcaklıkta, % 55 nem oranı ve 16:8 sa gündüz/gece ortamında yetiştirilmiştir. Tuz ve kuraklık stresinde iki farklı silikon konsantrasyonu (100 ppm ve 200 ppm yapılan literatür araştırmalarına göre belirlenmiştir) uygulanarak toplam 9 grup oluşturulmuştur; 1- Kontrol Grubu ((K) Bitkiler normal koşullarda yetiştirilmiştir), 2- 100 ppm Silikon Kontrol Grubu ((100 ppm Si) Bitkilere sadece 100 ppm silikon uygulanmıştır), 3- 200 ppm Silikon Kontrol Grubu ((200 ppm Si) Bitkilere sadece 200 ppm silikon uygulanmıştır), 4-Kuraklık Stresi Kontrol Grubu ((KRS) Bitkiler kuraklık stresine maruz bırakılarak yetiştirilmiştir), 5- Kuraklık Stresi + 100 ppm Silikon Grubu ((KRS + 100 ppm Si) Kuraklık stresinde yetiştirilen bitkilere 100 ppm silikon uygulanmıştır), 6- Kuraklık Stresi + 200 ppm Silikon Grubu ((KRS + 200 ppm Si) Kuraklık stresinde yetiştirilen bitkilere 200 ppm silikon uygulanmıştır), 7. Tuz Stresi Kontrol Grubu ((K) Bitkiler tuz stresine maruz bırakılarak yetiştirilmiştir), 8. Tuz Stresi + 100 ppm Silikon Grubu ((TS-100ppm Si) Tuz stresinde yetiştirilen bitkilere 100 ppm silikon uygulanmıştır), 9. Tuz Stresi + 200 ppm Silikon Grubu ((TS-200ppm Si) Tuz stresinde yetiştirilen bitkilere 200 ppm silikon uygulanmıştır). Her bir grup için

10'ar saksıya 3'er tane tohum ekilmiş ve tohumlar 10. günden sonra her bir saksıda 1 bitki kalacak şekilde seyreltilmiştir. Buğday fideleri olgun iki yapraklı hale gelene kadar (14 gün) % 80 tarla kapasitesi ile sulanarak yetiştirilmiş, 14.gün sonunda stres uygulamalarına başlanmıştır.

Kontrol grubunda bitkiler, 14., 17., 21. ve 24. günlerde %80 tarla kapasitesi ile sulanmıştır. Tuz stresi uygulamasında, ilk hafta 100 mM ve ikinci hafta da 200 mM tuz (NaCl), sulama suyuna katılarak uygulanmıştır. Kuraklık stresinde, bitkiler sadece 14. ve 21. günlerde sulanarak birer hafta kuraklığa maruz bırakılmıştır. Silikon ise, bitkilere sadece 14. ve 21. günlerde toplam iki defa olmak üzere sulama suyuna katılarak uygulanmıştır. 28. günün sonunda bitkiler hasat edilmiştir.

Büyüme Parametreleri

Çalışmada farklı silikon dozlarının, stres koşulları altında buğday bitkisi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla bitki boyu, bitki ağırlığı, kök boyu ve kök ağırlığı gibi büyüme parametreleri incelenmiştir. Bunu belirlerken de yapılan literatür araştırmalarında, buğdayda büyüme göstergeleri olarak belirtilen bitki kısımları alınmıştır. Her gruptan 12'şer adet bitki kullanılmıştır.

Bağlı Su İçeriği

Kontrol ve stres uygulanmış gruplardan 6 adet yaprak örneği alınarak (rastgele seçilen 6 ayrı bitki örneğinden), bu yapraklardan 5'er cm kesit alınıp yaş ağırlıkları ölçülmüştür. 6 sa boyunca Double-distillat-H₂O içinde petri kaplarında bekletilerek turgorlu hale gelmeleri sağlanmış, 70°C'de 72 sa etüvde kurutulduktan sonra kuru ağırlıklar kaydedilmiştir. Her bir gruba ait yaprak örneklerinin bağlı su içeriği aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Bağlı Su İçeriği (\%)} = [(YA - KA) / (TA - KA)] \times 100 \quad (1)$$

YA=Yaş Ağırlık, KA=Kuru Ağırlık, TA=Turgorlu Ağırlık (Smart & Bingham, 1974).

Pigment İçeriği

Klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı tayini için bitkilerinin üst yapraklarından 0.04 g alınarak 4 ml %80 aseton içerisinde homojenize edildikten sonra 12.000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Yönteme uygun olarak hazırlanan ekstraktların sırasıyla 663 nm, 645 nm ve 480 nm dalga boylarındaki maksimum absorpsiyon değerleri spektrofotometre cihazı (Agilent Rochester, NY, USA) ile ölçülmüştür. Fotosentetik pigmentlerin miktarları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır (Arnon, 1949; Fuleki ve Francis, 1968).

$$\text{Klorofil-a} = A_{663} \times 12.70 - A_{645} \times 2.69 \quad (2)$$

$$\text{Klorofil-b} = A_{645} \times 22.90 - A_{663} \times 4.68 \quad (3)$$

$$\text{Toplam Klorofil} = 20.2 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663} \quad (4)$$

$$\text{Karotenoid} = A_{480} + A_{663} \times 0.114 - A_{645} \times 0.638/112.50 \quad (5)$$

İstatistiksel Analiz

Çalışmada denemeler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Hesaplamada kullanılan verilerin ortalaması; üç tekrarın ortalaması \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. Çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinde SPSS 17.0 paket programı ile Tukey testi uygulanmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki farklılık, istatistiksel olarak $P < 0.05$ ve $P < 0.01$ düzeyinde önem seviyesini ifade etmektedir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Buğdayda Kuraklık ve Tuz Stresi Altında Silikon Uygulamalarının Büyüme Parametreleri ve Bağlı Su İçeriğine Etkisi

Bu çalışmada *Triticum aestivum* L. Bitkisine silikon uygulamasının tuz ve kuraklık stresi altında bağlı su, büyüme parametreleri ve fotosentetik pigment miktarları üzerine etkisi araştırılmıştır. Kuraklık ve tuz stresine maruz bırakılan bitkilere farklı konsantrasyonlarda silikon uygulamasının büyüme parametrelerine etkisi Çizelge 1 ve Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 1. Buğdayda kuraklık stresi altında silikon uygulamalarının büyüme parametreleri ve bağlı su içeriğine etkisi

Uygulama	Bitki Boyu	% Değişim	Bitki Ağırlığı	% Değişim	Kök Boyu	% Değişim	Kök Ağırlığı	% Değişim	Bağlı Su	% Değişim
K	36.94±2.70 ^b	0	1.38±0.10 ^{ab}	0	39.24±0.15 ^{ab}	0	0.82±0.05 ^a	0	81.41±2.98 ^b	0
100 ppm Si	38.73±2.50 ^{ab}	4.84	1.49±0.08 ^a	7.97	41.95±1.38 ^a	6.90	0.76±0.03 ^a	-7.31	85.35±0.95 ^{ab}	4.84
200 ppm Si	40.40±2.50 ^a	9.36	1.27±0.06 ^{ab}	-7.97	37.85±2.05 ^{ab}	-3.54	0.72±0.22 ^a	-12.19	89.07±2.32 ^a	9.40
KRS	31.68±2.50 ^c	-14.23	0.85±0.25 ^c	-38.4	26.01±4.66 ^c	-33.71	0.47±0.04 ^b	-42.68	74.60±1.56 ^c	-8.36
KRS + 100 ppm Si	33.62±1.10 ^c	-8.98	1.25±0.14 ^{ab}	-9.42	33.36±2.00 ^{ab}	-14.98	0.67±0.13 ^a	-18.29	49.22±1.05 ^d	-39.54
KRS + 200 ppm Si	36.84±2.30 ^b	-0.27	1.19±0.10 ^b	-13.76	35.73±1.21 ^b	-8.94	0.67±0.04 ^a	-18.29	83.08±1.97 ^b	2.05

*p<0.05; **p<0.01

(K) Kontrol Grubu, (100 ppm Si)100 ppm Silikon Kontrol Grubu, (200 ppm Si) 200 ppm Silikon Kontrol Grubu, (KRS) Kuraklık Stresi Kontrol Grubu, (KRS + 100 ppm Si) Kuraklık Stresi + 100 ppm Silikon Grubu, (KRS + 200 ppm Si) Kuraklık Stresi + 200 ppm Silikon Grubu.

Çizelge 1’e göre kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde, bitki boyu kontrol grubuna göre %14.23 azalış gösterirken, 100 ppm silikon (%8.98) ve 200 ppm silikon (%0.27) uygulamaları ile bu azalma düşüş göstermiştir. Kontrol grubuna uygulanan 100 ppm (% 4.84) ve 200 ppm (% 9.36) silikon ise bitki boyunda artışa sebep olmuştur. Bitki ağırlığı kontrol grubuna göre stres altında %38.4 azalırken, 100 ppm silikon uygulamasında %9.42 ve 200 ppm silikon uygulamasında %13.76 oranında azalmıştır. Kuraklık stresine maruz kalan bitkilere 100 ppm silikon uygulandığında bitki ağırlığının kontrol grubu ile 200 ppm silikon uygulandığında ise bitki boyunun kontrol grubu ile istatistiksel olarak aynı sınıfta yer aldığı görülmektedir. Silikon uygulamaları stres grupları ile kıyaslandığında, stresin geriletici etkisini gidermede etkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde Maghsoudi ve ark., (2015) kuraklığa maruz bırakılarak yetiştirilen buğdaya uygulanan silikonun, bitki boyu, ağırlığı ve kuru ağırlık gibi parametrelerde stresin neden olduğu olumsuz koşulları iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Horuz (2018) silikonun bitkilerin yaprak ve saplarında pektin ve kalsiyum iyonlarıyla birleşerek silika-selüloz membran tabaka oluşturduğunu, bu sayede de yapraklarda transpirasyonu azaltarak kuraklığa direnç sağladığını bildirmiştir. Kızılgöçü ve ark., (2017) buğdayda çimlenme ve erken fide döneminde stres düzeyindeki artışın çimlenme hızı, fide uzunluğu ve sürgün boyu gibi özellikleri olumsuz etkilediğini bildirmiştir. Qadir ve ark., (2016) farklı buğday türlerinde sap uzatma aşamasında %30 ve %70 tarla kapasitesi uygulandığında bitki boyunda sırasıyla %2–24 ve %1–16 oranında azalma olduğunu bildirmiştir. Literatürlerde kuraklığın buğdayda yaş ağırlık kaybına neden olduğu yer almaktadır (Nikolaeva ve ark., 2008, Özdemir ve ark., 2012, Dolferus, 2014, Maghsoudi ve ark., 2015, Kızılgöçü ve ark., 2017, Bat ve ark., 2020).

Kuraklık stresinin kök gelişimi üzerine etkisi incelendiğinde kök boyu stres altında %33.71 azalış gösterirken, silikon uygulamaları ile bu farklı azalış 100 ppm için %14.98, 200 ppm için %8.94’e kadar gerilemiştir. Bitkinin kök ağırlığı ise kuraklık stresinden oldukça etkilenmiş ve %42.68 oranında kayıp yaşanmıştır. Bu kayıp her iki silikon uygulaması ile %18.29’a indirgenmiştir. Kuraklık stresi uygulanan gruplar ile kontrol grupları karşılaştırıldığında stres altındaki bitkilerde kök boyu ve kök ağırlığının

azaldığı tespit edilmiştir. Kuraklık stresi altında kök boyu ve kök ağırlığı bakımından bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1, $p<0.05$, $p<0.01$). Maghsoudi ve ark., (2015) kuraklık koşullarında silikon uygulanan buğday türlerinde kök boyu ve ağırlığının stresin neden olduğu olumsuz etkileri azalttığını ve kontrol grubuna yakın sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızı desteklemektedir.

Çizelge 2. Buğdayda tuz stresi altında silikon uygulamalarının büyüme parametreleri ve bağıl su içeriğine etkisi

Uygulama	Bitki Boyu	% Değişim	Bitki Ağırlığı	% Değişim	Kök Boyu	% Değişim	Kök Ağırlığı	% Değişim	Bağıl Su	% Değişim
K	36.94±2.70 ^b	0	1.38±0.10 ^{ab}	0	39.24±0.15 ^{ab}	0	0.82±0.05 ^a	0	81.41±2.98 ^b	0
100 ppm Si	38.73±2.50 ^{ab}	4.84	1.49±0.08 ^a	7.97	41.95±1.38 ^a	6.90	0.76±0.03 ^a	-7.31	85.35±0.95 ^{ab}	4.84
200 ppm Si	40.40±2.50 ^a	9.36	1.27±0.06 ^{ab}	-7.97	37.85±2.05 ^{ab}	-3.54	0.72±0.22 ^a	-12.19	89.07±2.32 ^a	9.40
TS	34.25±1.50 ^c	-7.28	0.83±0.11 ^c	-39.85	26.30±4.52 ^c	-32.97	0.43±0.05 ^c	-47.56	65.96±3.29 ^d	-18.97
TS + 100 ppm Si	35.91±2.70 ^{bc}	-2.78	1.18±0.01 ^b	-14.49	34.38±5.68 ^b	-12.38	0.65±0.08 ^{ab}	-20.73	76.16±1.40 ^c	-6.45
TS + 200 ppm Si	38.08±2.30 ^{ab}	3.08	1.25±0.16 ^b	-9.42	32.26±3.80 ^{bc}	-17.78	0.56±0.08 ^{bc}	-31.70	82.67±1.01 ^b	1.54
* $p<0,05$; ** $p<0,01$										

(K) Kontrol Grubu, (100 ppm Si) 100 ppm Silikon Kontrol Grubu, (200 ppm Si) 200 ppm Silikon Kontrol Grubu, (TS) Tuz Stresi Kontrol Grubu, (TS + 100 ppm Si) Tuz Stresi + 100 ppm Silikon Grubu, (TS + 200 ppm Si) Tuz Stresi + 200 ppm Silikon Grubu.

Çalışmamızda tuz stresi koşullarında yetiştirilen buğday bitkilerinin büyüme parametrelerinin değişimleri Çizelge 2’de verilmiştir. Stres koşulları altında bitki boyu kontrol grubuna göre azalış (%7.28) göstermiş, 100 ppm silikon uygulamasında bu azalış daha düşük (%2.78) iken, 200 ppm silikon uygulamasında kontrol grubuna göre artış (%3.08) olduğu tespit edilmiştir. Bitki ağırlığı kontrol grubuna göre tuz stresi altında %39.85, 100 ppm silikon uygulamasında %14.49 ve 200 ppm silikon uygulamasında % 9.42 azalmıştır. Normal koşullarda bitki boyu 200 ppm silikon uygulanan bitkilerde en yüksek tespit edilirken, bitki ağırlığı 100 ppm silikon uygulanan gruplarda en yüksek tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak incelendiğinde bitki ağırlığı ve bitki boyu açısından anlamlı farklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$, $p<0.01$). Sonuçlarımıza göre tuz stresi altında silikon uygulamalarının bitki boyu ve ağırlığında strese toleransı arttırdığı görülmektedir. Ghonaim ve ark., (2020) buğdayda tuz stresinin bitki boyu ve ağırlığına olumsuz etkisi olduğunu rapor etmiştir. Benzer şekilde Şenay ve ark., (2005), Özdemir ve ark., (2012) tuzluluğun fide boyu, kök uzunluğu ve bitki ağırlığının kontrol gruplarına göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızla uyumlu olarak Azeem ve ark., (2015) buğday tohumuna silikon uygulanarak yetiştirilen bitkilerin bitki boyu ve ağırlığının Saqib ve ark. (2008) ise kök ve sürgün ağırlığının kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğunu, tuz stresinde silikon uygulanan bitkilerde de stresin olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığını, Ahmad ve ark. (1992) tuz stresi altında silikon uygulamaları yapılan grupların sürgün ve köklerinin kontrole yakın değerlere sahip olduğunu bildirmiştir. Horuz ve Korkmaz (2013) çeltiklerde silikon gübrelemesinin toprakta Na-silikat oluşturarak Na miktarını azalttığını böylece tuzların zararlı etkilerini indirgediğini bildirmişlerdir.

Tuz stresi altında kök boyu kuraklık stresi koşullarına benzer şekilde etkilenmiş, kontrole göre %32.97 azalış kaydedilmiştir. Bitkinin kök ağırlığı ise daha fazla etkilenmiş, kontrole göre %47.56 azalış tespit edilmiştir. Si uygulamaları kök gelişimindeki kayıpları azaltmada etkili olmuş, 100 ppm Si uygulaması, 200 ppm Si uygulamasına göre daha etkili bulunmuştur. Sonuçlarımıza benzer şekilde Tuna ve ark., (2008) tuzlu ortamda düşük konsantrasyon silikon uygulamasının kök ağırlığını arttırmada, iki katı konsantrasyonda ise sürgün ağırlığını arttırmada daha etkili olduğunu bildirmiştir. Tuzluluk stresinde kuraklık stresine benzer şekilde stresli bitkiler kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, kök boyu ve kök ağırlığının azaldığı tespit edilmiştir. Tuz stresi altında kök boyu ve kök ağırlığı bakımından bütün

gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.01$). Azeem ve ark., (2015) tuz stresi altında yetiştirdikleri buğdayda kök gelişiminin düşük seviyede olduğunu, silikon uygulanan gruplarda ise kontrol gruplarına daha yakın kök gelişiminin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu sonuç bulgularımızı desteklemektedir.

Literatürler incelendiğinde tuz ve kuraklık stresinin buğdayda kök gelişimini olumsuz etkilediği görülmektedir (Şenay ve ark., 2005; Özdemir ve ark., 2012; Kızılgöçü ve ark., 2017; Ghonaim ve ark., 2020). Çalışmamızda stres koşullarında bitkilere uygulanan silikonun, stresin kök gelişimi üzerindeki geriletici rolünü durdurmaya yönelik etkileri olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 1 ve Çizelge 2'ye göre bağıl su içeriğinin kontrol gruplarındaki değişimleri incelendiğinde, 200 ppm silikon uygulanan gruplarda bağıl su içeriğinin en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kuraklık ve tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde, bağıl su içeriğinin önemli miktarda düştüğü görülmektedir. Özellikle kuraklığa maruz bırakılan bitkiler daha fazla etkilenmiştir. Uygulanan silikon miktarı arttıkça bitkilerin bağıl su içeriğinin de arttığı gözlenmiştir. Bağıl su bakımından bütün gruplar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı farklar olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1, Çizelge 2, $p<0.01$). Çalışmamıza benzer şekilde literatürlerde su ve kuraklık stresine maruz bırakılan buğday fidelerinde bağıl su içeriğinin, kontrol gruplarına göre daha düşük seviyelerde olduğu tespit edilmiştir (Das ve ark., 2017; Ahmed ve ark., 2020a; Ahmed ve ark., 2020b). Buğdayda silikon uygulaması ile yapılan çalışmalar incelendiğinde ise bor stresi altında Erkan (2019) ve kuraklık stresi koşullarında (Gong ve ark. 2005; Özdemir ve ark., 2012; Maghsoudi ve ark., 2015) yetiştirilen buğday bitkilerine silikon uygulanmasının bağıl su içeriğini arttırdığı bildirilmiştir. Ahmed ve ark., (2015) kuraklık stresi koşullarında buğday tohumuna üç farklı formda silikon (silisik asit, sodyum silikat ve silika jel) uygulamış ve bağıl su içeriği yüzdesi en yüksek bizim de çalışmamızda kullandığımız sodyum silikatta tespit edilmiştir. Öncel ve Keleş (2002), tuz stresinde yetiştirilen buğdaylarda yüksek oranda turgor kaybı olduğunu ve buna bağlı olarak da bağıl su içeriğinin stres koşullarında önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilere uygulanan silikon, bağıl su içeriğine etki ederek, stresin neden olduğu inhibisyonu giderdiği görülmektedir. Sonuçlarımız bu konuda ki literatürlerle uyumludur.

Buğdayda Kuraklık ve Tuz Stresi Altında Silikon Uygulamalarının Fotosentetik Pigmentler Üzerine Etkisi

Buğdayda kuraklık stresi ve tuz stresi altında silikon uygulamalarının fotosentetik pigmentler üzerine etkisi incelendiğinde, fotosentetik pigment miktarlarının, kontrol gruplarına göre önemli derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 3, Çizelge 4, $p<0.01$). Çalışmamız sonucunda elde edilen verilere göre, stres uygulanmayan kontrol gruplarında klorofil a, karotenoid ve toplam klorofil miktarları 100 ppm silikon uygulanan bitkilerde, 200 ppm silikon uygulanan bitkilere göre daha fazla miktarda tespit edilmiştir.

Klorofil a, klorofil b ve bunlara bağlı olarak toplam klorofil miktarları kuraklık stresi uygulanan bitkilerde kontrol grubuna göre düşük miktarda tespit edilmiştir. Yüzde değişimleri incelendiğinde kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde toplam klorofil miktarı kontrol grubuna göre %10.42 azalırken, 100 ppm silikon uygulanan gruplarda %1.61, 200 ppm silikon uygulanan gruplarda ise %16.77 oranında artmıştır. Klorofil a ve klorofil b de benzer şekilde yüzde değişimler tespit edilmiştir. Sonuçlarımıza benzer şekilde, Arslan (2018) kuraklık stresine maruz bırakılan buğday ve mısırdaki klorofil a ve klorofil b miktarının düştüğünü, Ahmed ve ark., (2020) su stresine maruz bırakılan buğdayda stresin şiddeti arttıkça klorofil miktarlarının azaldığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 3. Buğdayda kuraklık stresi altında silikon uygulamalarının pigment içeriği üzerine etkisi

Uygulama	Klorofil a	% Değişim	Klorofil b	% Değişim	Karotenoid	% Değişim	Toplam Klorofil	% Değişim
K	20.28 ± 1.57 ^{bc}	0	8.87 ± 1.13 ^{bc}	0	1.71 ± 0.17 ^{ab}	0	29.15 ± 2.59 ^{cd}	0
100 ppm Si	23.55 ± 0.67 ^a	16.12	9.99 ± 0.33 ^{ab}	12.62	1.60 ± 0.08 ^{bc}	-6.43	33.55 ± 0.95 ^{ab}	15.09
200 ppm Si	21.94 ± 1.40 ^{ab}	8.19	10.84 ± 1.88 ^a	22.20	1.49 ± 0.12 ^c	-12.86	32.78 ± 3.20 ^{abc}	12.45
KRS	18.01 ± 1.37 ^c	-16.96	8.10 ± 0.71 ^c	-8.68	1.90 ± 0.10 ^a	11.11	26.11 ± 2.04 ^d	-10.42
KS + 100 ppm Si	20.52 ± 1.35 ^b	1.18	9.10 ± 0.74 ^{abc}	2.59	1.84 ± 0.11 ^a	7.60	29.62 ± 2.09 ^{bcd}	1.61
KS + 200 ppm Si	23.59 ± 1.23 ^a	16.32	10.45 ± 0.50 ^{ab}	17.81	1.53 ± 0.12 ^{bc}	-10.52	34.04 ± 1.73 ^a	16.77
** p<0.01	**		**		**		**	

(K) Kontrol Grubu, (100 ppm Si)100 ppm Silikon Kontrol Grubu, (200 ppm Si) 200 ppm Silikon Kontrol Grubu, (KRS) Kuraklık Stresi Kontrol Grubu, (KS + 100 ppm Si) Kuraklık Stresi + 100 ppm Silikon Grubu, (KS + 200 ppm Si) Kuraklık Stresi + 200 ppm Silikon Grubu.

Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde, tilakoid membranlar hücrelerin dehidrasyonu sonucu parçalanmakta buna bağlı olarak klorofil miktarları azalmaktadır (Kalaji ve ark., 2016). Kuraklığa bağlı olarak bitkilerde su azlığından dolayı gerçekleşen klorofil kaybı oksidatif stresin tipik bir belirtisi olarak düşünülmekte stres altındaki bitkilerde klorofil içeriğindeki azalma, azalan RuBisCo miktar ve aktivitesi, fotosentetik elektron transportu ile fotofosforilasyondaki bu işlevlerle ilişkili metabolitlerin düzeylerindeki azalmadan kaynaklanabilmektedir (Fu ve Huang, 2001; Flexas ve Medrano, 2002; Parry ve ark., 2002; Anjum ve ark., 2011; Marcinska ve ark., 2013; Arslan, 2018; Yavaş ve ark., 2019).

Khadka ve ark., (2020)'e göre, daha yüksek klorofil içeriğine ve yavaş klorofil bozunmasına sahip buğday çeşitlerinin potansiyel olarak kuraklığa daha toleranslı olduğunu, bu nedenle, klorofil içeriğinin, kuraklık toleransı ve daha yüksek tane verimi için bir tespit aracı olarak kullanılabilir önemli bir özellik olduğunu bildirmişlerdir. Khayatnezhad ve ark., (2011) kuraklığa duyarlı buğday çeşitlerinin klorofil içeriğinde kayıplar olduğunu, toleranslı çeşitlerin ise stres altında daha yüksek klorofil içeriğine sahip olduklarını bildirmişlerdir. Silikon uygulamalarının kuraklık stresi altında yetiştirilen buğday bitkisi üzerine etkilerine yönelik literatürler incelendiğinde klorofil pigment miktarının silikon uygulanan bitkilerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Gong ve ark., 2005; Pei ve ark., 2010; Maghsoudi ve ark., 2015; Ma ve ark., 2016; Bukhari ve ark., 2020).

Sonuçlar karotenoid miktarı bakımından incelendiğinde, yalnızca silikon uygulanan bitkilerde, kontrol grubuna göre konsantrasyon arttıkça miktarda azalma olmuştur. Kontrol grupları ile kuraklık stresi uygulanan bitkiler karşılaştırıldığında, stres uygulanan gruplarda karotenoid miktarının arttığı görülmüştür. Kuraklık stresinde 100 ppm silikon uygulanan bitkilerde karotenoid miktarı %7.60 daha yüksek bulunurken, 200 ppm silikon uygulanan bitkilerde %10.52 azalış tespit edilmiştir. Kontrol grupları ile kuraklık stresinde silikon uygulanan gruplarda karotenoid miktarlarının değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu tespit edilmiştir (Çizelge3, p<0.01). Bukhari ve ark., (2020) kuraklık stresinde yetiştirilen iki farklı buğdayda karotenoid miktarının stres durumunda arttığını tespit etmişlerdir. Literatürlerde karotenoidlerin sadece bitkisel pigmentlerden biri olmadığı aynı zamanda oksidatif stres toleransında rol oynayan önemli antioksidanlar olarak bilindiği yer almaktadır (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Kaya ve İnan (2018) kuraklık stresine maruz kalan tütün bitkisinde karotenoid içeriğinin kontrole kıyasla tüm stres gruplarında arttığını bildirmiştir. Farklı stres koşullarında karotenoid içeriğinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Keleş ve Öncel, 2002; Kaya ve İnan, 2017; Kaya ve İnan, 2018).

Tuz stresi uygulanan bitkilerde, karotenoid dışındaki fotosentetik pigment miktarlarının kontrol gruplarına göre azaldığı tespit edilmiştir. Yüzde değişimleri incelendiğinde, tuz stresine maruz bırakılan gruplarda toplam klorofil miktarı %13.86 azalırken, tuz stresi ile birlikte 100 ppm silikon uygulanan gruplarda %18.32, 200 ppm silikon uygulanan gruplarda %33.72 oranında arttığı tespit edilmiştir. Tuz

stresi uygulanan gruplar ile kontrol grupları karşılaştırıldığında, en yüksek klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları, tuz ile 200 ppm silikon uygulanan bitkilerde saptanmıştır. Kontrol grupları ile tuz stresinde Si uygulanan bitkilerde fotosentetik pigment miktarlarının değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (Çizelge4, $p < 0.05$, $p < 0.01$). Çalışmamızda tuz stresi ve kuraklık stresinin fotosentetik pigmentler üzerine etkilerinin benzer olduğu görülmektedir. Tuz stresi uygulanan gruplar, karotenoid miktarı bakımından kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, stres uygulanan gruplarda artış tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol grupları ile tuz stresi uygulanan gruplar arasında karotenoid miktarı bakımından anlamlı farklar görülmektedir (Çizelge 4, $p < 0.01$). Bütün fotosentetik organizmalarda, fotosentez reaksiyonlarının kusursuz bir şekilde devam edebilmesi için karotenoidler ya aşırı eksitasyon enerjisini ısı olarak dağıtarak ya da reaktif oksijen türlerini uzaklaştırıp lipid peroksidasyonunu azaltarak fotokoruyucu görev üstlenirler (Gill ve Tuteja, 2010; Arslan, 2018). Bundan dolayı stres uygulanan bitkilerde karotenoid miktarının arttığını söyleyebiliriz.

Çizelge 4. Buğdayda tuz stresi altında silikon uygulamalarının pigment içeriği üzerine etkisi

Uygulama	Klorofil a	% Değişim	Klorofil b	% Değişim	Karotenoid	% Değişim	Toplam Klorofil	% Değişim
K	20.28 ± 1.57 ^d	0	8.87 ± 1.13 ^{cd}	0	1.71 ± 0.17 ^{bc}	0	29.15 ± 2.59 ^c	0
100 ppm Si	23.55 ± 0.67 ^{bc}	16.12	9.99 ± 0.33 ^{bc}	12.62	1.60 ± 0.08 ^{cd}	-6.43	33.55 ± 0.95 ^b	15.09
200 ppm Si	21.94 ± 1.40 ^{cd}	8.19	10.84 ± 1.88 ^{ab}	22.20	1.49 ± 0.12 ^d	-12.86	32.78 ± 3.20 ^b	12.45
TS	16.86 ± 0.50 ^e	-16.86	8.25 ± 0.41 ^d	-6.98	1.82 ± 0.08 ^b	6.43	25.11 ± 0.68 ^d	-13.86
TS + 100 ppm Si	24.07 ± 1.09 ^b	18.68	10.42 ± 0.33 ^{abc}	17.47	2.23 ± 0.12 ^a	30.41	34.49 ± 1.47 ^b	18.32
TS + 200 ppm Si	26.96 ± 1.43 ^a	32.93	12.02 ± 0.88 ^a	35.51	1.71 ± 0.10 ^{bc}	0	38.98 ± 2.28 ^a	33.72
** $p < 0.01$	**		**		**		**	

(K) Kontrol Grubu, (100 ppm Si) 100 ppm Silikon Kontrol Grubu, (200 ppm Si) 200 ppm Silikon Kontrol Grubu, (TS) Tuz Stresi Kontrol Grubu, (TS + 100 ppm Si) Tuz Stresi + 100 ppm Silikon Grubu, (TS + 200 ppm Si) Tuz Stresi + 200 ppm Silikon Grubu.

Öncel ve Keleş (2002) tuz stresinde yetiştirilen buğdayların klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarlarının kontrol gruplarına göre önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir. Liu ve ark., (2018) klorofil içeriğindeki kaybın, klorofil biyosentezi için enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunun azalmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Ali ve ark., (2019) tuz stresinde yetiştirilen buğday genotiplerinde silikon uygulamasının klorofil miktarlarını arttırdığını bildirmiştir. Kaya ve ark. (2008), tuz stresi altında yetiştirilen buğday bitkilerinde silikon uygulamasının bitki kuru maddesi ve klorofil kapsamı üzerine negatif etkileri düzelttiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalar sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Balakhnina ve Nosalewicz (2012), silikonun bitkilerde koruyucu rollerinden biri olarak, epidermisin kalınlaşmasıyla birlikte klorofil miktarının artması olarak bildirmişlerdir.

Frew ve ark., (2018) tuz, kuraklık, ağır metal ve mekanik stres gibi streslere maruz kalarak yetiştirilen bitkilere silikon uygulanmasının, stresin neden olduğu inhibisyonun ortadan kaldırılmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca literatürlerde bitki çeşitlerine göre tuzluluktan etkilenme sınırının, gelişme dönemlerine göre de değiştiği (Shannon, 1985), tahılların vejetatif ve erken dönemde tuza daha hassas olduğu (Shannon, 1984), ilk gelişme döneminde buğday çeşitleri arasında tuza tolerans bakımından önemli farklılıklar belirlendiğini bildirilmiştir (Veli ve ark., 1994).

SONUÇ

Bilinen tüm yaşam formları için en önemli yaşam sıvısı olan su, biyokimyasal aktivitelerin gerçekleştiği ortam olması nedeni ile zaruri bir kaynaktır. Bitkilerde büyüme, gelişme ve verim, topraktaki alınabilir suyun uygun düzeyde bulunmasına ve ozmotik dengenin olmasına bağlıdır. Yaptığımız çalışma ile buğday bitkisi hem kuraklığa hem de tuz ile ozmotik çözelti oluşturularak su

kıtlığına maruz bırakılmıştır. İki farklı silikon konsantrasyonu denenerek, incelenen parametreler değerlendirilmiş, her iki stres koşulu için optimum konsantrasyon belirlenmeye çalışılmıştır. Stres uygulanan gruplardaki bitkilerde büyüme ve gelişmenin olumsuz yönde etkilendiği tespit edilmiştir. Stres ortamlarında yetiştirilen buğday bitkilerinde silikon uygulamalarının, bitkinin büyümesinde ve gelişmesinde, bağıl su içeriğinde ve fotosentetik pigment miktarlarında strese toleransı arttırmaya yardımcı olduğu tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak, kurak ve tuzluluğun neden olduğu yarı kurak bölgelerde silikonun su kıtlığının şiddetini azaltarak buğday bitkisinin gelişmesini arttırabileceği görülmektedir. Her iki silikon konsantrasyonunda da, bariz şekilde stresin olumsuz etkilerinin azaltmaya yönelik tepkiler tespit edilmiştir. Stres uygulanan kontrol grupları ile silikon uygulanan gruplar arasında büyüme parametreleri, bağıl su ve pigment içeriğinde önemli farklar varken, farklı konsantrasyonlardaki silikon uygulamaları arasında büyük farklar olmayıp, incelenen parametrelere göre değişiklik göstermektedir. Sonuç olarak hem 200 ppm hem de 100 ppm silikon uygulaması ile olumlu sonuçlar elde edilmiş olup, düşük doz uygulama kullanılması hem maliyet hem de doğala yakınlık açısından sonraki çalışmalar için önerilmektedir.

Günümüzde hızlı nüfus artışı, değişen iklim koşulları ve artan tuzluluk gibi türümüzün karşı karşıya kaldığı çoklu tehditler, silikon ile mahsul iyileştirme araştırmalarına yönelimin hızlanması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma bir ön deneme niteliğinde olup, silikon ile ilgili çalışma yapacak araştırmacılara kaynak oluşturacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, 2018/2-40 D Nolu proje kapsamında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Çalışmamızda, *Triticum aestivum* Ceyhan-99 tohumlarını temin ettiğimiz KSÜ Ziraat Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Ziya Dumlupınar'a, laboratuvar imkanlarından faydalandığımız Prof. Dr. Şengül Karaman'a, ÜSKİM çalışanlarına ve KSÜ-BAP birimine teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması

Bu makalede yazarlar arasında kişisel veya mali açıdan çıkar çatışması yoktur.

Yazar Katkısı

Bu makalede, fikir oluşturulması, denetleme, kaynak oluşturulması, malzeme ve laboratuvar temini ve eleştirel inceleme Emel DIRAZ YILDIRIM tarafından yapılmıştır. Tasarım ve dizayn, veri toplama ve işleme, analiz ve yorum, literatür taraması ve makalenin yazımı Hakan GÜNEŞ tarafından yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- Ahmad R, Zaheer SH, Ismail S, 1992. Role of silicon in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Science, 85: 43-50.
- Ahmed HGM, Zeng Y, Yang X, Anwaar HA, Mansha MZ, Hanif CMS, İkrım K, Ullah A, Alghanem SMS, 2020. Conferring drought-tolerant wheat genotypes through morpho-physiological and chlorophyll indices at seedling stage. Saudi Journal of Biological Sciences, 27: 2116-2123.
- Ahmed M, Qadeer U, Ahmed ZI, Hassan F, 2015. Improvement of wheat (*Triticum aestivum*) drought tolerance by seed priming with silicon. Archives of Agronomy and Soil Science, DOI: 10.1080/03650340.2015.1048235.
- Ahmed K, Shabbir G, Ahmed M, Shah KN, 2020. Phenotyping for drought resistance in bread wheat using physiological and biochemical traits. Science of the Total Environment, 729, 139082.

- Ali A, Haq T, Mahmood R, Jaan M, Abbas, MN, 2019. Stimulating the Anti-Oxidative Role and Wheat Growth Improvement Through Silicon Under Salt Stress. *Silicon*, 11: 2403-2406.
- Anjum SA, Xie X, Wang L, Saleem MF, Man C, Lei W, 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9): 2026-2032.
- Arslan Ö, 2018. Su Kıtlığına Maruz Bırakılmış C3 ve C4 Bitkilerinin Fotosentetik Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(4): 47-54.
- Azeem M, Iqbal N, Kausar S, Javed MT, Akram S, Sajid MA, 2015. Efficacy of silicon priming and fertigation to modulate seedling's vigor and ion homeostasis of wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 14367-14371.
- Babita M, Maheswari M, Rao L M, Shanker AK, Rao DG, 2010. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. *Environmental and Experimental Botany*, 69: 243-249.
- Balakhnina TI, Nosalewicz M, 2012. Effect of silicon on growth processes and adaptive potential of barley plants under optimal soil watering and flooding. *Plant Growth Regulation*, 67 (1); 35-43
- Bat M, Tunçtürk R, Tunçtürk M, 2020. Ekinezya (*Echinacea purpurea* L.) Bitkisinde Kuraklık Stresi ve Deniz Yosunu Uygulamalarının Bazı Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23 (1); 99-107.
- Batlang U, Baisakh N, Ambavaram MM, Pereira A, 2013. Phenotypic and physiological evaluation for drought and salinity stress responses in rice. *Methods in Molecular Biology*, 956; 209-225.
- Battisti DS, Naylor RL, 2009. Historical Warnings of Future Food Insecurity with Unprecedented Seasonal Heat. *Science*, 323; 240-244.
- Bhargava S, Sawant K, 2013. Drought Stress Adaptation: Metabolic Adjustment and Regulation of Gene Expression. *Plant Breed*, 132: 21-32.
- Bukhari MA, Ahmad Z, Ashraf MY, Afzal M, Nawaz F, Nafees M, Jatoi WN, Malghani NA, Shah AN, Manan A, 2020. Silicon Mitigates Drought Stress in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Through Improving Photosynthetic Pigments, Biochemical and Yield Characters, *Silicon*, DOI 10.1007/s12633-020-00797-4
- Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C, 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103; 551-560
- Das B, Pargal S, Sahoo RN, Krishna G, 2017. Comparison of different uni- and multi-variate techniques for monitoring leaf water status as an indicator of water-deficit stress in wheat through spectroscopy. *Biosystem Engineering*, 160; 69-83.
- Doğan Z, Arslan S, Berkman AN, 2015. Türkiye'de Tarım Sektörünün İktisadi Gelişimi ve Sorunları: Tarihsel Bir Bakış. *Niğden Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 8(1); 29-41.
- Dolferus R, 2014. To Grow or Not to Grow: A Stressful Decision for Plants. *Plant Science*, 2229: 247-261.
- Erkan İE, 2019. Effect of Silicon Application on Wheat Under Boron Stress. *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences*, 23(3); 743-747.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA, 2009. Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29; 185-212.
- Flexas J, Medrano H, 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*, 83; 183-189.
- Fu J, Huang B, 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 45; 105-114.
- Ghonaim MM, Mohamed HI, Omran AAA, 2020. Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) salt stress tolerance using physiological parameters and retrotransposon-based markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 10; 1007-1072.
- Ghoulam CK Fares K, 2001. Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beat (*Beta vulgaris* L.). *Seed Science and Technology*, 29; 357- 364.
- Gill SS, Tuteja N, 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48; 909-930.

- Gong H, Zhu X, Chen K, Wang S, Zhang C, 2005. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science*, 169; 313–321.
- Horuz A, 2018. Silisyumun bitki gelişimine olan etkileri. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 6(2); 151 – 163.
- Horuz A, Korkmaz A, Karaman MR, 2013. Çeltik Topraklarının Silisyumlu Gübrelemeye Tepkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 19(4): 268-280
- İnan B, Emir O, Doğan R, Çarpıcı EB, 2018. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Hatlarının Çimlenme Döneminde Tuz Stresine Tepkileri. *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 32(1): 69-78.
- Kalaji HM, Jajoo A, Oukarroum A, Brestic M, Zivcak M, Samborska IA, Cetner MD, Łukasik I, Goltsev V, Ladle RJ, 2016. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*; 38 (4): 102.
- Kalefetoğlu T, Ekmekçi Y, 2005. The effect of drought on plants and tolerance mechanisms. *Gazi University Journal of Science*, 18 (4): 723- 740.
- Kara B, Akgün İ, Altındal D, 2011. Tritikale genotiplerinde çimlenme ve fide gelişimi üzerine tuzluluğun (NaCl) etkisi. *Selçuk Üniversitesi. Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(1):1-9.
- Kaya A, İnan M, 2017. Tuz (NaCl) Stresine Maruz Kalan Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) Bitkisinde Bazı Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Salisilik Asidin Etkileri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(3): 332-342.
- Kaya A, İnan M, 2018. Kuraklık ve Tuz Streslerine Maruz Kalan Tütün (*Nicotiana tabacum* L.) Bitkisinde Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Melatoninin Etkileri Armağan. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(4): 559-564.
- Kaya C, Tuna L, Higgs D, 2006. Effect of Silicon on Plant Growth and Mineral Nutrition of Maize Grown Under Water Stress Condition. *Journal of Plant Nutrition*, 29: 1469-1480.
- Khadka K, Earl HJ, Raizada MN, Navabi A, 2020. A Physio-Morphological Trait-Based Approach for Breeding Drought Tolerant Wheat. *Frontiers in Plant Science*, 11:715.
- Khayatnezhad M, Zaeifzadeh M, Gholamin R, 2011. Effect of endseason drought stress on chlorophyll fluorescence and content of antioxidant enzyme superoxide dismutase enzyme (SOD) in susceptible and tolerant genotypes of durum wheat. *African Journal of Agricultural Research*, 6: 6397–6406.
- Kızılgöçü F, Tazebay N, Namlı M, Albayrak Ö, Yıldırım M, 2017. The drought effect on seed germination and seedling growth in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Agriculture Environment and Food Science*, 1: 33–37.
- Korkmaz H, Durmaz A, 2017. Bitkilerin abiyotik stres faktörlerine verdiği cevaplar. *GÜFBED*, 7 (2): 192-207
- Koşkeroglu S, 2006. Tuz ve su stresi altındaki mısır (*Zea mays* L.) bitkisinde prolin birikim düzeyleri ve stres parametrelerinin araştırılması. *Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi (Basılmış)*.
- Kumari S, Roy S, Singh P, Singla-Pareek SL, Pareek A, 2013. Cyclophilins: proteins in search of function. *Plant Signaling and Behavior*, 8(1): e22734.
- Liu X, Li L, Li M, Su L, Lian S, Zhang B, 2018. AhGLK1 affects chlorophyll biosynthesis and photosynthesis in peanut leaves during recovery from drought. *Scientific Reports*, 8:2250.
- Ma D, Sun D, Wang C, Qin H, Ding H, Li Y, Guo T, 2016. Silicon application alleviates drought stress in wheat through transcriptional regulation of multiple antioxidant defense pathways. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35: 1–10.
- Maghsoudi K, Emam Y, Ashraf M, 2015. Influence of foliar application of silicon on chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and growth in water-stressed wheat cultivars differing in drought tolerance. *Turkish Journal of Botany*, 39: 625-634.
- Mali M, Aery NC, 2008. Influence of Silicon on Growth, Relative Water Contents and Uptake of Silicon, Calcium and Potassium in Wheat Grown in Nutrient Solution. *Journal of Plant Nutrition*, 31: 1867–1876.

- Marcinska I, Czyczylo-Mysza I, Skrzypek E, Filek M, Grzesiak S, Grzesiak MT, Janowiak F, Hura T, Dziurka M, Dziurka K, Nowakowska A, Quarrie SA, 2013. Impact of osmotic stress on physiological and biochemical characteristics in drought-susceptible and drought-resistant wheat genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35: 451-461.
- Mohammadi PP, Moieni A, Komatsu S, 2012. Comparative proteome analysis of droughtsensitive and drought-tolerant rapeseed roots and their hybrid F1 line under drought stress. *Amino Acids*, 43: 2137–2152.
- Mostafa GG, 2011. Effect of sodium azide on the growth and variability induction in *Helianthus annuus* L. *International Journal of Plant Breeding and Genetic*, 5: 76-85.
- Moussa HR, 2006. Influence of exogenous application of Si on physiological response of salt-stressed maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*, 2: 293-297.
- Nikolaeva MK, Maevskaya SN, Shugaev AG, Bukhov NG, 2008. Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57:94–102.
- Öncel I, Keleş Y, 2002. Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinin büyüme, pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler. *Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*. 23(2).
- Özdemir E, Sade B, Soylu S, Atalay E, 2012. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) priming uygulamalarının kurak ve normal ortam koşullarında büyüme parametreleri ile bağlı su içeriği değerlerinin üzerine etkileri. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 26(2): 25-30.
- Özpay T, 2008. Taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin kuraklık stresi olan tepkilerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi (Basılmış)*.
- Parry MJ, Androljic JP, Khan S, Lea PJ, Keys AJ, 2002. Rubisco activity: effects of drought-stress. *Annals of Botany*, 89: 833-839.
- Pei ZF, Ming DF, Liu D, Wan GL, Geng XX, Gong HJ, Zhou WJ, 2010. Silicon Improves the Tolerance to Water-Deficit Stress Induced by Polyethylene Glycol in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 29: 106–115.
- Pessarakli M, Tucker TC, Nakabayashi K, 1991. Growth response of barley and wheat to salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 14(4); 331-340.
- Pilon-Smits EA, Quinn CF, Tapken W, Malagoli M, Schiavon M, 2009. Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion in Plant Biology*, 12: 267-274.
- Pradhan A, Naik N, Sahoo KK, 2015. RNAi Mediated Drought and Salinity Stress Tolerance in Plants. *American Journal of Plant Sciences*, 6: 1990-2008.
- Qadir SA, Khursheed M, Huyop F, 2016. Effect of drought stress on morphology, growth and yield of six bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Zanco Journal of Pure and Applied Sciences*, 28: 37–48.
- Rana V, Ram S, Sendhil R, Nehra KM, Sharma I, 2015. Physiological, biochemical and morphological study in wheat (*Triticum aestivum* L.) RILs population for salinity tolerance. *Journal of Agricultural Science*, 7: 119-128.
- Rengasamy R, 2010. Soil processes affecting crop production in salt affected soils. *Functional Plant Biology*, 37: 613–620.
- Salim M, 1991. Comparative growth responses and ionic relations of four cereals during salt stress. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 166: 204-209.
- Saqid M, Zörb C, Schubert S, 2008. Silicon-mediated improvement in the salt resistance of wheat (*Triticum aestivum*) results from increased sodium exclusion and resistance to oxidative stress. *Functional Plant Biology*, 35: 633–639.
- Sarto MVM, Sarto JRW, Rampim L, Bassegio D, da Costa PF, Inagaki AM, 2017. Wheat phenology and yield under drought: a review. *Australian Journal of Crop Science*, 11: 941–946.
- Shabala S, 2013. Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. *Annals of Botany*, 112:1209–1221.

- Shannon MC, 1984. Breeding selection and the genetics of salt tolerance. Salinity Tolerance in Plant Strategies for Crop Improvement. A Wiley- Interscience Publisher, 231-254.
- Shannon MC, 1985. Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. Plant and Soil, 89: 227-241.
- Singh AK, Ansari MW, Pareek A, Singla-Paree, SL, 2008. Raising Salinity Tolerant Rice: Recent Progress and Future Perspectives. Physiology and Molecular Biology of Plants, 14: 137-154.
- Şen A, Sarsu F, 2018. Evaluating of Salt Stress Tolerance in Selected Wheat Mutant Progenies with Contributing Expression Analysis of TaWRKY Genes and Antioxidant Defence Parameters. Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 14(3): 315-320.
- Şenay A, Kaya MD, Atak M, Çiftçi CY, 2005. Farklı tuz konsantrasyonlarının bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi. 5 sayfa.
- Takeda S, Matsuoka M, 2008. Genetic Approaches to Crop Improvement: Responding to Environmental and Population Changes. Nature Reviews Genetics, 9: 444-457.
- Tomar RS, Tiwari S, Naik BK, Chand S, Deshmukh R, Mallik N, 2016. Molecular and morpho-agronomical characterization of root architecture at seedling and reproductive stages for drought tolerance in wheat. Plos One, 11:e0156528.
- Tuna AL, Kaya C, Higgs D, Murillo-Amador B, Aydemir S, Girgin AR, 2008. Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. Environmental and Experimental Botany, 62: 10-16.
- Van Hoorn JW, 1991. Development of soil salinity during germination and early seedling growth and its effect on several crops. Agricultural Water Management, 20:17-28.
- Veli S, Kırtok Y, Düzenli S, Tükel S, Kılınç M, 1994. Evaluation of salinity stress on germination characteristics and seedling growth of 3 bread wheats (*Triticum aestivum* L.). Tarla Bitkileri Kongresi, 25-29 Nisan 1994-İzmir, Cilt I, 57-61.
- Yavaş İ, Akgül HN, Ünay A, 2019. Bitkilerin Kuraklığa Dayanıklılığını Artırmaya Yönelik Uygulamalar. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4(1): 48-57.
- Yıldız M, Kaya F, Terzi H, 2020. Kuraklık Stresi ve Bitki Proteomiği. Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10(1): 286-297.
- Zhang WJ, Zhang XJ, Lang DY, Li M, Liu H, Zhang XH, 2020. Silicon alleviates salt and drought stress of *Glycyrrhiza uralensis* plants by improving photosynthesis and water status. Biologia Plantarum, 64: 302-313.
- Zhu Y, Gong H, 2014. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants. Agronomy for Sustainable Development, 34: 455-472.

Atf İçin: Kayabaş A, 2021. Jipsli Habitatlarda Doğal Olarak Yetişen *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon (Fabaceae)'nin Ultrayapısal Bulguları ve Uyarlanabilir Yanıtları. İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2573-2586.

To Cite: Kayabaş A, 2021. Adaptive Responses and Ultrastructural Findings of *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon (Fabaceae) Growing Naturally at Gypsum Habitats. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2573-2586.

Jipsli Habitatlarda Doğal Olarak Yetişen *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon (Fabaceae)'nin Ultrayapısal Bulguları ve Uyarlanabilir Yanıtları

Ayşenur KAYABAŞ^{1*}

ÖZET: *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon, Çankırı'da jipsli alanlara endemik çok yıllık bir bitkidir. *O. germanicopolitana*'nın vejetatif ve generatif organları üzerindeki taramalı elektron mikroskobu (SEM) gözlemleri, bitkinin jipsli habitatların belirli koşullarına adaptasyonlarını gösteren ultrayapısal özellikler hakkında ayrıntılı bilgiler sunmuştur. Yaprakların ultrayapısal çalışması, üst yüzeyde daha fazla stoma varlığı ile amfistomatik olduklarını, yoğun yüzey tüylerine sahip olduklarını ve palizat parankimasının (~110 µm) sünger parankimasından (~60 µm) daha geniş olduğunu ortaya çıkarmıştır. Gövdenin enine kesitlerinde sekonder yapı görülmüş ve kambiyum açıkça ayırt edilmiştir. Kök, bir korteks ve periderm ile çevrili büyük vasküler silindirin varlığını göstermiştir. Kaliksin tabanındaki tüy yoğunluğu oldukça fazladır ve kaliks epidermisinin dış yüzeyi altıgen hücrelerden oluşmuştur. Veksillumun dış yüzeyi girinti ve çıkıntı şeklinde kutikular çizgilere sahiptir. Diğer adaptasyon özelliklerine ek olarak, yaprak, gövde ve meyvelerde bol miktarda bulunan tüyler papiller çıkıntılara sahiptir. *O. germanicopolitana*'nın detaylı betimsel ultrayapısal özellikleri ilk kez bu çalışmada bilgi ve referans kaynağı olarak verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Endemik, Jipsofit, Kuraklık, *Onobrychis germanicopolitana*, SEM analizi

Adaptive Responses and Ultrastructural Findings of *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon (Fabaceae) Growing Naturally at Gypsum Habitats

ABSTRACT: *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon is a perennial plant endemic to gypsum areas in Çankırı, Turkey. Scanning electron microscopy (SEM) observations on vegetative and reproductive organs of *O. germanicopolitana* presented detailed information of ultrastructural properties, illustrating adaptations to specific conditions of gypsum habitats. The ultrastructural study of the leaves revealed them to be amphistomatic, with more stomata than the upper surface, to have densely surface hairs, and the palisade parenchyma (~110 µm) covers more area than sponge parenchyma (~60 µm). The secondary structure was sighted in the transverse sections of stem and cambium was clearly distinguish. The root showed the presence of large vascular cylinder surrounded by a cortex and periderm. Hair density at the base of the calyx is quite high and the outer surface of the calyx epidermis consists of hexagonal cells. The outer surface of the vexillum has cuticular lines in the form of indentations and protrusions. In addition to other adaptive features, the hairs abundantly found on leaves, stems and fruits had papillary protrusions. The ultrastructural properties of *O. germanicopolitana*, were given for the first time in this study revealing detailed descriptive ultrastructures that as a source of information and reference.

Keywords: Endemic, Gypsophyte, Drought, *Onobrychis germanicopolitana*, SEM analysis

¹Ayşenur KAYABAŞ ([Orcid ID: 0000-0003-3555-4399](https://orcid.org/0000-0003-3555-4399)) Çankırı Karatekin University, Faculty of Science, Department of Biology, 18100, Çankırı, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ayşenur KAYABAŞ, e-mail: aysenurkayabas@karatekin.edu.tr

INTRODUCTION

Fabaceae, also known as Leguminosae or the bean/pea family, is one of the largest plant families and it ranks second to Poaceae in terms of economic importance (Shaheen et al., 2020; Abusaief and Boasoul, 2021; Alimi et al., 2021). Fabaceae, the third largest Angiosperm family after Asteraceae and Orchidaceae, contains 765 genera and ~20000 species (Azani et al., 2017). Turkey includes 72 genera and 1228 taxa belonging to Fabaceae family, 383 of which are endemic, and the endemism rate ~31% (Güner et al., 2012; Latifi and Akan, 2020). Legumes also have the ability to contribute to soil fertility through biological nitrogen fixation for natural and agro-ecosystems. Legumes increase their tolerance to various biotic and abiotic stresses by establishing mutual relationships with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), which helps them meet their nutrient requirements in soils with low phosphorus content (Talebi et al., 2020; Alimi et al., 2021).

The distribution of the genus *Onobrychis* Adans., belonged to the Fabaceae family, is limited to the Palearctic region, including the centers of diversity in Turkey (74 taxa), Iran (52 taxa) and Caucasia (39 taxa) (Güner et al., 2012; Talebi et al., 2020). The rate of plants belonging to the Fabaceae family is high in arid habitats (Shaheen et al., 2020).

Çankırı province, which has been known as a settlement since the Neolithic period (7000-5000 BC), was first named Germanikopolis, then Gangra, and later Çankırı, known as Kengri (TR North Anatolian Development Agency, 2021). There are 1502 plant taxa in Çankırı province, 231 of which are endemic. According to the IUCN Red List by the International Union for Conservation of Nature, there are also 5 critically endangered (CR), 9 endangered (EN) and 15 vulnerable (VU) plant species in Çankırı (Anonymous, 2021a). Plant species growing in Çankırı and taking their epithet from ‘Germanikopolis’: *Centaurea germanicopolitana* Bornm., *Gypsophila germanicopolitana* Hub.-Mor., *Onobrychis germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon, *Tanacetum germanicopolitanum* (Bornm. & Heimerl) Grierson, *Sideritis germanicopolitana* Bornm., *Helianthemum germanicopolitanum* Bornm. and *Reseda germanicopolitana* Hub.-Mor. *O. germanicopolitana* is a perennial endemic medicinal plant found only in Çankırı (İnan et al., 2012).

Gypsum, the most common sulfate mineral in the world, is also found on Mars (Reiss et al., 2021). The relative area of gypsum soils can be quite high across continents, including 54.7% of Africa, 19.5% of Southern Asia, 25.3% of Central Asia, 0.4% of Europe (Spain and Turkey) and 0.1% of North America. According to the soil map of the world, the climate in gypsum soils is generally Mediterranean, continental and sub-tropical, desertic tropical and sub-tropical, tropical arid and dry (FAO, 2021). In Turkey, the Mediterranean climate is dominant in the provinces with gypsum soils (Çankırı, Çorum, Ankara, Eskişehir, Afyon, Malatya, Kayseri, Sivas and Erzincan) (Özdeniz et al., 2016). The subsidence dolines in Çankırı are one of the most important geological formations, representing a geological heritage with their rare karstic formations, unique landscapes and high diversity (Özcan and Aytaş, 2019).

Since the plasticity of gypsum soil is low, soil particles do not stick together resulting in a high incidence of erosion. At the same time, plant growth can be inhibited in soils with a gypsum content of more than 25% (FAO, 2021). Plants develop morphological adaptations to deal with these extreme conditions. Adaptation, which can be genetic or developmental in origin, includes both physiology and morphology traits (Beyschlag and Zotz, 2017). Morphology has always been important issue to taxonomy, for understanding plant growth and the reflection of abiotic stress on the plant and inferring phylogeny.

Gypsum and saline soils are among the major soils of arid and semi-arid regions of the world (Moghiseh and Heidari, 2012). Gypsum habitats are also often saline. Salinity induces changes in plant organ morphology, anatomy, and ultrastructure. The appearance and cell/tissue structure of root, shoot, leaf, fruit, seed, and flower are affected by stress, or the plant becomes tolerant by adapting via a specific structure (Jahromi et al., 2019).

Drought is considered as one of the most important environmental extremes that constraints to plant survival at gypsum habitats in arid and semi-arid regions. Plants growing under drought conditions have developed a range of anatomical, physiological and/or phenological adaptations to escape or tolerate water stress. Species which escaping drought are generally annual or biennial plants that complete their life cycle in a short time or they acquire permanent structural properties such as bulbs, rhizomes or runners, which remain hidden until conditions are right again (Rivera et al., 2017). The presence of xeromorphic features such as thick epidermis and sclerenchyma, developed bulliform cells, excretory structures, trichome density and succulence seen in drought-adapted plants are the best evidence of adaptation to arid conditions (Abd El-Maboud and Abd Elbar, 2020).

Studies on vegetation and plant ecology in the context of the morphological features that arise in relation to the substrate and arid climatic conditions in gypsum habitats are insufficient. Vegetation in extreme habitats is reflected in the ecomorphological characteristics (physiognomy) of dominant plants. Such traits are thought to be a response to abiotic factors such as substrate and climate. The term ecomorphological traits has been used to name traits of organisms that have a clear adaptive role with respect to environmental conditions. While several modern authors apply it to plants, this term is used more frequently in zoology (Loidi, 2018).

Micromorphological data play a significant role in the classification of Angiosperms (Zareh et al., 2017). While investigating the morphological and anatomical features of vegetative plant parts, especially leaves, by microscopy techniques the adaptive capacity of the species can be observed (Hu et al., 2020; Leshcheniuk and Chipilyak, 2020; Silva et al., 2020). Microscopy creates high-resolution images with high sensitivity that are widely used in morphological microanalysis of plant tissues (Chavarria et al., 2020). Plant parts of Fabaceae are highly variable, especially for epidermal cell types, and it is important to use micromorphological features in the differentiation of some taxa (Abusaief and Boasoul, 2021). The flower is a reproductive organ of evolutionary and systematic importance, and there is a great deal of literature on flower characteristics and ontogeny of flower organs in Fabaceae (Rather et al., 2021).

Scanning electron microcopy (SEM) is a valuable instrument in observing the surface micromorphology of plant parts due to the depth of field and high resolution not easily obtained with light microscopy, significantly increasing the use of microstructural characters in plant morphological studies (Shah et al., 2019). SEM, together with the light microscope, is widely used today to analyze the micromorphological features of most plant species (Majeed et al., 2020; Akhtar et al., 2021; Rosa et al., 2021). SEM provides more clear images of anatomical characters as compare to the LM at some species of family Fabaceae (Shaheen et al., 2020).

Supporting macromorphological features with LM and SEM microscope-based processes is very beneficial in interpreting the response of plants to environmental stress (Kim, 2018; Khan and Khan, 2020; Sadia et al., 2020; Han et al., 2021; Mani et al., 2021; Nazir et al., 2021; Noor and Ahmad, 2021). There are recent studies with SEM of members of the Fabaceae family, but SEM studies that interpret adaptation to abiotic stress are insufficient (Bacchetta et al., 2020; Shaheen et al., 2020; Abusaief and Boasoul, 2021; Guerrero et al., 2021; Kashyap et al., 2021; Soares et al., 2021).

The adaptive responses of the plant to abiotic conditions such as drought and salinity stress were interpreted with the anatomical and ultrastructural structure of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* (L.) Boiss. by Abd El-Maboud and Abd Elbar (2020). In several reports, xerophytic features such as the organization of leaves, the presence of a protective outer layer of the epidermis and cuticle and the characteristics of stomata, the presence of gypsum crystals on stems, trichomes and glandular hairs as well as leaves have been interpreted by the anatomical and ultrastructural features of the plant, in the adaptation of gypsophiles to changing environmental conditions (Rabizadeh et al., 2019; Rabizadeh, 2020a; Rabizadeh, 2020b).

In this study, *O. germanicopolitana* plants growing naturally on gypsum habitats of Çankırı (Turkey) were examined. There are no studies by SEM on vegetative and reproductive plant parts of *O. germanicopolitana* up to now. This study seeks to answer the question of which adaptive responses are made to the ultrastructures on the plant parts of *O. germanicopolitana* with respect to drought conditions and gypsum soils.

MATERIALS AND METHODS

Morphology of Plant Samples

O. germanicopolitana is a perennial plant that is woody at the base (Figure 1a). Flowering stems are herbaceous and procumbent or arcuate-ascending. Its leaves are linear oblong or elliptic and very closely pilose on both surfaces, eventually glabrescent (Figure 1b). Peduncles are axillary, very short or absent. Calyx lobes are subulate, subequal and densely pilose (Figure 1c). Corolla is rose colored; standard suborbicular, scarcely emerginate (Figure 1c). The legume is semiorbicular, with very short, very closely adpressed hairs, crest 1-3- denticulate (Figure 1d). Flowering term is in June on gypsum hills (Davis et al, 1988; Figure 1e).

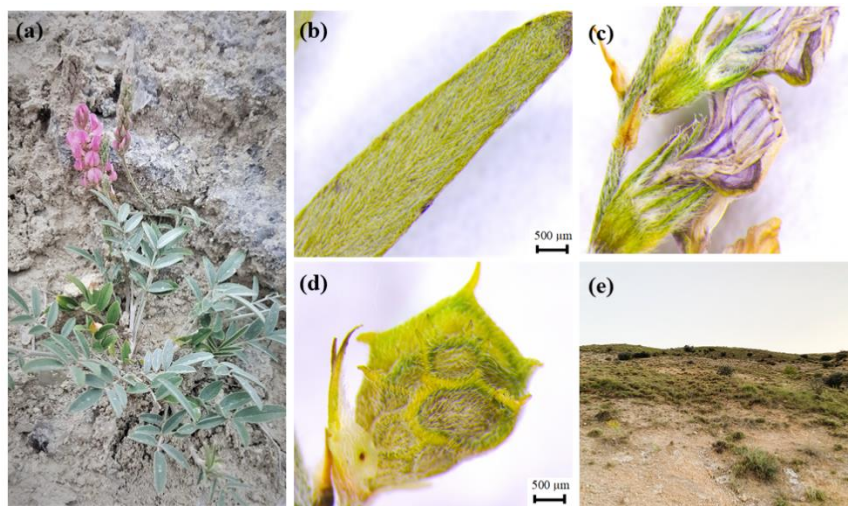


Figure 1. Morphology of *O. germanicopolitana* Hub.-Mor. & Simon (from Çankırı province) observed by using a stereomicroscope (Photos by A. Kayabaş). (a) Plant habit. (b) Leaf surface. (c) Calyx and corolla surfaces. (d) Fruit surface. (e) Gypsum habitat where the species grows. (Scale bars; b, c, d= 500 µm)

The Study Area and Collection of Samples

Geographically, Çankırı province, which is 130 km from Ankara, is located in the Central Anatolia and is in the A4 square according to the grid system of Davis (1965-1985). Çankırı province is covered by Oligo-Miocene deposits (Sönmez and Celik, 2017) and Dolines are the most common gypsum formations (Özcan and Aytaş, 2019). Topographically, the study area is covered with small hills and soft valleys with gypsum soils covering most of the area.

O. germanicopolitana was collected from gypsum habitats located in Süleymanlı village (700-750 m a.s.l., 40°48'18.6" N, 33°64'69.0" E, Çankırı, Turkey) in May-June 2020. Taxonomical identifications of the *O. germanicopolitana* were made according to Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Davis et al., 1988). The plant material identification was determined by the author. Samples have been stored in Çankırı Karatekin University as a personal collection. Plant samples were taken individually from their natural habitat cleaned of soil and dirt using a fine paintbrush or by gently blowing on the sample followed by a wash with distilled water.

Climatological and Meteorological Analyses

Long term meteorological data recorded at the Çankırı station for the period of 1930 to 2020 were obtained from the databases of the Turkish State Meteorological Service (TSMS, 2020). Precipitation in the study area is low from June to October (drought period), which is typical of the Mediterranean climate. Based on long-term meteorological data, the maximum precipitation occurred in December (~45 mm), while the minimum precipitation occurred in September (~18 mm). When multi-annual average of precipitation (mm) is analyzed seasonally, the rainfall regime is Sp.W.Sm.A (spring, winter, summer, autumn, respectively 141.1, 124.9, 82.3 and 69.9 mm) type. The coldest month, with a long-term average temperature of -25 °C, is January, and the warmest, with an average of 42,4 °C, is July. The ombrothermic climate diagram (Figure 2) for Çankırı was drawn using Gausse's method in the Excel software (Akman, 2010). The climate of the study area in which the steppe vegetation is dominant is characterised by cold winters and hot summers with drought periods (Figure 2). This type of climate can be classified as a cold, semi-arid variant of Mediterranean type, particularly predominant in Central Anatolia (Akman, 2010; Table 1).

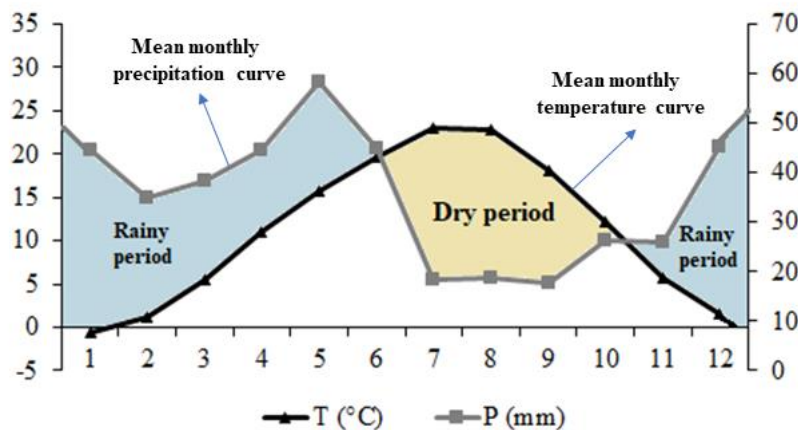


Figure 2. Ombrothermic diagram of Çankırı province

Table 1. Bioclimatic synthesis of Çankırı

Altitude (m)	P (mm)	M (°C)	m (°C)	PE	Q	S	Rainfall regime	Bioclimate
755	418.2	23.0	-0.5	82.3	62.6	3.58	Sp.W.Sm.A	Semi-arid cold Mediterranean climate

P: Average annual precipitation (mm). M: Average of maximum temperatures of the warmest month (°C). m: Average of minimum temperatures of the coldest month (°C). Q: Emberger's pluviometric quotient ($Q=2000.P/M^2-m^2$). S: Emberger's index of aridity ($S=PE/M$)

The Mediterranean climate becomes arid as the quotient value decreases and if the Q value is between 32 and 63, the climate type is semi-arid (Emberger, 1930). Since the Q value is 62.6 in the Çankırı province, the climate type is semi-arid (Emberger, 1930). The water budget for the province of Çankırı was calculated using Thornthwaite's (1948) climate classification and diagram was drawn in the Excel software (Figure 3). While the soil moisture is high in the winter months, there is a water deficit

between June and October (Table 2; Figure 3). The months when the water deficit is most evident are July and August. When the details of the water budget of the study area are examined in detail (Table 2), there is an excess of soil moisture (150.40 mm in total) from November to March and a water deficit period (total 324.20 mm) from June to October.

Table 2. Thornthwaite water budget of the Çankırı station for 1990-2020

	Jan	Feb	Mar	Apr	May	June	July	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total
<i>T</i>	-0.5	1.2	5.6	11.1	15.8	19.7	23.0	22.8	18.1	12.1	5.7	1.5	
<i>i</i>	0.00	0.11	1.19	3.41	5.88	8.26	10.32	10.35	7.25	3.9	0.11	0.15	<i>I</i> = 50.93
<i>UPE</i>	0.0	2.4	18.1	43.7	68.9	91.6	111.9	110.6	82.1	48.9	18.5	3.3	
<i>n</i>	0.84	0.83	1.03	1.11	1.24	1.25	1.27	1.18	1.04	0.96	0.83	0.81	
<i>APE</i>	0.0	2.0	18.6	48.5	85.4	114.5	142.1	130.5	85.4	46.9	15.4	2.7	692.00
<i>P</i>	44.7	34.9	38.3	44.6	58.2	45.0	18.4	18.9	17.6	26.4	25.9	45.3	418.20
<i>ST</i>	100.0	100.0	100.0	96.1	68.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	100.0	
<i>AE</i>	0.0	2.0	18.6	48.5	85.4	113.9	18.4	18.9	17.6	26.4	15.4	2.7	367.80
<i>S</i>	44.7	32.9	19.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.5	42.6	150.40
<i>D</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	123.7	111.6	67.8	20.5	0.0	0.0	324.20

T: Mean monthly temperature (°C). *i*: Monthly heat index. *I*: Heat index. *UPE*: Unadjusted potential evapotranspiration (mm). *n*: Amplitude index. *APE*: Adjusted potential evapotranspiration (mm). *P*: Monthly precipitation (mm). *ST*: Soil moisture storage (mm). *AE*: Actual evapotranspiration (mm). *S*: Soil moisture surplus (mm). *D*: Soil moisture deficit (mm)

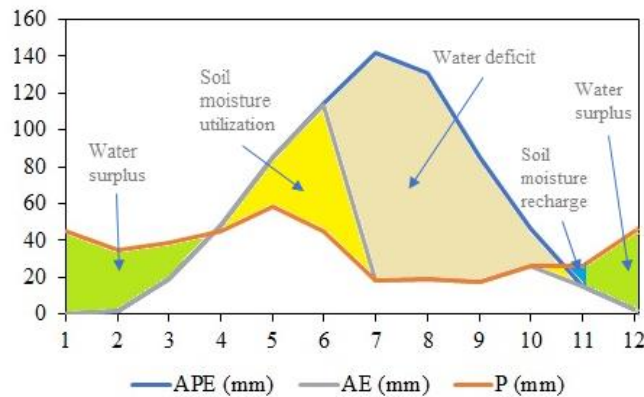


Figure 3. Thornthwaite water budget diagram of the Çankırı province

Sample Preparation for Scanning Electron Microscopy

The morphological characters were examined by SEM. The of vegetative and reproductive parts were studied by using a stereomicroscope and SEM (Gul et al., 2019; Khan et al., 2021). For this purpose, dried plant parts were cut into small pieces and SEM stubs were placed. Firstly, the plant parts were attached using double-sided adhesive tape and plated with gold in a Polaron SC 502 sputter coater. Secondly, the plant parts were investigated at varying magnifications using SEM (JEOL JSM 6060 LV) at 10 kV. Microphotographs were shot at Gazi University. Also, plant parts were photographed with a Leica M125 stereomicroscope.

RESULTS AND DISCUSSION

Vegetative Plant Parts Ultrastructure

Leaf anatomical features of *O. germanicopolitana* indicated the presence of xeromorphic structures. Its leaves have a densely addressed pilose indument on both surfaces (Figure 4a,5a). These trichomes have protruding papillae on their surface (Figure 4b,5b). The presence or absence of papillae on the hair surface is important for phylogeny (Zarre, 2003). Upper epidermis consist of square and rectangular oval shaped cells (Figure 4c). Lower epidermis consist of rectangular oval occasionally irregular shaped cells (Figure 5c). Zareh et al. (2017) have documented cell wax and epidermal cell shape for the stem and leaf at micromorphological study on the genus *Lotus* L. (Fabaceae). Stomata of

xeromorphic type were observed more on the lower surface of the leaf than on the upper surface in *O. germanicopolitana* (Figure 5d). These xeromorphic stomata are found in stomatal crypts. Although the stomata appear to be elevated in the surface view of the leaf (Figure 5d), the guard cells are actually sunken, with raised neighboring cells. These properties, which were interpreted by Yiotis et al. (2006) as retarding the water loss of the plant, were also observed in *O. germanicopolitana*. Its leaves are amphistomatic with the stomata lengths $\sim 15 \mu\text{m}$. Amphistomaty, more common in xeric habitats, shortens the distance of CO_2 diffusion to mesophyll cells (Yiotis et al., 2006). The presence of small and non-succulent amphistomatic leaves of *O. germanicopolitana* indicates its tolerance to arid gypsum habitats. Zhu et al. (2019) reported that the leaves of lettuce plants under drought stress decreased in size and that stomatal density increased. Crystalline epicuticular waxes were observed on surface of the leaves (Figure 4d). Epicuticular waxes, which cover the leaves, flowers, fruits and non-woody stems of terrestrial plants, appear as small crystals under the microscope, creating a jagged appearance (Gorb et al., 2008). Gorb et al. (2008) reported that both leaflet surfaces of *Pisum sativum* L. are densely covered with crystalline epicuticular waxes. Shaheen et al. (2020) investigated the leaves of endemic Fabaceae species and reported that epidermal cells, stomata and trichomes are of good taxonomic utility in the Fabaceae.

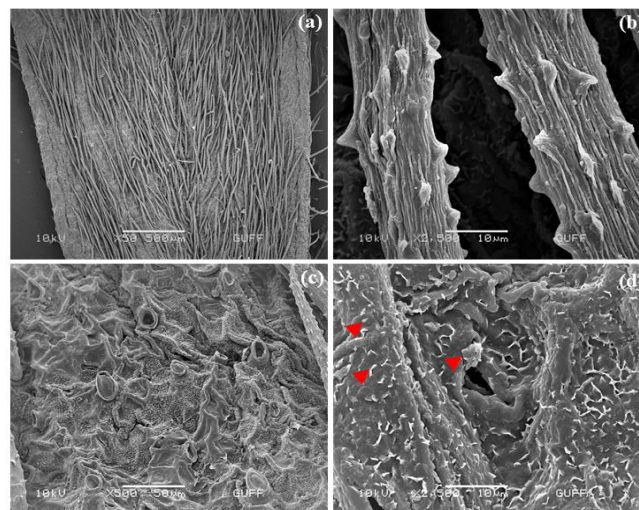


Figure 4. SEM images of the upper surface of *O. germanicopolitana* leaf. (a) The general view of the upper surface, Scale bar = $500 \mu\text{m}$. (b) Leaf hairs, Scale bar = $10 \mu\text{m}$. (c) Surface shape of the upper epidermis, Scale bar = $50 \mu\text{m}$. (d) Crystals (►), Scale bar = $10 \mu\text{m}$

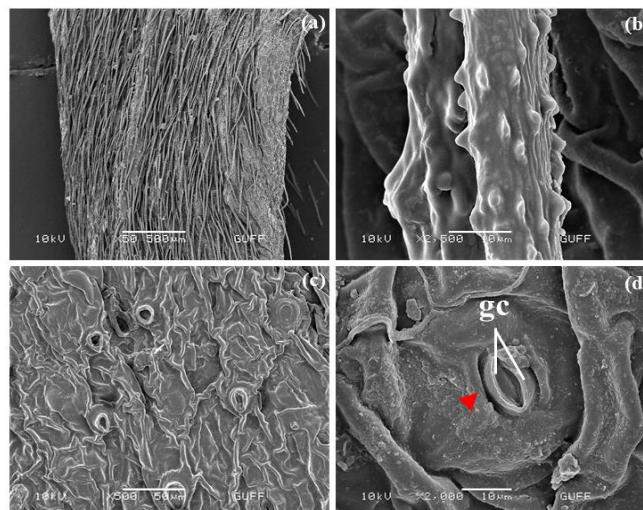


Figure 5. SEM images of the lower surface of *O. germanicopolitana* leaf. (a) The general view of the lower surface, Scale bar = 500 μm . (b) Leaf hairs, Scale bar = 10 μm . (c) Surface shape of the lower epidermis, Scale bar = 50 μm . (d) An open stomata (►), with two guard cells, gc: guard cells, Scale bar = 10 μm

Transverse leaf sections were observed to be dominated by the palisade parenchyma compared to the sponge parenchyma and the mesophyll type was dorsiventral (Figure 6a). The leaves are surrounded by single layered epidermis on the upper and lower surfaces (Figure 6b). Underneath of upper epidermis, there are palisade parenchyma cells (Figure 6b). Their mesophyll thickness was $\sim 160 \mu\text{m}$, and the palisade parenchyma ($\sim 110 \mu\text{m}$) covers a larger area than the sponge parenchyma ($\sim 50 \mu\text{m}$) (Figure 6c). Palisade parenchyma cells are long and cylindrical or rectangular shaped in *O. germanicopolitana* (Figure 6b). Spongy parenchyma cells are composed of irregularly circular shaped cells with large intercellular spaces (Figure 6c). Since it is believed that abundant palisade tissue also increases the CO_2 absorbing surface of the mesophyll (Terashima et al., 2005), leaf ultrastructure should be examined in detail in order to understand the adaptation mechanisms of plants grown in arid environments.

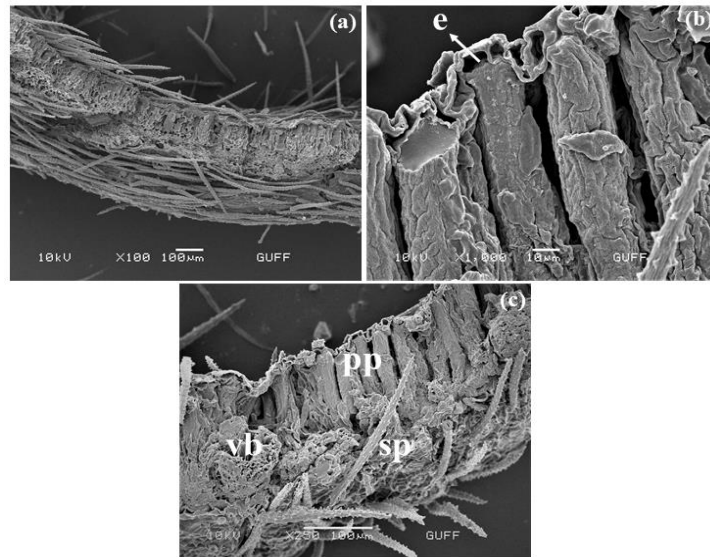


Figure 6. SEM images of transverse section of *O. germanicopolitana* leaf. (a) The general view, Scale bar = 100 μm . (b) Epidermis, e: one layer epidermis, Scale bar = 10 μm . (c) Mezophyll, pp: palisade parenchyma cells, sp: spongy parenchyma cells, vb: vascular bundles, Scale bar = 100 μm

The secondary structure of the stems was observed in the transverse sections, and it is shown to progress from the epidermis on the outside to the cortex (parenchyma cell layer), central cylinder, xylem and phloem, and then pith on the inside (Figure 7a,b,c,d). The epidermis consisted of square or rectangular oval cells in *O. germanicopolitana* (Figure 7b). Underneath the epidermis there was collenchyma with 1-2 layered cells while collenchyma in the cortex was multilayered. The cortex consist of parenchyma cells and cells of cortex were oval and occasionally irregular in shape (Figure 7c). The vascular cambium was clearly distinguish with as a region of 2-5 layers situated between the pith and cortex. Tekin and Yılmaz (2015) noted that in the cross section of the stems of four rare *Onobrychis*, the epidermis cell shapes were square, rectangular or rectangular oval, and that the cortex in these species was surrounded by parenhyma cells.

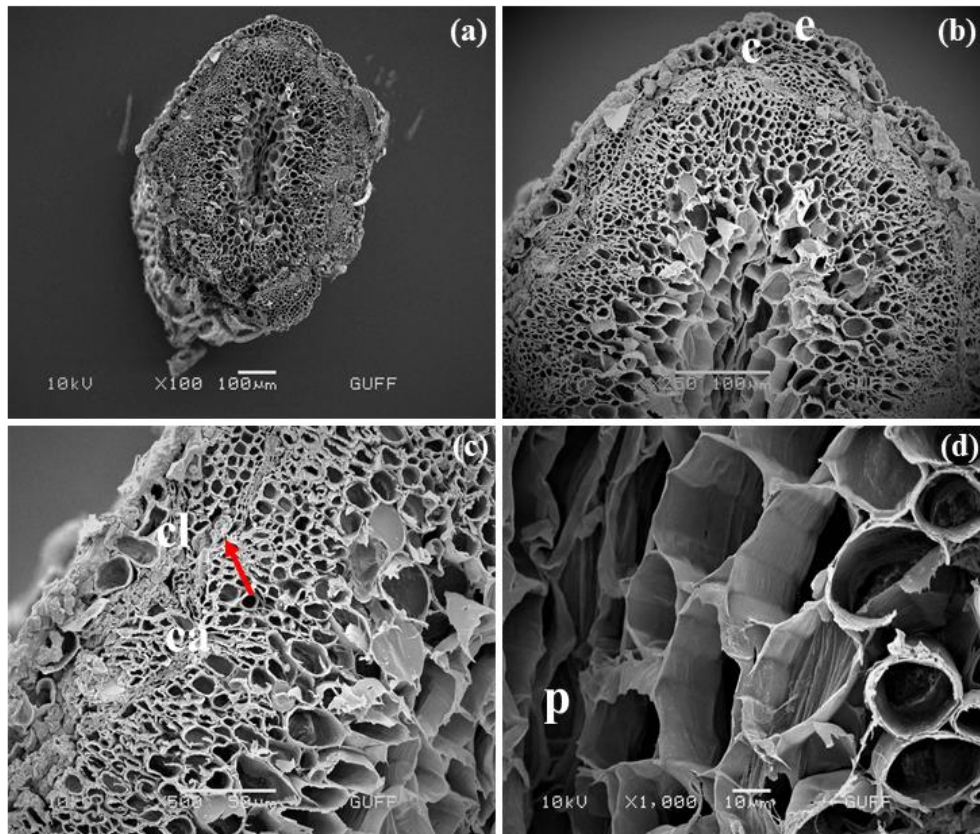


Figure 7. SEM images of transverse section of *O. germanicopolitana* stem. (a) The general view, Scale bar = 100 μ m. (b) Parts of stem, e: epidermis, c: cortex, Scale bar = 100 μ m. (c) ca: kambiyum, cl: collenchyma, sclerenchyma (\rightarrow), Scale bar = 50 μ m. (d) p: pith, Scale bar = 10 μ m

Roots were ~ 1.3 mm in diameter with a uniform periderm (~ 11 μ m) all around the root (Figure 8a,b). Electron micrographs of the root cross section showed the presence of large vascular tissue (~ 0.9 mm) surrounded by the cortex and periderm (Figure 8b). In roots of *O. germanicopolitana*, the xylem is found in central core of the vascular cylinder with elements forming radii. The protoxylem vessels were smaller than of the metaxylem vessels (Figure 8c). Tekin and Yılmaz (2015) documented that the stems and roots of *Onobrychis* sp. display a similar composition.

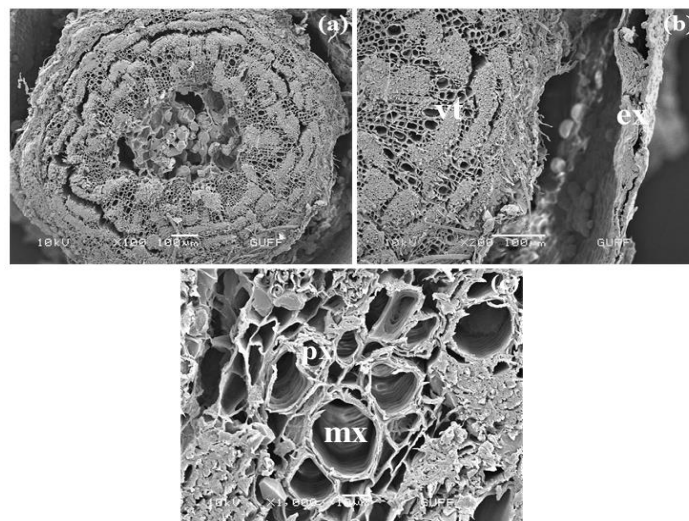


Figure 8. SEM images of transverse section of *O. germanicopolitana* root. (a) The general view, Scale bar = 100 μ m. (b) e: exodermis (periderm), vt: vascular tissue, Scale bar = 100 μ m. (c) Xylem tissue, mx: metaxylem, px: protoxylem, Scale bar = 10 μ m

Reproductive Plant Parts Ultrastructure

The flowers of the plants in the papilionoid Fabaceae are complex. The petals are modified into a vexillum, wings and keel, with the reproductive structures being enclosed by the keel (Etcheverry et al., 2008). The flower of *O. germanicopolitana* (Figure 9a,b,e) is markedly asymmetric except for the calyx, which is zygomorphic. The calyx is tubular and encloses the bases of the petals, taking the shape of a tube. As with the leaf, there are hairs with protruding papillae on the surface of the calyx (Figure 9b,c). Hair density at the base of the calyx is quite high and the outer surface of the calyx consists of hexagonal cells (Figure 9d). The corolla has five petals that form a functional tube enclosed by the elongated tubular calyx and has a dark purple bands (Figure 1c). The outer surface of the vexillum has cuticular lines in the form of indentations and protrusion (Figure 9f). Kochanovski et al. (2018) reported that the presence of protrusions on the surface of the anthers, sepals and petals of *Hymenaea verrucosa* Gaertn. belonging to the Fabaceae family, and that the surface structure of the calyx epidermis showed indented features.

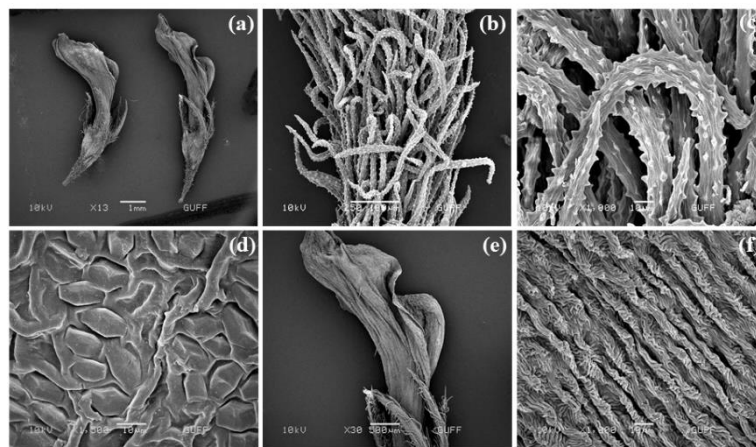


Figure 9. SEM images of *O. germanicopolitana* flower. (a) The general view, Scale bar = 1 mm. (b) Calyx base, Scale bar = 100 µm. (c) Calyx hairs, Scale bar = 10 µm. (d) Calyx surface, Scale bar = 10 µm. (e) Corolla, Scale bar = 500 µm. (f) Corolla surface, Scale bar = 10 µm

The legume in *O. germanicopolitana* is semiorbicular (Figure 10a), with very short, closely addressed hairs (Figure 10b), crest 1-3- denticulate. Etcheverry et al. (2008) documented that the thickness and shape of sepals and petals, and the joint function of keel-wings showed are directly related to the size of the pollinators of *Vigna caracalla* (L.) Verdc. They also interpreted that the presence of cuticular lines in the form of indentations and protrusion on the outer surface of the vexillum could serve as both a tactile guide for nectar and a foothold for visitors.

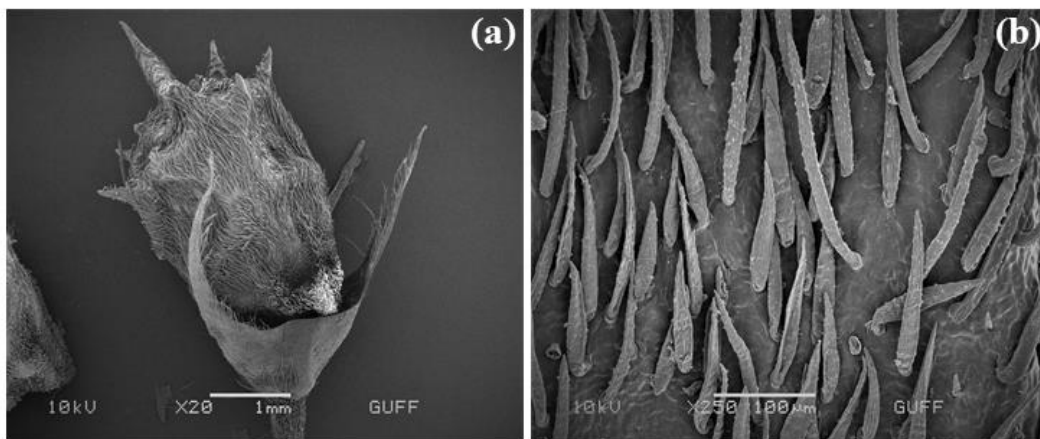


Figure 10. SEM images of *O. germanicopolitana* fruit. (a) The general view, Scale bar = 1 mm. (b) Fruit surface with hairs, Scale bar = 100 µm

CONCLUSION

As a result of a suite of anatomical features, gypsophytes are resistant to saline soils and drought characteristic of gypsum. *Onobrychis germanicopolitana* is a good example of such a gypsophyte. There are also plants such as *Achillea gypsicola* Hub.-Mor., *Alyssum nezaketiae* Aytaç & H. Duman, *Helianthemum germanicopolitanum* Bornm., *Thymus leucostomus* Hausskn. et Velen var. *gypsaceus* Jalas, *Paracaryum paphlagonicum* (Bornm.) R. Mill and *Salvia absconditiflora* Greuter & Burdet in the habitat of the *O. germanicopolitana*. It can survive in extreme environments and face multiple stresses associated with gypsum habitats. Under such extreme conditions, their morphology and ultrastructure provide clues about their adaptive response. It can be concluded that *O. germanicopolitana* has the ultrastructure of a gypsophyte. Here it can be reported that the first ultrastructural investigation of *O. germanicopolitana*, providing a broader overview of the morphology and additional characters relevant to the taxonomic status of this species. In gypsum areas where the species grows, the dry season is quite long and drought severity is high. In order to prevent or reduce water loss during the dry period, plants like *O. germanicopolitana* show morphological and anatomical adaptations of their vegetative structures. Gypsum habitats are used as models for adaptation to extreme habitats. Particularly, the ultrastructure of the endemic *O. germanicopolitana* emphasizes its anatomical adaptations to withstand dryness and atypical mineral soils. Conservation strategies of the species are very important as *O. germanicopolitana*, whose only habitat is in Çankırı province, is point endemic. *O. germanicopolitana* is in the EN category according to the Red Data Book of Turkish Plants (Ekim et al., 2000). *O. germanicopolitana* faces anthropogenic pressures such as grazing, agriculture, and road work in its habitat. Conservation strategies should be developed and extinction should be ensured by further research on the ecological characteristics and habitat preferences of the species. No literature data has been found so far that *O. germanicopolitana* was collected in Turkey or even outside of Çankırı. Therefore, the position and importance of the plant in Turkey also reflects its position in the world.

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to thank Prof. Dr. Zekiye Suludere (Gazi University, Faculty of Science, Department of Biology) for her invaluable support in the process of picturing my study materials with scanning electron microscope (SEM) and Prof. Dr. Donovan Bailey (New Mexico State University, Department of Biology), who revised the grammar of this article.

Conflict of Interest

I declare that there is no conflict of interest during the planning, execution and writing of the article.

Author's Contributions

I hereby declare that the planning, execution and writing of the article was done by me as the sole author of the article.

REFERENCES

- Abd El-Maboud M, Abd Elba OH, 2020. Adaptive responses of *Limoniastrum monopetalum* (L.) Boiss. growing naturally at different habitats. *Plant Physiology Reports*, 25(2): 325-334.
- Abusaief HMAA, Boasoul SH, 2021. A taxonomic study of twelve wild forage species of Fabaceae. *Heliyon*, 7(2): e06077.

- Akhtar N, Hayat MQ, Hafiz IA, Abbasi NA, Malik SI, Habib U, Hussain A, Potter D, 2021. Comparative palynology and taxonomic implication of *Jasminum* L. (Oleaceae) species from Pakistan on the bases of scanning electron microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 1-12.
- Akman Y, 2010. *Climate and Bioclimate*. Palme Publication. Ankara.
- Alimi A, Adeleke R, Moteete A, 2021. Soil environmental factors shape the rhizosphere arbuscular mycorrhizal fungal communities in South African indigenous legumes (Fabaceae). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(5).
- Anonymous, 2021a. <https://bolge9.tarimorman.gov.tr/Menu/162/Cankirinin-Biyocesitililigi>. (Date of Access: 22 May 2021)
- Azani N, Babineau M, Bailey C, Banks, H, Barbosa AR, Pinto RB, ... & Zimmerman E, 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *Taxon*, 66: 44-77.
- Bacchetta G, Brullo S, Chiapella LF, Velari TC, Fenu G, Del Galdo GG, 2020. Taxonomic remarks on *Genista salzmannii* group (Fabaceae) in Sardinia and Corsica. *Phytotaxa*, 449(1): 31-51.
- Beyschlag J, Zotz G, 2017. Heteroblasty in epiphytic bromeliads: functional implications for species in understorey and exposed growing sites. *Annals of Botany*, 120: 681-692.
- Chavarria MR, Wherley B, Jessup R, Chandra A, 2020. Leaf anatomical responses and chemical composition of warm-season turfgrasses to increasing salinity. *Current Plant Biology*, 22: 100147.
- Davis PH, 1965-1985. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. I-IX. Edinburgh University Press. Edinburgh.
- Davis PH, Mill RR, Tan K, 1988. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. 1) Vol. X*, pp. 129-131, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Ekim T, Koyuncu M, Vural M, Duman H, Aytaç Z, Adıgüzel N, 2000. *Red Data Book of Turkish Plants (Pteridophyta and Spermatophyta)*, p. 246, Turkish Association for the Conservation of Nature and Van Centennial University, Ankara.
- Emberger L, 1930. The vegetation of the Mediterranean region. An effort for the classification of plant communities. *Revue Générale de Botanique*, 42: 641-662.
- Etcheverry AV, Alemán MM, Fleming TF, 2008. Flower morphology, pollination biology and mating system of the complex flower of *Vigna caracalla* (Fabaceae: Papilionoideae). *Annals of Botany*, 102(3): 305-316.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2021. www.fao.org. (Date of access: 23 May 2021)
- Gorb E, Voigt D, Eigenbrode SD, Gorb S, 2008. Attachment force of the beetle *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera, Coccinellidae) on leaflet surfaces of mutants of the pea *Pisum sativum* (Fabaceae) with regular and reduced wax coverage. *Arthropod-Plant Interactions*, 2(4): 247-259.
- Guerrero M, Medaglia-Mata A, Villalta-Romero F, Alvarado-Marchena L, Rocha OJ, 2021. Relationship between flooding regimes, time of year, and seed coat characteristics and coloration within fruits of the annual monocarpic plant *Sesbania emerus* (Fabaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 182(4): 295-308.
- Gul S, Ahmad M, Zafar M, Bahadur S, Celep F, Sultana S, Begum N, Hanif U, Zaman W, Shuaib M, Ayaz A, 2019. Taxonomic significance of foliar epidermal morphology in Lamiaceae from Pakistan. *Microscopy Research and Technique*, 82(9): 1507-1528.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT, 2012. *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Han X, Zhou Y, Ni X, Chu S, Cheng ME, Tan L, Zha L, Peng H, 2021. Programmed cell death during the formation of rhytidome and interxylary cork in roots of *Astragalus membranaceus* (Leguminosae). *Microscopy Research and Technique*, 84(7):1400-1413.
- Hu HH, Liu B, Liang Y, Ye JF, Saqib S, Meng Z, Lu LM, Chen ZD, 2020. An updated Chinese vascular plant tree of life: Phylogenetic diversity hotspots revisited. *Journal of Systematics and Evolution*, 58(5): 663-672.
- İnan E, İpek G, İpek A, 2012. Endemic medicinal plants of Çankırı. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 5(2): 38-40.
- Jahromi NSM, Jonoubi P, Majd A, Dehghani M, 2019. Investigating the anatomy of the halophyte *Salsola crassa* and the impact of industrial wastewater on its vegetative and generative structures. *Turkish Journal of Botany*, 43(6):785-797.

- Kashyap S, Sahu CK, Verma RK, Chaudhary LB, 2021. Taxonomic application of macro and micro morphological characters of seeds in *Astragalus* L. (Galegeae, Fabaceae) in India. *Phytotaxa*, 502(2): 191-207.
- Khan S, Jan G, Ahmad M, Gul, Zafar M, Mangi JUD, Bibi H, Sultana S, Usma A, Majeed S, 2021. Morpho-palynological assessment of some species of family Asteraceae and Lamiaceae of District Bannu, Pakistan on the bases of light microscope & scanning electron microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 84(6): 1220-1232.
- Khan SA, Khan B, 2020. Anatomy, micromorphology, and physiochemical analysis of *Rhus succedanea* var. *himalaica* root. *Microscopy Research and Technique*, 83(4): 424-435.
- Kim KW, 2018. Peltate trichomes on biogenic silvery leaves of *Elaeagnus umbellata*. *Microscopy Research and Technique*, 81(7): 789-795.
- Kochanovski FJ, Paulino JV, Teixeira SP, Tozzi, AMGDA, Mansano VDF, 2018. Floral development of *Hymenaea verrucosa*: an ontogenetic approach to the unusual flower of Fabaceae subfamily Detarioideae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 187(1): 46-58.
- Latifi A, Akan H, 2020. Harran Üniversitesi Herbaryum (HARRAN)'undaki Fabaceae Familyasının Taksonları. *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, 4(2): 64-104.
- Leshcheniuk O, Chipilyak T, 2020. Morpho-anatomical adaptation of the leaves of certain *Veronica* species to arid conditions. *Plant Introduction*, (87/88): 47-53.
- Loidi J, 2018. Plant eco-morphological traits as adaptations to environmental conditions: some comparisons between different biomes across the world. In A.M. Grellier, K. Fujiwara, & F. Pedrotti (Eds.), *Geographical Changes in Vegetation and Plant Functional Types*, pp. 59-71, Springer, Switzerland.
- Majeed S, Zafar, Ahmad M, Kilic, Sultana S, Raza J, Yaseen G, Gul H, Lubna SM, Jabeen M, 2020. Pollen morphological investigations of family Cactaceae and its taxonomic implication by light microscopy and scanning electron microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 83(7): 767-777.
- Mani M, Rasangam L, Selvam P, Shekhawat MS, 2021. Micro-morpho-anatomical mechanisms involve in epiphytic adaptation of micropropagated plants of *Vanda tessellata* (Roxb.) Hook. ex G. Don. *Microscopy Research and Technique*, 84(4): 712-722.
- Moghiseh E, Heidari A, 2012. Polygenetic saline gypsiferous soils of the Bam region, Southeast Iran. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 12(4): 729-746.
- Nazir A, Rafique F, Ahmed K, Khan SA, Khan N, Akbar M, Zafar M, 2021. Evaluation of heavy metals effects on morpho-anatomical alterations of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Microscopy Research and Technique*, 84(11):2517-2529.
- Noor MJ, Ahmad M, 2021. Scanning electron imaging of mellitophilous and allergenic pollen grain of arid and northern irrigated agroecological zones of Pakistan. *Microscopy Research and Technique*, 84(8):1834-1861.
- Özcan AU, Aytas İ, 2019. Temporal landscape change in biodiversity hotspot and geological heritage karst landscapes: Çankırı gypsum hills case. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 29(4): 618-627.
- Özdeniz E, Bölükbaşı A, Kurt L, Özbey BG, 2016. Ecology of gypsophile plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 4(2): 57-62.
- Rabizadeh F, 2020a. The first anatomical, morphological, and ecological study of the endemic Iranian *Moltkia gypsacea* from the Boraginaceae family. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 10(S1): 170-181.
- Rabizadeh F, 2020b. Ecological, anatomical, morphological, and micro-morphological characteristics of *Gypsophila mucronifolia* (Caryophyllaceae) endemic to gypsic soils of Semnan, Iran. *Applied Biology*, 33(2): 46-61.
- Rabizadeh F, Zare-Maivan H, Kazempour S, 2019. Ecological-anatomical comparative adaptability of two gypsophylic *Astragalus* species of gypsum soils. *Nova Biologica Reperta*, 6(2): 241-253.
- Rather SA, Wei Y, Wang J, Zhao L, Chang Z, 2021. Comparative study of floral developments and its systematic importance in the genus *Astragalus* L. and *Oxytropis* DC. (Fabaceae, Leguminosae: Papilionoideae). *Biologia*, 76(3): 865-888.
- Reiss AG, Gavrieli I, Rosenberg YO, Reznik IJ, Luttge A, Emmanuel S, Ganor JN, 2021. Gypsum precipitation under saline conditions: thermodynamics, kinetics, morphology, and size distribution. *Minerals*, 11(2): 141.
- Rivera P, Villaseñor JL, Terrazas T, 2017. Meso-or xeromorphic? Foliar characters of Asteraceae in a xeric scrub of Mexico. *Botanical Studies*, 58(1): 1-16.

- Rosa AC, Ferraro A, da Silva RH, Pott VJ, Victório CP, Arruda RDCDO, 2021. Leaf anatomy of two medicinal Croton species: Contribution to plant recognition. *Microscopy Research and Technique*, 1-11.
- Sadia H, Zafar M, Ahmad M, Khan MP, Yaseen G, Ali MI, Sultana S, Kilic O, Şahan Z, Alam N, Abbas Q, Ghani A, Naz S, 2020. Foliar epidermal anatomy of some selected wild edible fruits of Pakistan using light microscopy and scanning electron microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 83(3): 259-267.
- Shah SN, Celik A, Ahmad M, Ullah F, Zaman W, Zafar M, Malik K, Rashid N, Iqbal M, Sohail A, Bahadur S, 2019. Leaf epidermal micromorphology and its implications in systematics of certain taxa of the fern family Pteridaceae from northern Pakistan. *Microscopy Research and Technique*, 82(3): 317-332.
- Shaheen S, Fateh R, Younis S, Harun N, Jaffer M, Hussain K, Ashfaq M, Siddique R, Mukhtar H, Khan F, 2020. Light and scanning electron microscopic characterization of thirty endemic Fabaceae species of district Lahore, Pakistan. *Microscopy Research and Technique*, 83(12): 1507-1529.
- Silva ALE, de Lima Terceiro LE, de Lima MF, Costa-Silva R, Dos Santos EA, Agra MDF, 2020. Leaf and stem micromorphology of *Byrsonima sericea* DC. by light and scanning electron microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 83(3): 287-296.
- Soares EL, Landi LADC, Gasparino EC, 2021. Additions to the knowledge of the pollen morphology of some Fabaceae from Cerrado forest patches of Brazil. *Palynology*, 45(2): 269-281.
- Sönmez İ, Celik M, 2017. Recent bloedite from İshaklı Lake, Çankırı-Çorum Basin, Turkey: A mineralogical and hydrogeochemical investigation. *Carbonates and Evaporites*, 32(3): 295-313.
- Talebi SM, Azizi N, Yadegari P, Matsyura A, 2020. Analysis of pollen morphological characteristics in Iranian *Onobrychis* Miller (Fabaceae) taxa. *Brazilian Journal of Botany*, 43(3): 609-632.
- Tekin M, Yılmaz G, 2015. Comparative root and stem anatomy of four rare *Onobrychis* Mill. (Fabaceae) Taxa Endemic in Turkey. *Notulae Scientia Biologicae*, 7(3): 308-312.
- Terashima I, Araya T, Miyazawa SI, Sone K, Yano S, 2005. Construction and maintenance of the optimal photosynthetic systems of the leaf, herbaceous plant and tree: an eco-developmental treatise. *Annals of Botany*, 95(3): 507-519.
- Thornthwaite CW, 1948. An approach toward a rational classification of climate. *Geographical Review*, 38(1): 55-94.
- TR North Anatolian Development Agency, 2021. www.kuzka.gov.tr. (Date of access date: 11 April 2021)
- TSMS (Turkish State Meteorology Services), 2020. Meteorological archive, 1930-2020. Ankara.
- Yiotis C, Manetas Y, Psaras GK, 2006. Leaf and green stem anatomy of the droughtdeciduous Mediterranean shrub *Calicotome villosa* (Poiret) Link. (Leguminosae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 201(2): 102-107.
- Zareh M, Faried A, Farghaly N, 2017. Micromorphological studies on the genus *Lotus* L. (Fabaceae: Loteae) from Egypt. *Turkish Journal of Botany*, 41(3), 273-288.
- Zarre S, 2003. Hair micromorphology and its phylogenetic application in thorny species of *Astragalus* (Fabaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143(3): 323-330.
- Zhu X, Wang L, Yang R, Han Y, Hao J, Liu C, Fan S, 2019. Effects of exogenous putrescine on the ultrastructure of and calcium ion flow rate in lettuce leaf epidermal cells under drought stress. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 60(4): 479-490.

Atf İçin: Onat K.A, Sezer Kürkçü M, Çöl B, 2021. Fenolik Bileşiklerden Sınnamik Asit, Kafeik Asit ve p-kumarik Asit'in Bazı Biyolojik Aktiviteleri. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2587-2598.

To Cite: Onat K.A, Sezer Kürkçü M, Çöl B, 2021. Some Biological Activities of Phenolic Compounds Cinnamic Acid, Caffeic Acid and p-coumaric Acid. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2587-2598.

Fenolik Bileşiklerden Sınnamik Asit, Kafeik Asit ve p-kumarik Asit'in Bazı Biyolojik Aktiviteleri

Kadriye Aslıhan ONAT^{1*}, Merve SEZER KÜRKCÜ², Bekir ÇÖL³

ÖZET: Fenolik bileşikler, bitkiler tarafından sentezlenen sekonder metabolitlerin bir grubudur. Bir benzen halkasına hidroksil grubu (-OH) veya grupları eklenmesi ile oluşur. Fenolik asitler, fenolik bileşiklerin bir türevidir. 7 karbon atomu (C6-C1) içeren hidroksibenzoik asitler ve 9 karbon atomu (C6-C3) içeren hidroksisınnamik asitler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Hidroksisınnamik asitlerin, yapılan birçok çalışma ile anti-bakteriyel, anti-fungal, anti-viral, anti-oksidan, anti-kanser, anti-enflamatuar, anti-diyabetik, anti-melanojenik gibi aktiviteleri olduğu gösterilmiştir. Bu bileşiklerin bitkilerde yaygın olarak bulunması, doğal olması, birçok biyolojik aktivitelerinin bulunması çalışılması açısından avantaj sağlamaktadır. Tüm bunların yanı sıra, trans sınnamik asit, kafeik asit ve p-kumarik asitin geniş spektrumlu antioksidan aktivitesi, ilaç, kozmetik, temizlik, gıda sektörlerinde kullanılabilme potansiyelini arttırmaktadır. Bu avantajları ve potansiyelleri fenolik bileşikleri çalışılması için cezbedici hale getirmektedir. Bu derleme çalışmasında, trans-sınnamik asit, kafeik asit ve p-kumarik asitin anti-bakteriyel, anti-biyofilm, anti-oksidan, anti-kanser gibi aktiviteleri üzerine yapılan bazı araştırmalardan bahsedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Trans-sınnamik asit, Kafeik asit, p-kumarik asit, Anti-bakteriyel aktivite, Anti-oksidan aktivite, Anti-kanser aktivite

Some Biological Activities of Phenolic Compounds Cinnamic Acid, Caffeic Acid and p-Coumaric Acid

ABSTRACT: Phenolic compounds are a group of secondary metabolites synthesized by plants. It is formed by adding the hydroxyl group (-OH) or groups to a benzene ring. Phenolic acids are derivatives of phenolic compounds. They are divided into hydroxybenzoic acids containing 7 carbon atoms (C6-C1) and hydroxycinnamic acids containing 9 carbon atoms (C6-C3). Hydroxycinnamic acids have been shown to have anti-bacterial, anti-fungal, anti-viral, anti-oxidant, anti-cancer, anti-inflammatory, anti-diabetic, anti-melanogenic activities. These compounds are widely available, natural, and have many biological activities, which provide advantages in terms of studying. In addition to all these, the broad-spectrum antioxidant activity of trans cinnamic acid, caffeic acid and p-coumaric acid increases their potential for use in pharmaceutical, cosmetic, cleaning and food industries. These advantages and potentials make phenolic compounds attractive to study. In this review, some studies on anti-bacterial, anti-biofilm, anti-oxidant and anti-cancer activities of trans-cinnamic acid, caffeic acid and p-coumaric acid are mentioned.

Keywords: Trans-cinnamic acid, Caffeic acid, p-coumaric acid, Anti-bacterial activity, Anti-oxidant activity, Anti-cancer activity

¹Kadriye Aslıhan ONAT ([Orcid ID: 0000-0002-5893-5728](https://orcid.org/0000-0002-5893-5728)), ³Bekir ÇÖL ([Orcid ID: 0000-0001-8997-4116](https://orcid.org/0000-0001-8997-4116)), Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla, Türkiye

² Merve SEZER KÜRKCÜ ([Orcid ID: 0000-0003-0947-2912](https://orcid.org/0000-0003-0947-2912)), Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Araştırma Laboratuvarları Merkezi, Muğla, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Kadriye Aslıhan ONAT, e-mail: kadriyeaslihanonat@posta.mu.edu.tr

GİRİŞ

Bitkilerin iki çeşit metabolit sentezledikleri bilinmektedir. Bunlar, primer ve sekonder metabolitlerdir. Primer metabolitler, her bitkide nerdeyse aynı şekilde sentezlenmektedir. Bu metabolitler bitkilerde büyüme, üreme, metabolizma gibi hayatsal faaliyetlerin sürdürülmesini sağlayan temel yollarda önemli işlevlere sahiptirler. Sekonder metabolitler ise her bitkide aynı şekilde sentezlenmemektedir (Topcu ve Çölgeçen, 2015). Bitki için çoğunlukla abiyotik strese karşı korunmada (örneğin UV-B ışınları gibi) savunma, adaptasyon, iletişim gibi önemli işlevleri gerçekleştirmektedirler (Zaynab ve ark., 2018). Sekonder metabolitlerin çoğu, primer metabolitlerden biyosentez yolu ile sentezlenmektedir (Isah, 2019).

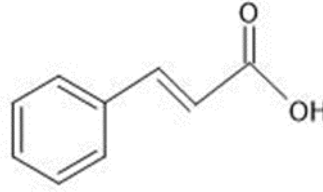
Sekonder metabolitlerin, bitkileri, böcek, hayvan ve patojen organizmalara karşı korudukları bilinmektedir. Bitkiye has kokusunu ve tadını veren sekonder metabolitler olup, bitkilerin çiçek, yaprak, tohum, sap ve gövde gibi yapılarında bulunmaktadır (Letsididi ve ark., 2018). Sekonder metabolitler üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar fenolikler, terpenler ve alkaloidlerdir (Topcu ve Çölgeçen, 2015). Fenolik bileşikler, bir benzen halkasına Hidroksil grubu (-OH) veya grupları eklenmesi ile oluşmakta olup, fenolik bileşikler, fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, kumarinler, ligninler ve tanenlerden oluşmaktadır.

Fenolik asitler şikimik asit yolağından sentezlenmektedir. Bu bileşikler, 7 karbon atomu (C6-C1) içeren hidrobenzoik (hydroxybenzoic) asitler ve 9 karbon atomu (C6-C3) içeren hidroksisinnamik (hydroxycinnamic) asitler olmak üzere iki ana gruptan oluşmaktadır (Sirichai Adisakwattana, 2017). Sinnamik asit (cinnamic acid), kafeik asit (caffeic acid) ve p-kumarik asit (p-coumaric acid) 9 karbon atomu içeren hidroksisinnamik asitler grubundadır (Kot ve ark., 2015). Hidroksisinnamik asitlerin çoğu, L-fenilalanin'in, fenilalanin amonyum liyaz (phenylalanine ammonia-lyase-PAL) enzimi ile katalizlenmesi sonucu trans-sinnamik asite dönüşmesini takip eden yollar ile sentezlenmektedir (Wen ve ark. 2003). Yapılan birçok çalışma ile gösterilmiştir ki sinnamik asit, kafeik asit ve p-kumarik asit antibakteriyel, antikanser, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antibiyofilm, antioksidan gibi aktivitelere sahiptirler (Tuncel ve ark., 1993; Rastogi ve ark., 2008; Scherer ve ark., 2009; Hafizur ve ark., 2015; Kot ve ark., 2015; Matejczyk ve ark., 2017; Min ve ark., 2018).

Tedavisi zor hastalıklara çözüm olabilecek ilaçlar geliştirilirken, çevreye, insanlara ve diğer tüm canlılara karşı zararı ve yan etkilerinin olmadığı bilinen, doğal ve organik bileşiklerin kullanılması çoğu araştırma gruplarının temel amacı olmaktadır. Çok çeşitli biyolojik aktivitelerinin yanı sıra geniş spektrumlu antioksidan aktivitesiyle, sinnamik asit ve türevleri, ilaç geliştirmek için yüksek potansiyelli bir bileşiktir (Matejczyk ve ark., 2017).

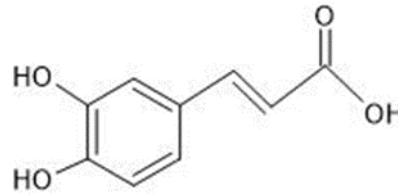
Sinnamik asit çoğu bitkisel kaynaklarda doğal olarak bulunmaktadır (Letsididi ve ark., 2018). Genellikle tarçın veya günlük ağacından elde edilen (storax) balsamlarda karşılaşılmıştır. Sinnamik asit, kahve çekirdekleri, kakao, üzüm, elma, armut, narenciye, ıspanak, enginar, patates, domates, kereviz ve tahıllarda mevcuttur (Guzman, 2014).

Besin maddelerinin içerisinde bulunan bu doğal bileşik, diş macunu, gargara sıvıları ve sakız içerisinde, temizlik malzemelerinde, deterjanlarda, şampuanlarda, parfümlerde ve kozmetikte de kullanılmaktadır (Matejczyk ve ark., 2017; Gunia-Krzyżak ve ark., 2018; Yılmaz ve ark., 2018). Cis ve trans izomeri olmak üzere iki formu vardır. Trans izomeri, doğada daha yaygındır (Scherer ve ark., 2009), çünkü cis izomer trans izomere göre daha kararsızdır (Letsididi ve ark., 2018). Güneş ışığı altında, cis-sinnamik asit, trans-sinnamik asitten dönüşebilmektedir (Chen ve ark., 2011). Trans-sinnamik asit oldukça hidrofobik olduğundan suda az çözünmektedir (Letsididi ve ark., 2018).



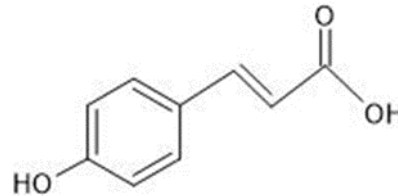
Şekil 1. Trans sınnamik asitin yapısı

Kafeik asit hidroksisınnamik asit sınıfına ait bir organik bileşiktir (Kot ve ark., 2015). Kafeik asit insan diyetinde yaygın olarak bulunmaktadır. Kekik, adaçayı, nane, ayçiçeği tohumu, kahve, çay, kırmızı şarap, kayısı, kuru erik, çavdar, arpa, propolis, zeytin, zeytinyağı, argan yağı, patates, havuç gibi besinlerde sık karşılaşılmaktadır (Prasad ve ark., 2011; Choi ve ark., 2017; Keça ve ark., 2018; Araújo ve ark., 2019). Vücuda alınan kafeik asitin %95'i ince bağırsakta emilmektedir (Olthof ve ark., 2001). Ayrıca, kafeik asit MALDI Mass Spectrometry analizlerinde matris olarak kullanılmaktadır (Beavis ve ark., 1989).



Şekil 2. Kafeik asitin yapısı

p-kumarik asit hidroksisınnamik asit sınıfına ait bir organik bileşiktir. Üç adet izomeri vardır. 1) orto-kumarik asit, 2) meta-kumarik asit, 3) para-kumarik asit (Schultheiss ve ark., 2011). p-kumarik asit esterleşmiş veya serbest asit formunda buğdaygillerin hücre duvarında, tahıllarda, meyvelerde ve sebzelerde bulunmaktadır (Lou ve ark., 2012; Boz, 2015). Mısır, yulaf, buğday, elma, greyfurt, portakal, ıspanak, domates, mantar, yerfıstığı, havuç, üzüm, soğan, patates, şarap, sirke, polen gibi insan diyetinde yaygınca görülmektedir (Konishi ve ark., 2003; Schultheiss ve ark., 2011).



Şekil 3. p-kumarik asitin yapısı

Anti-Bakteriyel Aktivite

Sınnamik asit, yaygın olarak görülen antibiyotiklere dirençli türler üzerinde bile antibakteriyel aktivite göstermektedir. Zhang ve ark., (2019) antibiyotiklere dirençli *Stenotrophomonas maltophilia* patojenik bakteri türü ile yaptıkları çalışmada, 13 adet fenolik bileşiğin antibakteriyel aktivitesini test etmişlerdir. Sonuçlara göre sınnamik asitin bakteri membran bütünlüğüne etki ederek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, sınnamik asit nanoemülsiyonlarla daha güçlü antibakteriyel ve antibiyofilm aktivite göstermektedir (Letsididi ve ark., 2018). Cis-sınnamik asit 2,5 µg/mL konsantrasyonda çoklu ilaç direncine sahip tüberküloz basillerinin (MDR-TB) zarında bozulmaya neden olmaktadır (Chen ve ark., 2011).

Matejczyk ve ark., (2018) kafeik asit ve rosmarinik asitin lityum (Li), sodyum (Na) ve potasyum (K) tuzları ile oluşturdukları bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesini incelediklerinde; kafeik asit ile kafeik asitin lityum ve sodyum tuzlarının *Escherichia coli*'ye karşı yüksek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Choi ve ark., (2017)'da kafeik asit ile antioksidan özelliklere sahip olan çinko oksit (ZnO) nanopartiküllerinin birlikte kullanımı (ZnO@CA) ile oluşturacakları bileşiğin antimikrobiyal

aktivitesini araştırmışlardır. Yaptıkları konfokal floresan mikroskopu analizleri sonucunda kontrol grubuna ve sadece ZnO muamelesi grubuna kıyasla ZnO@CA muamelesine tabi tutulan grupta güçlü bir antimikrobiyal aktivite gözlemlenmiştir.

Lou ve ark., (2012) p-kumarik asitin Gram-pozitif ve Gram-negatif patojenik bakterilere karşı etki mekanizmasını araştırmışlardır. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* ve *Salmonella typhimurium* suşlarını kullanmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre p-kumarik asitin hücre zarında geri dönüşümsüz olarak geçirgenlik değişliklerine neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, DNA'nın fosfat anyonuna bağlanarak, patojenik bakteri suşlarını ve hücre fonksiyonlarını inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Yapılan çalışmalarda Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (Minimum Inhibitory Concentration-MIC) tekniği ile sınnamik asit, kafeik asit ve p-kumarik asitin antibakteriyel aktivitesi Gram (+) ve Gram (-) bakteri türleri ile test edilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Trans-sınnamik asit, kafeik asit ve p-kumarik asitin bazı bakteri türlerine karşı MIC değerleri

Fenolik Asit	Bakteri Türü	MIC	Referanslar	
Trans Sınnamik Asit	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,25 (mg/mL) 6,75 mM	(Letsididi ve ark., 2018) (Chang ve ark., 2001)	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	12,5 (mg/mL)	(Letsididi ve ark., 2018)	
	<i>Salmonella typhimurium</i> LT2	7,5 mM	(Olasupo ve ark., 2003)	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12,5 (mg/mL) 6,75 mM	(Letsididi ve ark., 2018) (Chang ve ark., 2001)	
	<i>Escherichia coli</i>	6,75 mM 5 mM >1 mg/mL ⁻¹	(Chang ve ark., 2001) (Olasupo ve ark., 2003) (Alves ve ark., 2013)	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9 mM	(Rastogi ve ark., 2008)	
	<i>Bacillus subtilis</i>	2500(µg/mL ⁻¹)	(Yilmaz ve ark., 2018)	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	13,5 mM	(Wen ve ark., 2003)	
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	270 µM 675 µM	(Guzman ve ark., 2014) (Rastogi ve ark., 1998)	
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 mg/mL ⁻¹	(Alves ve ark., 2013)	
	<i>Staphylococcus epidermis</i>	6,75 mM	(Chang ve ark., 2001)	
	Kafeik Asit	<i>Staphylococcus aureus</i> 209	125 µg/mL	(Georgiev ve ark., 2013)
		<i>Staphylococcus aureus</i> #917	125 µg/mL	(Parkar ve ark., 2008)
		<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC10657	2.22 mM	(Tuncel ve ark., 1993)
<i>Salmonella typhimurium</i> #450		500 µg/mL	(Parkar ve ark., 2008)	
<i>Salmonella typhimurium</i> NRRL E4463		1,94 mM	(Tuncel ve ark., 1993)	
<i>Escherichia coli</i>		>1 mg/mL ⁻¹ 0,4 mg/mL	(Alves ve ark., 2013) (Rastogi ve ark., 2008)	
<i>Escherichia coli</i> #916		500 µg/mL	(Parkar ve ark., 2008)	
<i>Escherichia coli</i> NCIMB 12210		8,0 mM	(Barber ve ark., 2000)	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7		1,94 mM	(Tuncel ve ark., 1993)	
<i>Bacillus subtilis</i> NCIMB 8649		4 mM	(Barber ve ark., 2000)	
<i>Listeria monocytogenes</i>		16,1 mM	(Wen ve ark., 2003)	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		>1 mg/mL ⁻¹	(Alves ve ark., 2013)	
p-kumarik Asit	<i>Staphylococcus aureus</i> #917	125 µg/mL	(Parkar ve ark., 2008)	
	<i>Salmonella typhimurium</i> #450	500 µg/mL	(Parkar ve ark., 2008)	
	<i>Salmonella typhimurium</i> NRRL E4463	2,44 mM	(Tuncel ve ark., 1993)	
	<i>Escherichia coli</i>	1 mg/mL ⁻¹	(Alves ve ark., 2013)	
	<i>Escherichia coli</i> #916	500 µg/mL	(Parkar ve ark., 2008)	
	<i>Escherichia coli</i> NCIMB 12210	2 mM	(Barber ve ark., 2000)	
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	2,74 mM	(Tuncel ve ark., 1993)	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	490 µM	(Lou ve ark., 2012)	
	<i>Bacillus subtilis</i> NCIMB 8649	2 mM	(Barber ve ark., 2000)	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	13,4 mM	(Wen ve ark., 2003)	
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	244 µM	(Schmidt ve ark., 2010)	
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 mg/mL ⁻¹	(Alves ve ark., 2013)	

Anti-Biyofilm Aktivite

Quorum sensing, bakterilerin üretilen salgıladıkları sinyal moleküllerinin konsantrasyon seviyelerine göre koloni içerisinde değişen bakteri miktarını algılayabildikleri, bakteriler arası iletişim sistemidir. Quorum sensing ile antibiyotik üretimi, kolonide bakteri sayısı, patojenik faktörlerin salınımı, biyofilm oluşumu, spor oluşumu, DNA transkripsiyon seviyesi gibi bakteriyel virülans faktörlerinin düzenlenmesi sağlanmaktadır (Miller ve ark., 2001).

Rajkumari ve ark., (2018) *Chromobacterium violaceum* ile yaptıkları agar well tekniği ile sinnamik asitin "violacein" üretimini inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmaya bakıldığında, negatif kontrol olarak DMSO, pozitif kontrol olarak da Biacalein kullanılmıştır. Sonuçlarına göre sinnamik asitin *Chromobacterium violaceum* üzerinde oluşturduğu zon çapı 15 mm ölçülerek anti-quorum sensing aktivitesi bildirilmiştir. Forero-Doria ve ark., (2019) tarafından yapılan çalışmada, sinnamik asit ile fonksiyonelleştirilmiş N-Alkil imidazolium tuzlarının antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesi incelenmiştir. Sonuçlara göre, sinnamik asitten türetilen tuzun, *Staphylococcus aureus*'a karşı %52 oranında biyofilm inhibisyonu gerçekleştirdiği görülmüştür. Yapılan bir diğer çalışmada trans-sinamik asitin *Escherichia coli* tarafından üriner kateter üzerinde oluşan biyofilm inhibisyonu incelenmiş ve trans-sinamik asitin *Escherichia coli* tarafından hali hazırda oluşturulmuş olan biyofilme karşı da yüksek etki gösterdiği bildirilmiştir (Kot ve ark., 2015).

Pseudomonas aeruginosa'nın çeşitli hastane kaynaklı enfeksiyonlarda oldukça etkili bir bakteri türü olduğu bilinmektedir (Bodey ve ark., 1983). Rajkumari ve ark., (2018) sinnamik asitin *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki antibiyofilm aktivitesini gözlemek için bir dizi çalışmalar yapmıştır. Lameller üzerinde biyofilm oluşumunu sağlayarak çeşitli mikroskopik gözlemler ve ölçümler ile belirgin sonuçlar elde edilmiştir. DNA'nın A-T zengin bölgeleri ile bağ yapan florasan boya DAPI ile floresan mikroskopu analizinde sinnamik asit varlığında eDNA miktarında gözle görülür bir azalma, kristal viyole ile ışık mikroskopu analizinde biyofilm tabakasında belirgin bir azalma, Acridine Orange ile Konfokal Lazer Tarama Mikroskopu ve Z-Stack analizi ile biyofilm tabakasında belirgin bir inceleme gözlemlendiği bildirilmiştir.

Luís ve ark., (2014) gram (+), biyofilm oluşturan *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı kafeik asit ve başka 2 fenolik bileşiğin daha antibiyofilm aktivitesini test etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, kafeik asit 4 mg/mL-1 konsantrasyonda biyofilm kütlelerinin %80'ini azaltmayı başarmıştır. Kim ve ark., (2018) toksik olmayan biyopolimer kitosana kafeik asit ile aşılamışlar ve bu konjugantın *Pseudomonas aeruginosa* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı antibiyofilm aktivitesini incelemişlerdir. Kitosan-kafeik asit konjugatının *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 0,68 mg/mL *Listeria monocytogenes*'e karşı ise 0,42 mg/mL konsantrasyonlarda antibiyofilm aktivite sergilediğini tespit etmişlerdir.

Kot ve ark., (2015) p-kumarik asitin, *Escherichia coli* tarafından oluşturulan biyofilmler üzerindeki üriner kateterlerin iç yüzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre, p-kumarik asiti sadece biyofilm oluşumunu önlemekle kalmayıp, aynı zamanda mevcut biyofilmlerin yayılmasını da engellediğini göstermişlerdir. Ayrıca, gıda kaynaklı patojenlerden olan *Bacillus cereus* ve *Salmonella typhimurium* bakterileri ile yapılan antibiyofilm çalışmalarının sonuçlarına göre p-kumarik asitin *Bacillus cereus*'a karşı %63,75, *Salmonella typhimurium*'a karşı %52,65 etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Bag ve Chattopadhyay, 2017). Chen ve ark., (2020) *Chromobacterium violaceum* ile yaptıkları çalışmada disk difüzyonu tekniği ile p-kumarik asitin anti-quorum sensing aktivitesini test etmişlerdir. 0,2 mg/mL konsantrasyonda p-kumarik asit içeren disk etrafında 1,10 cm zon ölçmüşlerdir ve p-kumarik asitin güçlü bir anti-quorum sensing aktivitesi olduğunu bildirmişlerdir.

Anti-Oksidan Aktivite

Serbest radikaller, DNA, protein, lipidler gibi biyomoleküllere ve hürelere zarar vermektedir (Scherer ve ark., 2009). UVA ışınlarına maruz kalmak reaktif oksijen türevlerinin (ROS) üretimine neden olmaktadır ve ciltte yaşlanma gibi etkiler ile sonuçlanmaktadır. Trans sinnamik asit ile tedavi edilen fibroblast Hs68 hücrelerinde UVA ile indüklenen hücre içi ROS üretimi önemli ölçüde inhibe edilmiştir (Hseu ve ark., 2018). Kötü huylu olmayan tümör tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajan olan siklofosfamidin metabolitlerinden akrolein, DNA hasarına yol açmakta ve hücrelerde oksidatif strese neden olmaktadır (Perry ve ark., 1995). Patra ve ark., (2012) yaptıkları çalışmalarında İsviçre albino fareleri, 24 saat boyunca siklofosfamidine maruz bırakıldığında süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitesinde artış, glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesinde düşüş gözlemlenmiştir. Sinnamik asit ile muamele sonucunda ise bu anti-oksidan enzimlerinin seviyelerinde önemli ölçüde artış görüldüğü ifade edilmiştir.

Kafeik asit, birincil ve ikincil antioksidan olarak işlev görmektedir. Birincil antioksidan işlevi, başka bir molekülle birlikte zincir reaksiyonlarını inhibe ederek serbest radikal oluşumunu kesintiye uğratmaktadır. İkincil antioksidan olarak işlevi ise metallerle kompleksler oluşturarak, peroksidlerin ayrışmasını inhibe ederek serbest radikallerin oluşmasını engellemektedir. Böylece serbest radikallerin amino asitlere, lipitlere, DNA bazlarına, çoklu doymamış yağ asitlerine bağlanmasını azaltmaktadır (Espíndola ev ark., 2019). Chen ve ark., (1997) yaptıkları çalışmada kafeik asit, kafeik asit fenetil ester (CAPE), ferulik, gibi birkaç tane daha fenolik bileşiğin antioksidatif ve serbest radikal süpürme aktivitelerini karşılaştırmışlardır. Çalışmada DPPH radikalini kullanmışlardır. Sonuçlara göre kafeik asit ve kafeik asit fenetil ester yüksek radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. 30, 40 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarda HT-1080 hücreleri kafeik asit ile muamele edildiğinde antioksidan enzimlerin aktiviteleri ölçülmüş ve sonuç olarak 50 µg/mL konsantrasyonda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinin önemli ölçülerde azaldığı tespit edilmiştir (Prasad ve ark., 2011).

Zang ve ark., (2000) sıçanlar ile yaptıkları çalışmada 10, 21 ve 30 gün boyunca içme sularına p-kumarik asit karıştırarak, LDL oksidasyonunu indirgeyip indirgediği takip edilmiş ve antioksidan aktivitesi test edilmiştir. Sonuç olarak 30 gün boyunca oral yolla günlük 317 mg p-kumarik asit verilen sıçanların kan değerlerinde LDL oksidasyon seviyesinin oldukça düştüğü tespit edilmiştir. Shen ve ark., (2019) yaptıkları bir çalışmada p-kumarik asitin DPPH radikaline karşı % 6,99, ABTS radikaline karşı % 14,3 inhibisyon etkisi olduğu ayrıca, 50 µg/mL konsantrasyonda % 52,22 şelatlama etkisi gösterdiğini bildirmişlerdir. Kiliç ve Yeşiloğlu, (2013) yaptıkları çalışmalar sonucu p-kumarik asitin lipid peroksidasyonunu %71,2 inhibe ettiğini, DPPH radikaline karşı %55,6, ABTS radikaline karşı %98,4 oranında süpürme aktivitesi gösterdiği, %78,3 oranında demir iyonlarını şelatlama, %53,2 oranında hidrojen peroksit temizleme aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. Yüksek konsantrasyonlarında p-kumarik asit, Nükleer faktör kappa B (NF-κB) aktivitesini uyarmakta ve dokularda akut enflamasyona neden olan, endotoksin lipopolisakkarit ile uyarılmış aktiviteyi inhibe etmektedir (Hole ve ark., 2009).

Anti-Kanser Aktivite

Trans sinnamik asitin farklı konsantrasyonları ve farklı kanserli hücre hatları ile yapılan çalışmalarla antikanser aktivitesi gösterilmiştir. Liu ve ark., (1995) glioblastoma, melanoma, prostat ve akciğer karsinom hücrelerinde sinnamik asitin 1 ve 4,5 mM konsantrasyonları ile yaptıkları çalışmada hücre proliferasyonunu %50 azalttığını göstermişlerdir. Trans sinnamik asitin insan melanom hücre hattı (HT-144) üzerinde yapılan MTT deneylerinde IC50 değerinin 2,4 mM olduğu gözlemlenirken, aktivite-kaspaz 9 deneyleri ile apoptoz tahlili sonuçlarında ise 24 saat 3,2 mM sinnamik asite maruz bırakılması

sonucunda apoptatik kaspaz aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla %25 daha fazla olduğu tespit edilmiştir. HT-144 hücreleri 3,2 mM trans sinnamik asite maruz bırakıldığında mikroskopik incelemeler sonucu mikrotübül depolimerizasyonu gözlenmiştir (de Oliveira Niero ve ark., 2013). Siklofosfamidin, kemoterapi ajanlarında sıkça görülen miyelosupresyona neden olmaktadır. Patra ve ark., (2012) yaptıkları çalışmalarının bir diğer ayağında, İsviçre albino fareleri siklofosfamidine maruz bırakıldığında kemik iliği ve dalak hücre sayılarında önemli bir düşüş gözlemlenmiştir. Doza bağlı sinnamik asit muamelesi sonrası kemik iliği ve dalak hücre sayılarında baskılanmanın ortadan kalktığını ve sinnamik asitin siklofosfamidinin miyelosupresif etkilerine karşı koruyucu bir işlev gösterdiğini bildirmişlerdir. Zhu ve ark., (2016) yaptıkları çalışmalarında IC50 değerlerinin HT29 için 1,07mM, MIA PaCa-2 için 1,33mM, H460 için 2,10mM ve A549 3,54 mM olduğunu tespit etmişlerdir. Sonraki histon deasetilazların inhibisyonu (HDAC) çalışmaları ile trans sinnamik asitin apoptozu indüklemesini test etmişlerdir. HT29 ve MIA PaCa-2 hücreleri yaptıkları bu HDAC deneylerinde trans sinnamik asitin apoptoz ile ilgili protein Bax'ın ekspresyon seviyesinde artış gözlemlenmiştir.

MCF-7 meme kanseri hücre hattı, kafeik asite maruz bırakıldığında hücre proliferasyonunda yaklaşık %50 oranında azalma tespit edilmiştir (Rosendahl ve ark., 2015). Bir diğer çalışmada insan akciğer karsinomu hücre hattında bir kemoterapi ilacı (Paklitaksel) ile kafeik asitin sinerjistik etkisini araştırılmış ve sonuç olarak bu kombinasyonun kanserli hücre hattının çoğalmasını önemli ölçüde azalttığını gözlemlenmiştir. Akış sitometrisi (Flow cytometry) ile yapılan çalışmalarında kafeik asitin H1299 hücrelerini G1 fazında durdurduğu ve apoptozu arttırdığı tespit edilmiştir (Min ve ark., 2018). Dziedzic ve ark., (2017), insan skuamöz karsinom hücre hattı (Detroit 562) üzerinde kafeik asit ve kafeik asit fenetil esterinin anti-kanser aktivitesini çalışmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre, MTT hücre canlılığı deneyi sonucunda kafeik asitin 201,43 µM konsantrasyonunda hücre büyümesini %50 oranında inhibe ettiğini ve 50 µM konsantrasyonunda apoptozu indüklediğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise serviks kanseri hücrelerine (HeLa) kafeik asit ile muamele sonucunda tümör baskılayıcı protein p53'ün, konsantrasyona bağlı olarak ekspresyonunu arttırdığı sonucuna varılmıştır. Akış sitometrisi çalışmaları ile 1 mM ve 10 mM konsantrasyonlarda kafeik asite maruziyetten 24 ve 48 saat sonra çekirdek parçalanması gibi apoptotik morfolojik değişiklikler gözlemlenmiştir (Chang ve ark., 2010). Prasad ve ark., (2011)) HEPG2 hücre hattı kafeik asit ve kafeik asit fenetil estere maruz bırakılarak XTT çalışmaları gerçekleştiren araştırmacı grubu, 200 µg/mL konsantrasyonda kafeik asitin %61, 20 µg/mL konsantrasyonda kafeik asit fenetil esterinin %72 oranında hücre canlılığına etki ettiğini gözlemlenmiştir. Kafeik asit ve kafeik asit fenetil esterinin nükleer faktör kappa B (NF-κB) fonksiyonunun inhibe ettiğini bildirerek kanserin ilerlemesi ile ilişkisi olduğu düşünülen MMP-9'un enzimatik aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Chung ve ark., 2004).

p-kumarik asitin, nöroblastom (N2a), insan akciğeri kanseri hücreleri (A549), kolon kanser hücreleri (HT29-D4) ve kanser kök hücreleri üzerinde canlılıklarını önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca ROS seviyesinde yükseliş ile N2a hücrelerinde mitokondriyal membran hasarı gözlemlenmiştir (Shailasree ve ark., 2015; Bouzaiene ve ark., 2015). İnsan kolon kanser hücre hatları p-kumarik asit ile muamele edildiğinde, G1 fazında hücrelerin inhibisyonu, ROS seviyesinde artış, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analizlerinde membran sızıntısı ve hücrelerde büzülme gibi apoptozla dair belirtiler hücrelerinde (A375ve B16) poliferasyonu inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği sonucuna varılmıştır (Hu ve ark., 2020). HT-29 ve SW480 kolon kanser hücreleri 600 µmol/L ve 1400 µmol/L konsantrasyonlarında p-kumarik asit ile muamele edildiğinde 48 saat sonra hücre büyümesini %50 oranda inhibe ettiği tespit edilmiştir. Spesifik boyalar kullanılarak p-kumarik asitin membran potansiyeli üzerine etkisi incelendiğinde depolarizasyon gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Sharma ve ark., 2018). Janowicz ve ark., (2018) yaptıkları bir çalışmada p-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve

chrysin gibi polifenolik bileşikler ile skuamöz hücre karsinoması (CAL-27) üzerinde yaptıkları çalışmalarda göstermişler ki; kullanılan tüm polifenolik bileşikler CAL-27 hücrelerinde kollajen biyosentezinde azalış, P53, aktif kaspaz-3 ve -9'un ekspresyon seviyelerinde artışa sebep olarak apoptozun indüklendiğini bildirmişlerdir.gözlemlenmiştir (Jaganathan ve arjanok., 2013). Bir başka çalışmada p-kumarik asitin 3-5 mM aralığındaki konsantrasyonlarda insan melanom

SONUÇ

Bugüne kadar yapılan birçok çalışma ile gösterilmiştir ki, doğa birçok hastalığın tedavi imkanını veren, çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip ürünleri bünyesinde barındırmaktadır. Bu doğal ürünlerin fenolik bileşikler bakımından zengin içerikleri aydınlatılarak, sahip oldukları biyolojik aktiviteler ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve çalışmalar halen daha devam etmektedir. Fenolik bileşiklerin, gram pozitif ve gram negatif bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği, çok çeşitli kanser türlerine karşı antikanser aktivite gösterdiği, bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlar ile sinerjistik etki göstererek aktivitelerini arttırdığı, yaşlanma gibi ve çeşitli hastalıklara neden olan serbest radikallerin temizlenmesinde antioksidan aktivite gösterdiği birçok çalışma tarafından literatüre sunulmuştur. Bu çalışmalar sayesinde fenolik bileşiklerin ilaç, temizlik, kozmetik, gıda vs. gibi sektörlerde kullanılması daha da yaygınlaşabilecektir.

TEŞEKKÜR

Bu derleme makale çalışmasını Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 21/118/05/1/2 numaralı projesi ile destekledikleri için çok teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığı beyan olunur.

Yazar Katkısı

Makaleye yazarlar eşit oranda katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Adisakwattana S, 2017. Cinnamic acid and its derivatives: mechanisms for prevention and management of diabetes and its complications. *Nutrients*, 9(2), 163.
- Alves MJ, Ferreira IC, Froufe HJ, Abreu RMV, Martins A, Pintado M, 2013. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. *Journal of applied microbiology*, 115(2), 346-357.
- Araújo MO, Freire Pessoa HL, Lira AB, Castillo YP, de Sousa DP, 2019. Synthesis, antibacterial evaluation, and QSAR of caffeic acid derivatives. *Journal of Chemistry*, Article ID 3408315.
- Bag A, Chattopadhyay RR, 2017. Synergistic antibacterial and antibiofilm efficacy of nisin in combination with p-coumaric acid against food-borne bacteria *Bacillus cereus* and *Salmonella typhimurium*. *Letters in applied microbiology*, 65(5), 366-372.
- Barber MS, McConnell VS, DeCaux BS, 2000. Antimicrobial intermediates of the general phenylpropanoid and lignin specific pathways. *Phytochemistry*, 54(1), 53-56.
- Beavis RC, Chait BT, Fales HM, 1989. Cinnamic acid derivatives as matrices for ultraviolet laser desorption mass spectrometry of proteins. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 3(12), 432-435.
- Bodey GP, Bolivar R, Fainstein V, Jadeja L, 1983. Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Reviews of Infectious Diseases*, 5(2), 279-313.

- Bouzaiene NN, Jaziri SK, Kovacic H, Chekir-Ghedira L, Ghedira K, Luis J, 2015. The effects of caffeic, coumaric and ferulic acids on proliferation, superoxide production, adhesion and migration of human tumor cells in vitro. *European Journal of Pharmacology*, 766, 99-105.
- Boz H, 2015. p-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(11), 2323-2328.
- Celińska-Janowicz K, Zaręba I, Lazarek U, Teul J, Tomczyk M, Pałka J, Miltyk W, 2018. Constituents of propolis: chrysin, caffeic acid, p-coumaric acid, and ferulic acid induce PRODH/POX-dependent apoptosis in human tongue squamous cell carcinoma cell (CAL-27). *Frontiers in Pharmacology*, 9, 336.
- Chang ST, Chen PF, Chang SC, 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of ethnopharmacology*, 77(1), 123-127.
- Chang WC, Hsieh CH, Hsiao MW, Lin WC, Hung YC, Ye JC, 2010. Caffeic acid induces apoptosis in human cervical cancer cells through the mitochondrial pathway. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 49(4), 419-424.
- Chen JH, Ho CT, 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2374-2378.
- Chen X, Yu F, Li Y, Lou Z, Toure SL, Wang H, 2020. The inhibitory activity of p-coumaric acid on quorum sensing and its enhancement effect on meat preservation. *CyTA-Journal of Food*, 18(1), 61-67.
- Chen YL, Huang ST, Sun FM, Chiang YL, Chiang CJ, Tsai CM, Weng CJ, 2011. Transformation of cinnamic acid from trans-to cis-form raises a notable bactericidal and synergistic activity against multiple-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43(3), 188-194.
- Choi KH, Nam KC, Lee SY, Cho G, Jung JS, Kim HJ, Park BJ, 2017. Antioxidant potential and antibacterial efficiency of caffeic acid-functionalized ZnO nanoparticles. *Nanomaterials*, 7(6), 148.
- Chung TW, Moon SK, Chang YC, Ko JH, Lee YC, Cho G, Kim CH, 2004. Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. *The FASEB Journal*, 18(14), 1670-1681.
- de Oliveira Niero EL, Machado-Santelli GM, 2013. Cinnamic acid induces apoptotic cell death and cytoskeleton disruption in human melanoma cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 32(1), 1-14.
- Dziedzic A, Kubina R, Kabała-Dzik A, Tanasiewicz M, 2017. Induction of cell cycle arrest and apoptotic response of head and neck squamous carcinoma cells (Detroit 562) by caffeic acid and caffeic acid phenethyl ester derivative. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Espíndola KMM, Ferreira RG, Narvaez LEM, Silva Rosario ACR, da Silva AHM, Silva AGB, Monteiro MC, 2019. Chemical and pharmacological aspects of caffeic acid and its activity in hepatocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, 9, 541.
- Forero-Doria O, Araya-Maturana R, Barrientos-Retamal A, Morales-Quintana L, Guzmán L, 2019. N-alkylimidazolium salts functionalized with p-coumaric and cinnamic acid: a study of their antimicrobial and antibiofilm effects. *Molecules*, 24(19), 3484.
- Georgiev L, Chochkova M, Totseva I, Seizova K, Marinova E, Ivanova G, Milkova T, 2013. Anti-tyrosinase, antioxidant and antimicrobial activities of hydroxycinnamoylamides. *Medicinal Chemistry Research*, 22(9), 4173-4182.

- Gunia-Krzyżak A, Słoczyńska K, Popiół J, Koczurkiewicz P, Marona H, Pękala E, 2018. Cinnamic acid derivatives in cosmetics: current use and future prospects. *International Journal of Cosmetic Science*, 40(4), 356-366.
- Guzman JD, 2014. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. *Molecules*, 19(12), 19292-19349.
- Hafizur RM, Hameed A, Shukrana M, Raza SA, Chishti S, Kabir N, Siddiqui RA, 2015. Cinnamic acid exerts anti-diabetic activity by improving glucose tolerance in vivo and by stimulating insulin secretion in vitro. *Phytomedicine*, 22(2), 297-300.
- Hole AS, Grimmer S, Naterstad K, Jensen MR, Paur I, Johansen SG, Sahlstrøm S, 2009. Activation and inhibition of nuclear factor kappa B activity by cereal extracts: role of dietary phenolic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20), 9481-9488.
- Hseu YC, Korivi M, Lin FY, Li ML, Lin RW, Wu JJ, Yang HL, 2018. Trans-cinnamic acid attenuates UVA-induced photoaging through inhibition of AP-1 activation and induction of Nrf2-mediated antioxidant genes in human skin fibroblasts. *Journal of Dermatological Science*, 90(2), 123-134.
- Hu X, Yang Z, Liu W, Pan Z, Zhang X, Li M, Li D, 2020. The anti-tumor effects of p-coumaric acid on melanoma A375 and B16 cells. *Frontiers in Oncology*, 10.
- Isah T, 2019. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52.
- Jaganathan SK, Supriyanto E, Mandal M, 2013. Events associated with apoptotic effect of p-Coumaric acid in HCT-15 colon cancer cells. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 19(43), 7726.
- Kang NH, Mukherjee S, Yun JW, 2019. Trans-cinnamic acid stimulates white fat browning and activates brown adipocytes. *Nutrients*, 11(3), 577.
- Kępa M, Mikłasińska-Majdanik M, Wojtyczka RD, Idzik D, Korzeniowski K, Smoleń-Dzirba J, Wąsik TJ, 2018. Antimicrobial potential of caffeic acid against *Staphylococcus aureus* clinical strains. *BioMed Research International*.
- Kiliç I, Yeşiloğlu Y, 2013. Spectroscopic studies on the antioxidant activity of p-coumaric acid. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 115, 719-724.
- Kim G, Dasagrandhi C, Kang EH, Eom SH, Kim YM, 2018. In vitro antibacterial and early stage biofilm inhibitory potential of an edible chitosan and its phenolic conjugates against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes*. *3 Biotech*, 8(10), 1-8.
- Konishi Y, Kobayashi S, Shimizu M, 2003. Transepithelial transport of p-coumaric acid and gallic acid in Caco-2 cell monolayers. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(11), 2317-2324.
- Kot B, Wicha J, Piechota M, Wolska K, Gruzewska A, 2015. Antibiofilm activity of trans-cinnamaldehyde, p-coumaric, and ferulic acids on uropathogenic *Escherichia coli*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(4), 919-924.
- Letsididi KS, Lou Z, Letsididi R, Mohammed K, Maguy BL, 2018. Antimicrobial and antibiofilm effects of trans-cinnamic acid nanoemulsion and its potential application on lettuce. *Lwt*, 94, 25-32.
- Liu L, Hudgins WR, Shack S, Yin MQ, Samid D, 1995. Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention. *International Journal of Cancer*, 62(3), 345-350.
- Lou Z, Wang H, Rao S, Sun J, Ma C, Li J, 2012. p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control*, 25(2), 550-554.
- Luís Â, Silva F, Sousa S, Duarte AP, Domingues F, 2014. Antistaphylococcal and biofilm inhibitory activities of gallic, caffeic, and chlorogenic acids. *Biofouling*, 30(1), 69-79.

- Matejczyk M, Świsłocka R, Golonko A, Lewandowski W, Hawrylik E, 2018. Cytotoxic, genotoxic and antimicrobial activity of caffeic and rosmarinic acids and their lithium, sodium and potassium salts as potential anticancer compounds. *Advances in Medical Sciences*, 63(1), 14-21.
- Matejczyk M, Swislocka R, Kalinowska M, Widerskp G, Lewandowsk W, Jablonska-Trypua A, Rosochacki SJ, 2017. In vitro evaluation of biological activity of cinnamic, caffeic, ferulic and chlorogenic acids with use of *Escherichia coli* k-12 reca: gfp biosensor strain. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 74(3), 801-808.
- Miller MB, Bassler BL, 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1), 165-199.
- Min J, Shen H, Xi W, Wang Q, Yin L, Zhang Y, Wang ZN, 2018. Synergistic anticancer activity of combined use of caffeic acid with paclitaxel enhances apoptosis of non-small-cell lung cancer H1299 cells in vivo and in vitro. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(4), 1433-1442.
- Olasupo NA, Fitzgerald DJ, Gasson MJ, Narbad A, 2003. Activity of natural antimicrobial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Letters in Applied Microbiology*, 37(6), 448-451.
- Olthof MR, Hollman PC, Katan MB, 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of Nutrition*, 131(1), 66-71.
- Parkar SG, Stevenson DE, Skinner MA, 2008. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. *International Journal of Food Microbiology*, 124(3), 295-298.
- Patra K, Bose S, Sarkar S, Rakshit J, Jana S, Mukherjee A, .Bhattacharjee S, 2012. Amelioration of cyclophosphamide induced myelosuppression and oxidative stress by cinnamic acid. *Chemico-Biological Interactions*, 195(3), 231-239.
- Perry CS, Liu X, Lund LG, Whitman CP, Kehrer JP, 1995. Differential toxicities of cyclophosphamide and its glutathione metabolites to A549 cells. *Toxicology In Vitro*, 9(1), 21-26.
- Prasad NR, Karthikeyan A, Karthikeyan S, Reddy BV, 2011. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 349(1), 11-19.
- Rajkumari J, Borkotoky S, Murali A, Suchiang K, Mohanty SK, Busi S, 2018. Cinnamic acid attenuates quorum sensing associated virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Biotechnology Letters*, 40(7), 1087-1100.
- Rastogi N, Domadia P, Shetty S, Dasgupta D, 2008. Screening of natural phenolic compounds for potential to inhibit bacterial cell division protein FtsZ.
- Rosendahl AH, Perks CM, Zeng L, Markkula A, Simonsson M, Rose C, Jernström H, 2015. Caffeine and caffeic acid inhibit growth and modify estrogen receptor and insulin-like growth factor I receptor levels in human breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 21(8), 1877-1887.
- Scherer R, Godoy HT, 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654-658.
- Schmidt E, Bail S, Friedl SM, Jirovetz L, Buchbauer G, Wanner J, Geissler M, 2010. Antimicrobial activities of single aroma compounds. *Natural product communications*, 5(9), 1365-1368.
- Schultheiss N, Roe M, Boerrigter SX, 2011. Cocrystals of nutraceutical p-coumaric acid with caffeine and theophylline: polymorphism and solid-state stability explored in detail using their crystal graphs. *CrystEngComm*, 13(2), 611-619.
- Shailasree S, Venkataramana M, Niranjana SR, Prakash HS, 2015. Cytotoxic effect of p-coumaric acid on neuroblastoma, N2a cell via generation of reactive oxygen species leading to dysfunction of mitochondria inducing apoptosis and autophagy. *Molecular Neurobiology*, 51(1), 119-130.

- Sharma SH, Rajamanickam V, Nagarajan S, 2018. Antiproliferative effect of p-Coumaric acid targets UPR activation by downregulating Grp78 in colon cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 291, 16-28.
- Shen Y, Song X, Li L, Sun J, Jaiswal Y, Huang J, Guan Y, 2019. Protective effects of p-coumaric acid against oxidant and hyperlipidemia-an in vitro and in vivo evaluation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 579-587.
- Soliman MM, Attia HF, El-Shazly SA, Saleh OM, 2012. Biomedical effects of cinnamon extract on obesity and diabetes relevance in Wistar rats. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2(3), 133-135.
- Topcu Ş, Çölgeçen H, 2015. Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8(2), 09-29.
- Tuncel G, Nergiz C, 1993. Antimicrobial effect of some olive phenols in a laboratory medium. *Letters in Applied Microbiology*, 17(6), 300-302.
- Wen A, Delaquis P, Stanich K, Toivonen P, 2003. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiology*, 20(3), 305-311.
- Yilmaz S, Sova M, Ergün S, 2018. Antimicrobial activity of trans-cinnamic acid and commonly used antibiotics against important fish pathogens and nonpathogenic isolates. *Journal of Applied Microbiology*, 125(6), 1714-1727.
- Zang LY, Cosma G, Gardner H, Shi X, Castranova V, Vallyathan V, 2000. Effect of antioxidant protection by p-coumaric acid on low-density lipoprotein cholesterol oxidation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 279(4), 954-960.
- Zaynab M, Fatima M, Abbas S, Sharif Y, Umair M, Zafar MH, Bahadar K, 2018. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124, 198-202.
- Zhang Y, Wei J, Qiu Y, Niu C, Song Z, Yuan Y, Yue T, 2019. Structure-Dependent Inhibition of *Stenotrophomonas maltophilia* by Polyphenol and Its Impact on Cell Membrane. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2646.
- Zhu B, Shang B, Li Y, Zhen Y, 2016. Inhibition of histone deacetylases by trans-cinnamic acid and its antitumor effect against colon cancer xenografts in athymic mice. *Molecular Medicine Reports*, 13(5), 4159-4166.

Atf İçin: Altıkat A, Alma M.H, 2021. Biyokömür ve Toprak Fiziksel Özellikleri. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2599-2612.

To Cite: Altıkat A, Alma M.H, 2021. Biochar and Soil Physical Properties. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2599-2612.

Biyokömür ve Toprak Fiziksel Özellikleri

Alperay ALTIKAT^{1*}, Mehmet Hakkı ALMA¹

ÖZET: Biyokömür, organik materyalin termokimyasal dönüşüm süreçler sonucunda üretilen yüksek karbon içeriğine sahip bir materyaldir. Biyokömürün endüstriyel ve çevresel kullanım alanlarının yanı sıra tarım sektöründe sorunlu topraklarda toprak düzenleyici olarak da kullanılmaktadır. Bu çalışmada, biyokömürün toprağın bazı toprak fiziksel özellikleri ile toprak ve bitkideki nem değişimleri ve toprak sıcaklığına olan etkileri incelenmiştir. Detaylı literatür incelemelerinde toprağa uygulanan biyokömürün; toprak hacim ağırlığı, porozitesi, hidrolik iletkenliği, agregat stabilitesi ile bitki ve toprak nem içeriği üzerinde olumlu etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda biyokömürün toprak özelliklerine olan etkileri, biyokömürün üretim teknolojisi ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak değiştiği sonucuna varılmıştır. Üretim aşamasında kullanılan; piroлиз sıcaklığı, hammadde türü, agregat çapı gibi faktörler biyokömürün toprağa olan etki düzeylerini değiştirmiştir. Buna ilaveten, konu ile yapılan çalışmaların büyük bir bölümü laboratuvar ya da sera ortamında genelde 2 yıllık süreyle yürütüldüğü ve tarla koşullarında uzun vadede sürdürülen araştırma sayısının da oldukça sınırlı olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle biyokömürün toprak üzerindeki etkilerini uzun vadede tespitine yönelik tarla denemelerinin yürütülmesinin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bağlamda yapılacak tarla denemelerinde biyokömürü toprağa karıştırmak amacıyla kullanılacak yöntemlerin etkinliğinin de araştırılması oldukça önemli bir konu olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyokömür, Toprak özelliği, Toprak düzenleyici, Termokimyasal dönüşüm

Biochar and Soil Physical Properties

ABSTRACT: Biochar is a material with high carbon content produced as a result of thermochemical transformation processes of organic material. In addition to the industrial and environmental uses of biochar, it is used as a soil conditioner in problematic soils in the agricultural sector. In this study, the effects of biochar on some soil physical properties, moisture changes in soil and plants, and soil temperature were investigated. In detailed literature reviews, it was determined that biochar application has positive effects at the some of the soil physical properties such as; soil bulk density, porosity, hydraulic conductivity, aggregate stability, shear and tensile strength, moisture content of the plant and soil. In these studies, concluded that the effects of biochar on soil properties vary depending on the production technology of biochar and some physical properties of biochar. The factors such as pyrolysis temperature, raw material type, aggregate diameter used in the production phase have changed the effect levels of biochar on the soil. In addition, it was determined that most of the studies on the subject were carried out in a laboratory or greenhouse for a maximum of 2 years. Therefore, it was concluded that field experiments should be conducted that determine the long-term effects of biochar on the soil. It is also an important subject in researching the effectiveness of the methods to be used to mix biochar with soil.

Keywords: Biochar, Soil properties, Soil conditioner, Thermochemical conversion

¹ Alperay ALTIKAT ([Orcid ID: 0000-0002-0087-5814](https://orcid.org/0000-0002-0087-5814)), Mehmet Hakkı ALMA ([Orcid ID: 0000-0001-6323-7230](https://orcid.org/0000-0001-6323-7230)), İğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyosistem Mühendisliği Bölümü, İğdır, Türkiye.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Alperay ALTIKAT, e-mail: altikatalperay@gmail.com

GİRİŞ

Son yıllarda sürekli artan nüfusun ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla tarım sektörü başta olmak üzere tüm sektörlerde sürdürülebilir üretim tekniklerinin uygulamaya aktarılması kaçınılmaz bir hal almıştır. Sürdürülebilirlik kavramının temelinde mevcut kaynakları optimum verimlilikle kullanılarak üretim yapılması ve bu aşamada çevresel zararın minimuma indirilmesi ile alternatif enerji kaynaklarından maksimum düzeyde yararlanılması yer almaktadır. Özellikle tarım sektöründe hasat ve ürün işleme periyotlarından sonra oluşan atıklar ile hayvansal atıkların yönetimi; toprak kalitesinin geliştirilmesi ve çevre kirliliğinin azaltılması açısından önemli bir konudur.

Kömür insanlığın ürettiği ilk sentetik malzeme olup (Antal ve ark., 2003, Antal ve Gronli 2003), kayıt altına alınan tarihsel süreç içerisinde her daim üretimi yapılmıştır (Withrow, 1915).

Biyokömür; organik materyalin oksijensiz ya da düşük oksijen koşullarında ve genellikle düşük sıcaklıklarda (200- 900°C) termal bozulması sonucu elde edilen karbonca zengin ve çözülmeye dayanıklı bir materyaldir. Biyokömürün kökeni Amazon kara topraklarına (Black earth) dayanmaktadır. Amazon kara toprakları siyah topraklar (Terra preta) ve kahverengi (normal) topraklar (Terra mulata) olmak üzere ikiye ayrılır. Terra Preta kendine özgü siyah rengini, bünyesinde bulundurduğu; odun kömürü, kemik atığı, kırık çömlek, kompost ve çeşitli gübre karışımlarından oluşan karbonize olmuş kömür içeriğinden almaktadır (Mao ve ark., 2012; Dufour, 1990). Yapılan çalışmalarda bu toprakların 1 kilogramının yaklaşık 150 gram karbon ihtiva ettiği tespit edilmiş ve bu içeriğin yüzyıllar boyunca korunduğu belirtilmiştir (Glaser ve ark., 2002). Günümüzde bu toprak formasyonunun oluşumunda uzun yıllar boyunca insanlar tarafından toprağa yapılan farklı organik materyal ilavesinin neden olduğu düşünülmektedir.

Biyokömür, organik materyalin termokimyasal dönüşüm süreçlerinde oksijensiz ya da sınırlı oksijen koşullarında yakılmasıyla oluşan karbon içeriği yüksek bir yanma ürünüdür. Termokimyasal dönüşüm, ara enerji taşıyıcıları veya ısı üretmek için çeşitli metotlar kullanılarak biyokütlenin kontrollü ısıtılması veya oksidasyonu şeklinde tanımlanabilir. Biyokütlenin termokimyasal olarak dönüştürülmesi kavramı, enerji kullanımının en basit ve en eski örneklerinden biri olan biyokütlenin yakılmasından, sıvı taşıt yakıtları ve kimyasal hammaddelerin üretimi için kullanılan teknolojilere kadar birçok farklı yöntemi kapsamaktadır. Termokimyasal dönüşüm teknolojileri, oksijensiz bir ortamda (endotermik) biyokütlenin ısıtılmasından, biyokütlenin tam ekzotermik oksidasyonuna kadar değişiklik gösterebilen çeşitli metotlara ayrılabilir.

Termokimyasal dönüşüm prosesleri kuru ve ıslak olmak üzere iki ana bölümde incelenebilir. Kuru prosesler kendi arasında; hızlı piroliz, yavaş piroliz (karbonizasyon), gazlaştırma ve kısmi piroliz (torrefaction) olmak üzere dört bölümde incelenebilir. Islak termokimyasal dönüşüm prosesi için ise hidrotermal karbonizasyon örnek olarak gösterilebilir (Ronsse, 2016). Termokimyasal dönüşüm proseslerinin genel özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir (Bridgwater, 2012; Kambo ve Dutta 2015; Ronsse, 2016).

Biyokömür, üretim koşullarına bağlı olmakla birlikte içeriğinde %60 ile %80 oranında C bulundurur. Bu özelliği nedeniyle düşük karbon içeriğine sahip tarım topraklarına toprak düzenleyici olarak uygulanabilir. Bununla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde biyokömür toprağın karbon içeriğini (Lal, 2015) ve ürün verimini (Brassard ve ark.,2016) artırdığı, topraktan atmosfere yayılan CO₂ yayılımını azalttığı, toprağın biyolojik (Lehmann ve ark., 2011), fiziksel (Ding ve ark., 2016) ve kimyasal (Brassard ve ark., 2016; Ding ve ark., 2016; Mukherjee ve Lal, 2017) özelliklerini geliştirdiği belirlenmiştir.

Çizelge 1. Termokimyasal dönüşüm prosesleri ve genel özellikleri

Genel özellikler	Kuru Prosesler				Yaş Proses
	Hızlı Piroлиз	Yavaş piroliz (Karbonizasyon)	Gazlaştırma	Kısmi piroliz (Torrefaction)	Hidrotermal Karbonizasyon
Sıcaklık	~ 500°C	< 400°C	600-1800 °C	<300°C	180-260°
Isıtma oranı	Hızlı 1000 °C min ⁻¹	<80 °C	-	-	5-10 °C
Reaksiyon süresi	Birkaç saniye	Birkaç saat ya da birkaç gün	-	<2h	5 dakika – 12 saat
Basınç	Atmosferik ya da vakum	Atmosferik veya maksimum 1 MPa	Atmosferik veya maksimum 8 MPa	Atmosferik	Su buharı basıncı (1-4.7 MPa)
Ortam	Oksijensiz	Oksijensiz veya sınırlı oksijenli	Sınırlı oksijenli	Oksijensiz	Basıncılı su
Biyo – yağ	%75	%30	%5	%5	%5-25
Sentez gaz	%13	%35	%85	%15	%2-5
Katı madde (Biyokömür)	%12	%35	%10	%80	%45-70

Biyokömürün kimyasal bileşimi elde edildiği hammadde ile; sıcaklık, ısıtma hızı, sıcaklıkta kalma süresi ve reaktör tipi gibi üretim koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu nedenle biyokömürün kimyasal bileşimini net bir şekilde tanımlamak mümkün değildir (Lehmann ve Joseph 2009). Esas olarak karbondan oluşan biyokömür; Ca, Mg, K ve inorganik karbon iyonları gibi mineraller de içerir. Üretim aşamasında kullanılan piroliz sıcaklığı, grafit oluşumunu kısmen engeller ve aromatik halkalar grafitte olduğu gibi düzenli olmaz. Buna ilaveten üretim aşamasında daha düzensiz karbon dizilimleri oluşur ve bu moleküller O ve H içerir (Lehman ve Joseph, 2009).

Biyokömür toprağa ilave edildiğinde elde edilen etkiler bazı faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Uygulanan biyokömür miktarı bunlardan biridir. Yapılan araştırmalarda toprağa karıştırılan biyokömür miktarı arttıkça toprak fiziksel özelliklerindeki değişimlerde artma eğilimi gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bu eğilim lineer ya da üçüncü dereceden polinomial olabilir (Rogovska ve ark., 2016). Toprağın agregat büyüklük dağılımı biyokömürün toprak özelliklerine etkili olmasını sağlayan önemli bir faktördür. Araştırmalarda biyokömürün toprak fiziksel özelliklerine olan etkisi normal tekstürlü topraklardan ziyade kaba tekstürlü topraklarda daha belirgin olduğu belirlenmiştir (Omondi ve ark., 2016). Biyokömür tek başına toprağa uygulanmasından ziyade inorganik ya da organik gübrelerle birlikte toprağa verilmesi halinde toprak özelliklerini daha fazla iyileştirir. Örneğin, biyokömürün hayvan gübresi ile karıştırılarak toprağa verilmesi halinde toprağın agregasyon düzeyini daha fazla geliştirdiği sonucuna varılmıştır (Khademalrasoul ve ark., 2014). Biyokömürün toprağa olan faydaları toprağa karıştırma yöntemine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bu konu ile yapılan tarla denemelerinde biyokömürün toprağa karıştırılmasının toprağın fiziksel özelliklerini geliştirdiği ve rüzgâr ve su erozyonunu azalttığı belirtilmiştir. Biyokömürün toprağın fiziksel özelliklerine olan etkilerinin gözlemlenmesi için belirli bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır. Örneğin, Briggs ve ark., (2012) yaptıkları araştırmalarında, su sızdırmazlığının yeni biyokömür uygulaması yapılan parsellerde eski uygulama yapılan parsellere göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Biyokömürün zaman içinde oksidasyona uğraması ve kurumması, biyokömür taneciklerinin yüzeyindeki organik bileşimleri azaltır ve su tutma kapasitesinde gerilemeye neden olabilir. Bununla beraber, biyokömürün bünyesinde bulunan karbon zaman geçtikçe toprağın organik ve inorganik maddeleri ile interaksyona girerek, toprağın agregasyon düzeyini ve diğer fiziksel özelliklerini geliştirir (Briggs ve ark., 2012). Biyokömürün partikül büyüklüğü, biyokömür- toprak interaksyonunu doğrudan etkilediğinden, toprak fiziksel

özellikleri üzerine de birinci dereceden etkili olmaktadır. Küçük biyokömür partikülleri, büyük biyokömür partiküllerine göre kolayca toprağa karışarak toprak ile daha hızlı etkileşime girerler (Herath ve ark., 2013). Buna ilaveten biyokömür partikülleri ne kadar küçük olursa, birim kütledeki yüzey alanları da o derecede büyük olur. Glab ve ark., (2016) yaptıkları araştırmalarında biyokömür partikül büyüklüğünün 100 µm den 2000 µm'ye çıkması halinde toprak hacim ağırlığının azaldığı ve porozitenin arttığı sonucuna varmışlardır.

Biyokömür üretiminde termokimyasal reaksiyonlar sırasında kullanılan piroliz sıcaklığı, biyokömür kalitesine ve doğal olarak toprak fiziksel özelliklerine etkili olur. Genelde, yüksek sıcaklıklarda üretilen biyokömür, düşük sıcaklıklarda üretilene göre daha fazla nem tutma özelliğine sahiptir (Kinney ve ark., 2012; Gray ve ark., 2014). Örneğin, 500 C° de üretilen biyokömürün 300 C° de üretilen biyokömüre göre yaklaşık 13 kat daha fazla su tutma özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir (Kinney ve ark., 2012).

Biyokömürün Toprak Hacim Ağırlığı ve Poroziteye Etkileri

Toprağa biyokömür ilavesi, biyokömürün gözenekli yapısından dolayı toprak hacim ağırlığını azaltır ve buna bağlı olarak porozitesini yükseltir. Böylelikle toprak sıkışıklığını azaltarak daha porlu bir toprak yapısı oluşumu sağlar. Biyokömürün toprak hacim ağırlığına olan etkilerini incelemek amacıyla yapılan bir araştırmada, biyokömür uygulanan topraklarda kontrol parsellerine göre hacim ağırlığı değerlerinde yaklaşık %7.6 oranında azalma meydana geldiği belirtilmiştir (Omondi ve ark.,2016). Bununla birlikte, hacim ağırlığındaki azalma doğrusal ya da ikinci dereceden doğrusal olabilir. Örneğin, Glab ve ark., (2016) ve Liu ve ark., (2016) yaptıkları çalışmada, biyokömürün toprak hacim ağırlığını azalttığını ve bu azalışın doğrusal olduğunu belirtirken, Rogovska ve ark., (2016) bu değişimi 3. dereceli bir denklemle ifade etmişlerdir. Biyokömür uygulamasının toprak hacim ağırlığına olan etkilerinin araştırıldığı bazı araştırmalarda, 10 ton ha⁻¹ değerinden daha düşük oranlarda yapılan biyokömür uygulamasının toprak hacim ağırlığı üzerinde istatistiksel anlamda herhangi bir fark oluşturmadığı belirtilmiştir (Usovicz ve ark., 2016; Xiao ve ark., 2016). Buna ilaveten bir diğer araştırmada 50 ton ha⁻¹ gibi yüksek biyokömür uygulama normunun toprak hacim ağırlığı üzerinde herhangi bir etkiye neden olmadığı savunulmuştur (Pratiwi ve Shinogi 2016). Biyokömürün toprak hacim ağırlığı üzerindeki etkisi tarımsal üretime uygun tekstüre sahip topraklardan ziyade özellikle kalitesi bozulmuş ve sıkışmış topraklarda daha net bir şekilde görülmektedir.

Biyokömürün hacim ağırlığı üzerindeki etkisi toprak tipine göre değişkenlik gösterir. Kaba bünyeli topraklara yapılan biyokömür uygulaması iyi tekstürlü topraklara yapılan uygulamalara göre, toprak hacim ağırlığını daha fazla değiştirir. Biyokömür uygulanan kaba bünyeli toprakta toprağın hacim ağırlığındaki azalış %14.2 ve kumlu topraklarda %31 (Liu ve ark., 2016'a) iken, tınlı tekstürlü topraklarda bu değer %9.2 olarak belirlenmiştir (Canqui, 2017). Pirinç kabuğundan üretilen biyokömürün kumlu ve kumlu-tınlı bünyeye sahip topraklarda toprak hacim ağırlığına olan etkilerinin incelemek amacıyla laboratuvar koşullarında yürütülen bir çalışmada; toprağa %0.1 ile % 0.5 oranlarında uygulanan biyokömürün, kumlu topraklarda %18, kumlu-tınlı topraklarda ise %13 oranında toprak hacim ağırlığında azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Gamage ve ark., 2016). Tarla koşullarında kumlu-tınlı bünyeye sahip topraklarda yürütülen başka bir çalışmada, odundan üretilen biyokömürün maksimum 30 Mg ha⁻¹ oranında toprağa ilave edilmiş ve hacim ağırlığında %18 oranında bir azalma gözlenmiştir (Usovicz ve ark.,2016). Benzer şekilde; buğday sapı (Zheng ve ark., 2016; Qin ve ark., 2016), mısır hasat atığı (Pandian ve ark.,2016; Obia ve ark., 2016; Burrel ve ark., 2016), odun çipsi, bağ atığı (Burrel ve ark., 2016), çim (Glab ve ark., 2016), sert ağaç (Rogovska ve ark., 2016), pirinç kabuğu (Pratiwi ve Shinogi 2016) gibi organik atıklardan üretilen biyokömürün toprağa ilave

edilmesi halinde hacim ağırlığında azalma ve porozite de artma gözlenmiştir. İğde ağaçlarının, budama artıklarından elde edilen kompost ve biyokömürün toprak kalitesi ve mısır bitkisinin gelişimine olan etkilerinin incelendiği bir araştırmada, biyokömür uygulamasının toprağın hava ile dolu gözenek oranında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca biyokömür uygulanan topraklarda porozite, faydalı su içeriği, agregat stabilitesi ve ortalama ağırlıklı çap değerlerinde artış meydana gelmiştir (Manirakiza, 2019). Kavak talaşının 400 °C piroliz sıcaklığında üretilen biyokömürün toprak özelliklerine olan etkilerini belirlemek amacıyla sera koşullarında yürütülen bir çalışmada biyokömür uygulanan topraklarda hacim ağırlığı ve penetrasyon direnci değerlerinde azalma meydana gelirken agregasyon düzeyi ve yarayışlı su miktarlarında artış olduğu belirtilmiştir (Alaboz ve Öz, 2020).

Biyokömürün toprak hacim ağırlığının düşürmesinde etkili olan iki önemli faktör bulunmaktadır. Bunlardan ilki biyokömür hacim ağırlığının toprağın hacim ağırlığı değerinin neredeyse yarısı kadar olmasıdır. Üretim aşamasında kullanılan yöntemlere göre değişmekle birlikte, biyokömürün hacim ağırlığı 0.6 g cm⁻³'den daha azdır. Toprağın hacim ağırlığı değeri ise toprak tipine göre değişmekle birlikte genelde 1.25 gcm⁻³ civarındadır. Bu nedenle biyokömür toprağa ilave edildiğinde toprağı bir nevi seyreltmekte ve hacim ağırlığının düşmesine neden olmaktadır. Bu etki hacim ağırlığı yüksek olan topraklarda daha büyüktür. Örneğin killi topraklarda hacim ağırlığını azaltmak için uygulanan biyokömürün etkisi kumlu topraklara göre daha azdır. Bunun nedeni killi toprağın ortalama hacim ağırlığı değeri 1.1 gcm⁻³ iken bu değer kumlu topraklarda 1.5 gcm⁻³ olmasıdır. Diğer faktör ise biyokömürün toprak parçacıkları ile etkileşime girerek agregatların kümeleşmesine engel olması ve toprak alt katmanlarında daha porlu bir yapı oluşumunu sağlamasıdır. Ancak bu tarz bir oluşumun belirlenmesi için uygulamadan sonra uzun yıllar geçmesi gerekebilir. Günümüzde hacim ağırlığının düşürülmesine yönelik tarla koşullarında yürütülen biyokömür uygulamaları genelde 4 yıldan daha az süreyi kapsamaktadır (Canqui, 2017).

Toprak porozitesi toprağın hacim ağırlığı ile ters orantılı bir şekilde değişim göstermektedir. Toprak hacim ağırlığının artması porozitesinin azalmasına neden olur. Toprağa biyokömür ilavesi toprağa daha gözenekli bir yapı kazandırır ve porozite değerinin yükselmesini sağlar. Yapılan araştırmalarda biyokömür ilavesi ile toprak porozitesinin %2- %40 oranında artış gözlemlendiği sonucuna varılmıştır. Kullanılan biyokütle ve üretim tekniklerine bağlı olarak biyokömürün porozite değeri %70 ile %90 arasında değişiklik gösterir. Böylesine yüksek poroziteye sahip bir materyalin toprağa ilavesi ile toprağın porozitesinde artırılır. Yapılan bazı çalışmalarda biyokömürün porozite değeri ile piroliz sıcaklığı arasında doğrusal bir ilişki olduğu ve piroliz sıcaklığındaki artışa paralel olarak biyokömürün porozite değerinin de arttığı vurgulanmıştır. Örneğin biyokütle olarak buğday samanının kullanıldığı bir çalışmada 800 °C piroliz sıcaklığında üretilen biyokömür toprak porozitesi üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmazken 1200 °C sıcaklıkta üretilen biyokömür toprak porozitesini artırdığı belirtilmiştir (Andrenelli ve ark., 2016).

Biyokömürün Toprağın Penetrasyon, Kesme ve Gerilme Direncine Etkisi

Toprak sıkışıklığının bir diğer göstergesi penetrasyon direncidir. Toprağa biyokömür ilavesinin toprak penetrasyon direnci üzerinde etkili olabilmesi için topraktaki inorganik maddelerle etkileşime girmesi gerekir, ancak bu etkileşim için uzun bir zaman dilimine ihtiyaç duyulmaktadır. Konu ile ilgili yapılan birçok araştırma genelde kısa dönem sonuçlarını içermektedir. Kısa periyotta yapılan araştırmaların çoğunda toprağa biyokömür uygulamasının penetrasyon direnci üzerinde önemli bir etki yaratmadığı gözlenmiştir. Örneğin; sera koşullarında killi-tınlı ve kumlu bünyeye sahip topraklarda yapılan bir çalışmada, akağaç ve kuş kirazından 800°C ve 900 °C piroliz sıcaklıklarında üretilen biyokömürün toprak penetrasyon direncine olan etkileri araştırılmış ve 113 gün boyunca devam eden

denemeler sonucunda biyokömür uygulamasının toprak penetrasyon direnci üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır (Bekele ve ark., 2015). Saksılarda tınlı toprak koşullarında yürütülen bir diğer araştırmada, sert ağacın 500°C- 575°C piroliz sıcaklıklarında üretilen biyokömürün toprak penetrasyon direncine olan etkileri gözlenmiş ve 2 yıl süren incelemeler sonucunda penetrasyon direncinde istatistiksel anlamda bir fark olmadığı belirlenmiştir (Rogovska ve ark., 2014). Mukherjee ve ark., (2014), 650°C piroliz sıcaklığında meşe odunundan üretilen biyokömürün siltli-tınlı toprak koşullarında saksılarda 1.5 yıl süreyle yürüttükleri çalışmalarında toprağa biyokömür ilavesinin penetrasyon direncine herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır. Eastman (2011) tarafından yapılan araştırmada da yine meşe odunundan üretilen biyokömür kullanılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Busscher ve ark., (2010) ve Busscher ve ark., (2011) çalışmalarında pekan cevizinden 700 °C piroliz sıcaklığında ürettikleri biyokömürü kumlu ve tınlı topraklara ilave etmişler ve 96 gün sonunda toprak penetrasyon direncinde istatistiksel anlamda önemli bir fark gözlememişlerdir.

Toprak gerilme kuvveti toprak mukavemetinin bir göstergesi olup, toprağa uygulanan kuvvetler bağlı olarak karşılaşılan direnci ifade eder. Gerilme kuvvetindeki değişiklikler toprağın işlenebilirliğini ve kök gelişimini etkiler. Sıkışmış ve düşük organik madde içeriğine sahip topraklarda gerilme kuvveti yüksektir.

Yüksek karbon içeriğine sahip olan biyokömürün toprağa ilave edilmesi halinde tekstür sınıfına bağlı olarak gerilme kuvvetinde azalma meydana gelir. Ancak bu etki toprağa eklenen biyokömür miktarına göre değişkenlik gösterebilir. Zhang ve ark., (2016)'a göre, toprağa %2 den daha fazla oranda biyokömür ilavesi toprağın gerilme kuvvetini azalttığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde yapılan bir diğer çalışmada toprağa 50 Mgha⁻¹'dan daha fazla miktarda biyokömür ilavesi toprağın gerilme kuvvetini azalttığı belirtilmiştir (Chan ve ark., 2007). Killi-tınlı toprak koşullarında laboratuvar ortamında yapılan bir araştırmada; anız, odun cipsi ve atık su çamurunun 500°C piroliz sıcaklığında elde edilen biyokömürün toprağa uygulanarak gerilme direncine olan etkileri incelenmiş ve 180 gün sonunda toprağa %6 oranında biyokömür ilavesinin toprak gerilme direncini %184 oranında azalttığı sonucuna varılmıştır (Zong ve ark., 2016). Benzer çalışma koşullarında pirinç kabuğundan üretilen biyokömürün %6 oranında toprağa ilave edilmesi sonucunda ise toprak gerilme direnci değerinde %100 oranında azalma meydana gelmiştir (Zong ve ark., 2014). Yapılan bir diğer araştırmada odun yongasından elde edilen biyokömürün %4 ile %6 oranında toprağa ilavesi ile kesme direncinde maksimum %2 düzeyinde bir azalma gözlenmiştir (Lu ve ark., 2014).

Toprak kesme direnci toprağı oluşturan parçacıkların birbiri üzerinde kaymaya zorlandığında veya agregatların kırılmaya zorlanmasında ne kadar kuvvet uygulanması gerektiğinin bir göstergesidir. Genelde toprak nem içeriğinin artması kesme direncinin azalmasına neden olur. Biyokömürün toprak kesme direnci üzerindeki etkisi toprak tipi ve uygulama normuna göre değişkenlik gösterir. Örneğin killi bir toprağa biyokömür ilavesi kesme direncini azaltır. Zong ve ark. (2014) ve Zhang ve ark. (2016) yaptıkları araştırmalarında odun yongası, saman ve atık su çamurundan elde edilen biyokömürün toprağa ilave edilmesi halinde kesme direncinde %2 ile %6 arasında bir azalma tespit etmişlerdir.

Biyokömürün Toprağın Agregat Stabilitesine Etkisi

Agregat stabilitesi, toprak agregatlarında bozulmayı oluşturan çevresel etmenlere karşı içsel direncinin belirlenmesinde önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır. Agregat stabilitesi; makroporların gelişimi, su infiltrasyonu, toprak erozyonu gibi birçok faktör üzerinde etkilidir (Yakupoglu ve ark., 2015).

Toprağa biyokömür ilavesinin ıslak agregat stabilitesine olan etkilerini belirlemeye yönelik yapılan araştırmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı araştırmacılar biyokömür ilavesinin ıslak

agregat stabilitesini geliştirdiğini bildirmişlerdir. Örneğin, Gamage ve ark., (2016) kumlu ve kumlu tınlı topraklarda pirinç kabuğunun pirolizi ile elde edilen biyokömürün toprağa ilave edilmesi ile ıslak agregat stabilitesinin %16 ile %55 oranında arttığını belirtmişlerdir. Esmaelnejad ve ark., (2016), Ouyang ve ark., (2013), Herath ve ark., (2013) ve Curaqueo ve ark., (2014) araştırmalarında benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bu araştırmalarda pirinç kabuğu, odun, yulaf kabuğu, mısır atığı ve hayvan gübresinin pirolizinden elde edilen biyokömür, toprağa farklı oranlarda ilave edilmiş, toprağın agregat stabilitesinde %21 ile %226 oranında artış gözlenmiştir. Ayrıca yapılan bu araştırmalarda, toprağa uygulanan biyokömür oranları ağırlık bazında %0.1 - %10, alan bazında ise 5 Mg ha⁻¹ ile 96 Mg ha⁻¹ arasında değişmiştir. Çalışmalar sonucunda konuya genel anlamda bakıldığında, toprağa biyokömür ilavesi ile toprak tekstür sınıfı ve başlangıçtaki C içeriğinden bağımsız olarak ıslak agregat stabilizesinin arttığı sonucuna varılmıştır.

Konu ile ilgili yapılan bazı araştırmalarda ise biyokömürün ıslak agregat stabilitesine herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Örneğin Rogovska ve ark. (2014) araştırmalarında 96 Mg ha⁻¹ normda uygulanan biyokömürün ıslak agregat stabilitesine herhangi bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde Hansen ve ark. (2016) araştırmalarında toprağa 140 Mg ha⁻¹ normda biyokömür ilave etmişler ve ıslak agregat stabilitesinde bir değişim gözlemlenmemişlerdir. Buna ilaveten Zhang ve ark., (2015), Dong ve ark., (2016), Borchard ve ark., (2014), Peng ve ark., (2016), Burrell ve ark., (2016) yaptıkları araştırmalarında toprağa biyokömür ilavesinin ıslak agregat stabilitesi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlardan yola çıkıldığında toprağın tekstürü, nem içeriği, organik karbon miktarı, biyokömürün özellikleri ve iklim gibi etmenlerin ıslak agregat stabilitesi üzerinde etkili olabileceği ve bu nedenle biyokömür uygulamasının ıslak agregat stabilitesi üzerinde istatistiksel anlamda önemli bir etki yaratmayabileceği sonucuna varılabilir. Örneğin eğimli arazi koşullarında toprağa biyokömür ilavesi ıslak agregat stabilitesi üzerinde etkili olmayabilir. Bunun nedeni, biyokömürün toprağa yeterince karışmaması ve su erozyonu ile yıkanmasıdır. Benzer etki iyi tekstürlü düz arazi koşullarında da gözlenebilir. Eğimli olmayan topraklarda biyokömür toprak içerisinde etkili bir şekilde karıştırılmazsa rüzgâr erozyonu ile taşınabilir.

Toprak agregat stabilitesi ile organik madde miktarı arasında güçlü bir bağlantı bulunmaktadır. Toprağa biyokömür ilavesi karbon içeriğini artırır. Organik ve inorganik partiküllerin birleşmesi, önce mikro agregatların daha sonrada makro agregatların oluşumunu sağlar (Canqui, 2017).

Kuru agregat stabilitesi toprağın strüktürel gelişimi için önemli bir parametredir. Kuru agregat stabilitesi rüzgâr erozyonuna karşı toprağın dayana bilirliliğinin bir göstergesidir.

Yapılan araştırmalarda toprağa biyokömür ilavesinin kuru agregat stabilitesini artırdığına yönelik sonuçlar bulunmuştur. Gamage ve ark., (2016) pirinç kabuğunun pirolizi sonucunda elde ettikleri biyokömürü toprağa karıştırdıklarında kuru agregat stabilitesinde artış meydana geldiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Liu ve ark., (2012) toprağa biyokömür uygulamasının siltli topraklarda kuru agregat stabilitesini artırdığını belirtmişlerdir. Ancak bazı araştırmalarda biyokömür ilavesinin kuru agregat stabilizesine herhangi bir etki yaratmadığı vurgulanmıştır (Busscher ve ark., 2010, Cui ve ark., 2016). Çeltik kavuzu ve tavuk gübresinden elde edilen biyokömürün buğday, kırmızı lahana ve kırmızı biber ürün rotasyonunda verim ve toprak fiziksel özelliklerine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada, biyokömür uygulamasının tüm bitkilerde verim artışına neden olduğu belirlenmiştir. Buna ilaveten biyokömür uygulanan topraklarda toprak hacim ağırlığı %3.5 azalmış, toplam gözeneklilik (%3), tarla kapasitesi nem içeriği (%5.3), solma noktası nem içeriği (%1.26) ve yarayışlı su içeriği (%1.26) artmıştır. Araştırmada biyokömür uygulamasının agregat stabilitesini artırdığı sonucuna varılmıştır (Biol, 2020).

Yapılan araştırmalarda kumlu topraklarda biyokömür uygulaması kumlu-tınlı ya da siltli-tınlı topraklara göre daha az etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Liu ve ark. (2012) yaptıkları çalışmalarında kum içeriğinin %17.3 olduğu topraklarda biyokömürün kuru agregat stabilitesini artırmadığı, kum içeriği %7.9'a gerilediğinde toprağa uygulanan biyokömürün kuru agregat stabilitesini artırdığı belirtmişlerdir. Benzer şekilde Gamage ve ark., (2016), kumlu tınlı topraklarda biyokömür uygulaması ile kuru agregat stabilitesi lineer olarak artarken, kumlu topraklarda bu lineer artışın olmadığı ve kuru agregat stabilitesinin maksimum %1 oranında arttığını belirtmişlerdir.

Biyokömürün Toprak Hidrolik Özelliklerine Etkisi

Yapılan araştırmalarda toprağa biyokömür ilavesi su infiltrasyonu, doymuş ve doymamış hidrolik iletkenlik değerlerini etkilediği sonucuna varılmıştır. Bu değişimler artma ya da azalma eğiliminde olabilmektedir. Örneğin Ibrahim ve ark. (2013) odun biyokütlesinin pirolizi sonucunda elde edilen biyokömürün su infiltrasyonuna etkilerini araştırdıkları saksı denemelerinde, kumlu-tınlı bünyeye sahip toprağa ilave edilen biyokömür miktarının artışına bağlı olarak su infiltrasyonun da azalma olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Githinji ve ark. (2014) fıstık kabuğu biyokömürünün kumlu tınlı bünyeye sahip topraklara ilavesinin su infiltrasyonuna olan etkilerini sera koşullarında araştırmışlar ve ilave edilen biyokömür miktarına paralel olarak infiltrasyon düzeyinde kademeli bir azalış belirlemişlerdir. Ancak bu çalışmalardan farklı olarak ağaç atıklarından üretilen biyokömürün killi tınlı bünyeye sahip toprağa ilavesi sonucunda biyokömür oranındaki artış ile su infiltrasyon hızının da arttığı belirlenmiştir (Prober ve ark., 2014). Bazı araştırmalarda ise toprağa biyokömür ilavesinin su infiltrasyonu üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Örneğin Busscher ve ark. (2010) pegan cevizi kabuğundan üretilen biyokömürü tınlı-kumlu bünyeye sahip toprağa eklenmesi sonucunda su infiltrasyonunda herhangi bir değişimin olmadığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Rogovska ve ark. (2014) odun atıklarından üretilen biyokömürü tınlı bünyeye sahip toprağa ilave edilmesi sonucunda su infiltrasyonunda istatistiksel anlamda önemli bir değişimin olmadığını belirtmişlerdir.

Yapılan bazı araştırmalarda genel de biyokömür ilavesinin toprağın doymuş hidrolik iletkenlik değerini artırdığı belirtilmektedir. Örneğin Dan ve ark (2015) laboratuvar koşullarında siltli-tınlı bünyeye sahip topraklarda yürüttükleri çalışmalarında fıstık kabuğundan üretilen biyokömürü toprağa ilave ederek doymuş hidrolik iletkenlik değerlerindeki değişimi gözlemlemişlerdir. Araştırma sonucunda toprağın doymuş hidrolik iletkenlik değerinde %25 ile %287 oranında artış belirlemişlerdir. Siltli-tınlı bünyeye sahip toprak koşullarında yapılan bir diğer çalışmada da mısır atığının kullanıldığı biyokömürün toprağa ilavesi sonucunda doymuş hidrolik iletkenlik değeri %32 oranında artmıştır (Herath ve ark 2013). Ajayi ve Horn (2016) siltli-killi-tınlı topraklara odun biyokömürü uygulaması ile doymuş hidrolik iletkenlik değerinde %25 ile %77 oranında artış olduğunu bildirmişleridir. Bu sonuçlara ilaveten kumlu toprak koşullarında yürütölen birçok araştırmada toprağa biyokömür ilavesi toprağın doymuş hidrolik iletkenlik değerlerinde azalmaya neden olduğu belirtilmektedir (Zhang ve ark., 2016; Brockhoff ve ark., 2010; Uzoma ve ark., 2011; Barnes ve ark., 2014). Bazı araştırmalarda ise biyokömürün toprağın doymuş hidrolik iletkenliği üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Örneğin; Laird ve ark 2010; Lim ve ark., 2016; Du ve ark. 2016 tınlı bünyeye sahip topraklarda Major ve ark. 2012, Asai ve ark. 2009 ise killi bünyeye sahip topraklarda biyokömürün doymuş hidrolik iletkenlik değerine bir etkisinin olmadığını vurgulamışlardır. Ceviz kabuğunun 500 °C piroliz sıcaklığında elde edilen biyokömürün farklı dozlarının toprak fiziksel özelliklerine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada, toprağa biyokömür ilavesinin toprağın su tutma kapasitesini artırdığı belirtilmiştir (Yaman ve ark., 2019).

Yapılan araştırmalarda biyokömürün kaba bünyeli topraklara karıştırılması halinde infiltrasyon ve hidrolitik iletkenlik değerlerini azalttığı anlaşılmaktadır. Bunun en önemli nedenleri arasında genellikle 2 mm'den daha küçük biyokömür partiküllerinin topraktaki makro gözenekleri tıkamasıdır. Ayrıca biyokömür parçacıkları toprağın inorganik bileşimleri ile etkileşime girer ve su akış hızını doğrudan etkileyen toprağın porlu yapısını değiştirebilir. Buna ilaveten, uygulanan biyokömürün kendi içinde heterojen bir yapı göstermesi durumunda bazı biyokömür agregatları hızla parçalanarak toprak içindeki gözenekleri tıkayabilir. Biyokömür kumlu topraklarda kum taneciklerinin birbirine daha hızlı bağlanması sağlar, toprak kohezyonunu artırır ve su akışını azaltabilir.

Killi bünyeli ve sıkışmış topraklara biyokömür ilavesi suyun infiltrasyon hızını ve hidrolitik iletkenlik değerini artırır. Yapılan araştırmalarda 2 mm'den küçük biyokömür partiküllerinin kil gibi daha küçük çaplı toprak inorganik maddeleri ile karışması sonucunda toprağın gözenek alanını ve su akışını artırdığı belirtilmiştir (Githinji, 2014). İyi tekstürlü tarım topraklarında biyokömür uygulaması toprağın agregasyonunu geliştirerek makro gözenekliliği artırır ve bu sayede hidrolitik iletkenlik özelliklerini geliştirir. Killi topraklar kumlu topraklara göre daha düşük su akış hızına sahiptir. Bu nedenle biyokömür killi topraklarda su akışını düzenlemek amacıyla etkili bir şekilde kullanılabilir.

Biyokömürün Bitkideki Su Düzeyine Etkileri

Toprağa biyokömür uygulaması bitkilerde mevcut su tutma kapasitesini artırır. Bu avantajı özellikle kurak ya da yarı kurak iklim koşullarında yapılan bitkisel üretimde önemli bir parametredir. Biyokömürün bitkilerdeki mevcut su kapasitesine olan etkilerini belirlemek amacıyla laboratuvar ve sera ortamında çalışmalar yapılmıştır.

Kumlu toprak koşullarında saksılarda yürütölen bir çalışmada pirinç kabuğunun 550 °C piroliz sıcaklığında üretilen biyokömürün bitki bünyesindeki mevcut su kapasitesine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; toprağa 550 gkg⁻¹ normda biyokömür ilavesinin bitkideki mevcut su kapasitesini %74 oranında artırdığı sonucuna varılmıştır (Manickam ve ark., 2015). Kumlu toprak koşullarında saksılarda yürütölen bir diğer çalışmada odun ve buğday anızından 750-1200 °C piroliz sıcaklığında üretilen biyokömürün toprağa ilavesi ile bitkideki mevcut su düzeyinde %18 oranında artış olduğu belirlenmiştir (Hansen ve ark., 2016). De Melo Carvalho ve ark., (2014), kumlu-tınlı bünyeye sahip tarla koşullarında 3 yıl süreyle yaptıkları çalışmalarında odun kaynaklı biyokömür kullanmışlar ve araştırma sonucunda biyokömürün bitki nem içeriğinde artışa neden olduğu sonucuna varmışlardır. Odundan üretilen biyokömürün kullanıldığı kumlu toprak koşullarında saksılarda yürütölen bir diğer çalışmada bitkilerdeki su düzeyinde %24 oranında artış gözlenmiştir (Ajayi ve Horn, 2016). Konu ile yapılan diğer çalışmalarda da benzer eğilimler belirlenmiştir. Örneğin; Mollinedo ve ark. (2015) mısır anızından, Koide ve ark. (2015), çimenden, Du ve ark. (2016) fışık kabuğundan ürettikleri biyokömürü toprağa karıştırmışlar ve bitkilerdeki nem düzeyinde ciddi oranda artışlar belirlemişlerdir.

Biyokömürün Toprak Sıcaklığına Etkileri

Toprağa biyokömür ilavesi toprak sıcaklığını değiştirir. Biyokömürün koyu rengi toprak rengini koyulaştırır ve toprak yüzeyinin albedosunu değiştirir. Albedo, toprak tarafından atmosfere geri yansıyan güneş radyasyonunun oranıdır. Koyu topraklar daha fazla güneş ışığını emer ve grimsi veya soluk topraklara göre daha düşük yüzey yansımasına sahip olabilir. Yapılan çalışmalarda toprağa 4.5 ile 30 Mg ha⁻¹ arasında değişen oranlarda biyokömürün eklenmesi halinde albedo veya toprağın ışığı yansıtma oranının azaldığı belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2013, Usowicz ve ark., 2016). Biyokömür içeren topraklar, diğer topraklara göre daha düşük yansıtma oranına sahiptir, bu da buharlaşmayı azaltır ve toprak nem içeriğini artırır. Biyokömür uygulaması toprak sıcaklığı üzerindeki etkileri gündüz ve gece ölçümlerinde farklılıklar gösterir. Yapılan bazı çalışmalarda biyokömür uygulamasının gece toprak

sıcaklığını artırdığı gündüz ise düşürdüğü sonucuna varılmıştır. Ancak bu çalışmalarda ortalama 15 cm toprak derinliğindeki sıcaklık değişimleri arasında önemli bir fark elde edilememiştir (Zhang ve ark., 2013, Usowicz ve ark., 2016, Ventura ve ark., 2012). Konuya bu açıdan bakıldığında biyokömür uygulamasının toprak sıcaklığındaki dalgalanmaların önüne geçebilecek alternatif bir uygulama olduğu söylenebilir.

SONUÇ

Günümüzde bertarafı zor ve maliyetli olan; büyük ve küçük baş hayvanlar ile kümes hayvanları gübreleri ve tarımsal atıklar, ormancılık, kâğıt hamuru üretimi, paketlenme veya marangozluktan kaynaklanan ahşap atıkları, tarımsal işletme atıkları ve biyokömür için özel olarak yetiştirilen bitkiler biyokömürün hammaddeleri arasında yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda farklı termokimyasal dönüşüm prosesleri sonucunda üretilen biyokömürün birçok avantajı olduğu belirlenmiştir.

Biyokömür bitki büyümesine yardımcı olur ve ürün verimini artırır. Sorunlu topraklara belirli oranlarda uygulanıp karıştırıldığında toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik kalite kriterlerini geliştirir ve besin değerlerini yükseltir. Bitkisel üretimden kaynaklanan sera gazı emisyonlarını azaltır, toprakta karbon depolanmasına yardımcı olur ve depolanan karbonun yıllarca toprakta sabit kalmasını sağlar. Tarımsal üretimde kullanılan kimyasalları adsorbe ederek bunların akarsulara ve yer altı sularına karışımını engeller, böylece sürdürülebilir tarımsal üretime yardımcı olur. Kimyasal ve organik gübre ile kompost kullanımının azaltılmasında önemli bir rol oynar. Bitkilerin gelişme aşamasında topraktaki pestisitleri bünyelerine almalarına engel olur. Porozitesi düşük topraklarda özellikle yağmurlu hava koşullarında besin maddelerinin yıkanmasına engel olur. Toprağın nem tutma yeteneğini geliştirerek daha az su tüketimine yardımcı olur. Toprakta bitki gelişimini olumlu yönde etkileyen ve toprak kalitesinin artırılmasını sağlayan bazı mantarların oranını artırır. İşlenmiş topraklarda CO₂, CH₄ ve N₂O gazlarının atmosfere yayılımını azaltır bu sayede küresel ısınma üzerinde olumlu katkılar sağlar.

Biyokömürün bu avantajlarından maksimum düzeyde yararlanabilmek için uygun metotlar ile toprağın alt katmanlarına karıştırılması gerekmektedir. Biyokömürün toprağa karıştırılmasını konu alan bilimsel çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Genel teamül toprak yüzeyine el ile serilip, diskli tırmık ve toprak frezeleri ile toprağa karıştırılması yönündedir. Bununla birlikte toprağa ekim derinliğinde karıştırılması gerektiği durumlarda anıza doğrudan ekim makinalarının kullanıldığı çalışmalarda mevcuttur. Bahçelerde biyokömür uygulamasında genelde ağaç köklerine açılan karıklar içerisine biyokömür ilavesi yapıp üzerleri toprak ile kapatılmaktadır. Biyokömürün organik gübreler veya farklı kompostlar ile karıştırılarak toprağa verilmesi etkinliğinin artmasını sağlar.

Biyokömürün toprak özelliklerine etkilerini incelemek amacıyla yapılan tarla denemeleri sayısı oldukça azdır. Yapılan araştırmaların çoğu laboratuvar ya da sera koşullarında yürütülmüştür. Tarla koşullarında araştırma yapmadan biyokömürün toprak fiziksel özelliklerine olan etkilerini net bir şekilde belirlemek mümkün olmayacaktır. Buna ilaveten farklı toprak koşulları (farklı C içeriği ve toprak sıcaklığı), farklı biyokömür yönetim uygulamaları (biyokömürün yeni ya da eski olması, hacim ağırlığı ve hammaddesi), organik veya inorganik gübre ile interaksyonlarını içeren araştırmalara da ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan çalışmaların çoğunda biyokömür toprağın yaklaşık 15 cm derinliğine karıştırılarak toprak fiziksel özelliklerindeki değişimler incelenmiştir. Farklı toprak derinliklerine uygulanacak olan biyokömürün etkileri bilinmemektedir. Bu husus toprak alt katmanlarında depolanan su ve bitki gelişimi için gerekli olan besin elementlerine olan etkilerin belirlenmesi için oldukça önemli bir konudur. Bunlara ilaveten biyokömür uygulamasının ekonomik analizi ve çevresel etkilerine yönelik daha fazla araştırma yapılması sistemin etkinliği ve sürdürülebilirliği açısından önemli bir konudur.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Ajayi A, Horn R, 2016. Modification of Chemical and Hydro physical Properties of Two Texturally Differentiated Soils Due to Varying Magnitudes of Added Biochar. *Soil and Tillage Research*, 164:34–44.
- Alaboz P, Öz H, 2020. Biyokömür ve Solarizasyon Uygulamalarının Bazı Toprak Fiziksel Özellikler Üzerine Etkileri. *Anadolu Tarım Bilim. Derg. / Anadolu J Agr Sci* (35): 208-214.
- Andrenelli M, Maienza A, Genesio L, Miglietta F, Pellegrini S, Vaccari F, 2016. Field Application of Pelletized Biochar: Short Term Effect on The Hydrological Properties of a Silty Clay Loam Soil. *Agric. Water Manage.*, 163:190– 196.
- Antal M, Mochidzuki K, Paredes LS, 2003. Flash Carbonization of Biomass. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 42 (16): 3690-3699.
- Antal MJ, Gronli M 2003. The Art, Science, and Technology of Charcoal Production. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 42:1619–1640.
- Asai H, Samson BK, Stephan HM, Songyikhangsuthor K, Homma K, Kiyono Y, 2009. Biochar Amendment Techniques for Upland Rice Production in Northern Laos: 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Res.*, 111:81–84.
- Barnes RT, Gallaghe ME, Masiello CA, Liu Z, Dugan B, 2014. Biochar Induced Changes in Soil Hydraulic Conductivity and Dissolved Nutrient Fluxes Constrained by Laboratory Experiments. *PLoS One* 9: e108340.
- Bekele A, Roy JL, Young MA, 2015. Use of Biochar and Oxidized Lignite for Reconstructing Functioning Agronomic Topsoil: Effects on Soil Properties in a Greenhouse Study. *Can. J. Soil Sci.* 95:269–285.
- Biröl, M., 2020. İki Farklı Biyokömür Uygulamasının Bitki Verimine ve Toprak Kalitesine Etkisinin Belirlenmesi. Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Borchard N, Siemens J, Ladd JB, Möller A, Amelung W, 2014. Application of Biochars to Sandy and Silty Soil Failed to Increase Maize Yield under Common Agricultural Practice. *Soil and Tillage Research*, 144:184–194.
- Brassard P, Stephane G, Vijaya R, 2016. Soil Biochar Amendment as a Climate Change Mitigation Tool: Key Parameters and Mechanisms Involved. *J. Environ. Manage.*, 181:484–497.
- Bridgwater AV, 2012. Review of Fast Pyrolysis of Biomass and Product Upgrading. *Biomass and Bioenergy*, 38: 68-94.
- Briggs C, Breiner JM, Graham RC, 2012. Physical and Chemical Properties of *Pinus Ponderosa* Charcoal: Implications for Soil Modification. *Soil Sci.*, 177:263– 268.
- Brockhoff SR, Christians NE, Killorn RJ, Horton R, Davis DD, 2010. Physical and Mineral-Nutrition Properties of Sand-Based Turfgrass Root Zones Amended with Biochar. *Agronomy Journal*, 102:1627–1631.
- Burrell LD, Zehetner F, Rampazzo N, Wimmer B, Soja G, 2016. Longterm Effects of Biochar on Soil Physical Properties. *Geoderma*, 282:96–102.
- Busscher WJ, Novak JM, Ahmedna M, 2011. Physical Effects of Organic Matter Amendment of a Southeastern Us Coastal Loamy Sand. *Soil Sci.*, 176:661–667.

- Busscher WJ, Novak JM, Evans DE, Watts DW, Niandou MAS, Ahmedna M, 2010. Influence of Pecan Biochar on Physical Properties of a Norfolk Loamy Sand. *Soil Sci.*, 175:10–14.
- Chan KY, Zwieteron LV, Meszaros I, Downie A, Joseph S, 2007. Agronomic Values of Greenwaste Biochar as A Soil Amendment. *Aust. J. Soil Res.*, 45:629–634.
- Cui H, Ma K, Fan Y, Peng X, Mao J, Zhou D, 2016. Stability and Heavy Metal Distribution of Soil Aggregates Affected by Application of Apatite, Lime, and Charcoal. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 23:10808–10817.
- Curaqueo G, Meier S, Khan N, Cea M, Navia R, 2014. Use of Biochar on Two Volcanic Soils: Effects on Soil Properties and Barley Yield. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 14:911–924.
- Dan T, Zhong-Yi Q, Mang-Mang G, Bo L, Yi-Jia L, 2015. Experimental Study of Influence of Biochar of Different Texture Soil Hydraulic Characteristic Parameters and Moisture Holding Properties. *Pol. J. Environ. Stud.*, 24:1435–1442.
- De Melo Carvalho MT, De Holanda Nunes Maia A, Madari BE, Bastiaans L, Van Ort, PAJ, Heinemann AB, 2014. Biochar Increases Plant Available Water in a Sandy Soil under an Aerobic Rice Cropping System. *Solid Earth* 6:887–917.
- Ding Y, Liu YG, Liu SB, Li ZW, Tan XF, Huang XX, 2016. Biochar to Improve Soil Fertility: A Review. *Agron. Sustain. Dev.*, 36:12-18.
- Dong X, Guan T, Li G, Lin Q, Zhao X (2016). Long-Term Effects of Biochar Amount on The Content and Composition of Organic Matter in Soil Aggregates under Field Conditions. *J. Soils Sediments* 16:1481–1497.
- Du Z, Chen X, Qi X, Li Z, Nan J, Deng J, 2016. The Effects of Biochar and Hoggery Biogas Slurry on Fluvo-Aquic Soil Physical and Hydraulic Properties: A Field Study of Four Consecutive Wheat–Maize Rotations. *J. Soils Sediments*, 16:2050–2058.
- Dufour DL, 1990. Use of Tropical Rainforests by Native Amazonians. *BioScience*. 40 (9): 652–659.
- Eastman CM, 2011. Soil Physical Characteristics of an Aeris Ochraqualf Amended with Biochar. MSc diss. Ohio State University, Columbus, OH.
- Esmaelnejad L, Shorafa M, Gorji M, Hosseini SM, 2016. Enhancement of Physical and Hydrological Properties of a Sandy Loam Soil Via Application of Different Biochar Particle Sizes During Incubation Period. *Span. J. Agric. Res.*, 14(2):e1103.
- Gamage DN, Mapa RB, Dharmakeerthi RS, Biswas A, 2016. Effect of Ricehusk Biochar on Selected Soil Properties in Tropical Alfisols. *Soil Research*, 54:302–310.
- Głąb T, Palmowska J, Zaleski T, Gondek K, 2016. Effect of Biochar Application on Soil Hydrological Properties and Physical Quality of Sandy Soil. *Geoderma*, 281:11–20.
- Glaser B, Lehmann J, Steiner C, Nehls T, Yousaf M, Zech W, 2002. Potential of Pyrolysed Organic Matter in Soil Amelioration, in Proceedings of the 12th International Soil Conservation (ISCO) Conference, Beijing, China.
- Gray M, Johnson MG, Dragila MI, Kleber M, 2014. Water Uptake in Biochars: The Roles of Porosity and Hydrophobicity. *Biomass Bioenergy*, 61:196–205.
- Hansen V, Nielsen HH, Petersen CT, Mikkelsen TN, Stöver DM, 2016. Effects of Gasification Biochar on Plant-Available Water Capacity and Plant Growth in Two Contrasting Soil Types. *Soil and Tillage Research*, 161:1–9.
- Herath HMSK, Arbestain MC, Hedley M, 2013. Effect of Biochar on Soil Physical Properties in Two Contrasting Soils: An Alfisol and an Andisol. *Geoderma*, 209–210:188–197.

- Kambo H, Dutta A, 2015. A Comparative Review of Biochar and Hydrochar in Terms of Production, Physico-Chemical Properties and Applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45: 359–378.
- Khademalrasoul A, Naveed M, Heckrath G, Kumari KGID, Jonge LW, Elsgaard L, 2014. Biochar Effects on Soil Aggregate Properties Under No-Till Maize. *Soil Science*, 179:273–283.
- Kinne, TJ, Masiello CA, Dugan B, Hockaday WC, Dean MR, Zygourakis K, 2012. Hydrologic Properties of Biochars Produced at Different Temperatures. *Biomass Bioenergy* 41:34–43.
- Koide RT, Nguyen BT, Skinner RH, Dell CJ, Peoples MS, Adler PR, 2015. Biochar Amendment of Soil Improves Resilience to Climate Change. *GCB Bioenergy*. 7:1084–1091.
- Laird DA, Fleming P, Davis DD, Horton R, Wang B, Karlen DL, 2010. Impact of Biochar Amendments on the Quality of a Typical Midwestern Agricultural Soil. *Geoderma*, 158:443–449.
- Lehmann J, Rillig MC, Thies J, Masiello CA, Hockaday WC, Crowley D, 2011. Biochar Effects on Soil Biota: A Review. *Soil Biol. Biochem.*, 43:1812–1836.
- Lim TJ, Spokas KA, Feyereisen G, Novak JM, 2016. Predicting the Impact of Biochar Additions on Soil Hydraulic Properties. *Chemosphere*, 142:136–144.
- Liu XH, Han FP, Zhang, XC, 2012. Effect of Biochar on Soil Aggregates in The Loess Plateau: Results from Incubation Experiments. *Int. J. Agric. Biol.*, 14:975– 979.
- Liu Z, Dugan B, Masiello CA, Barnes RT, Gallagher ME, Gonnermann H, 2016a. Impacts of Biochar Concentration and Particle Size on Hydraulic Conductivity and DOC Leaching of Biochar–Sand Mixtures. *J. Hydrol.*, 533:461– 472.
- Lu S, Sun F, Zong Y, 2014. Effect of Rice Husk Biochar and Coal Fly Ash on Some Physical Properties of Expansive Clayey Soil (Vertisol). *Catena*, 114:37–44.
- Major J, Rondon M, Molina D, Riha SJ, Lehmann J, 2012. Nutrient Leaching in a Colombian Savanna Oxisol Amended with Biochar. *J. Environ. Qual.* 41:1076– 1086. doi:10.2134/jeq2011.0128
- Manickam T, Cornelissen G, Bachmann RT, Ibrahim IZ, Mulder J, Hale SE 2015. Biochar Application in Malaysian Sandy and Acid Sulfate Soils: Soil Amelioration Effects and Improved Crop Production Over Two Cropping Seasons. *Sustainability* 7:16756–16770.
- Manirakiza N, 2019. Biyokömür ve Kompost Uygulamalarının Kumlu Bir Toprağın Özellikleri ile Mısır Bitkisinin Gelişimine Etkileri. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Mao JD, Johnson RL, Lehmann J, Olk J, Neeves EG, Thompson ML, Schmidt-Rohr K, 2012. Abundant and Stable Char Residues in Soils: Implications for Soil Fertility and Carbon Sequestration. *Environmental Science and Technology*, 46 (17): 9571–9576.
- Mollinedo J, Schumacher TE, Chintala R, 2015. Influence of Feedstocks, and Pyrolysis on Biochar Capacity to Modify Water Retention Characteristics. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 114:100–108.
- Mukherjee A, Lal R, Zimmerman AR, 2014. Impacts of 1.5-Year Field Aging on Biochar, Humic Acid, and Water Treatment Residual Amended Soil. *Soil Sci.* 179:333–339.
- Obia A, Mulder J, Martinsen V, Cornelissen G, Borresen T, 2016. In Situ Effects of Biochar on Aggregation, Water Retention and Porosity in Light-Textured Tropical Soils. *Soil and Tillage Research*, 155:35–44.
- Omondi MO, Xia X, Nahayo A, Liu X, Korai PK, Pan G, 2016. Quantification of Biochar Effects on Soil Hydrological Properties using Meta-Analysis of Data. *Geoderma* 274:28–34.
- Ouyang L, Tang WJ, Zhang R, 2013. Effects of Biochar Amendment on Soil Aggregates and Hydraulic Properties. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 13:991–1002.

- Pandian K, Subramaniayan P, Gnasekaran P, Chitraputhirapillai S, 2016. Effect of Biochar Amendment on Soil Physical, Chemical and Biological Properties and Groundnut Yield in Rainfed Alfisol of Semi-Arid Tropics. *Arch. Agron. Soil Sci.* 62:1293–1310.
- Peng X, Zhu Q, Xie Z, Darboux F, Holden N, 2016. The Impact of Manure, Straw and Biochar Amendments on Aggregation and Erosion in a Hillslope Ultisol. *Catena* 138:30–37.
- Pratiwi EP, Shinogi Y, 2016. Rice Husk Biochar Application on Paddy Soil and Its Effects on Soil Physical Properties, Plant Growth, and Methane Emission. *Paddy Water Environ.*, 14:521–532.
- Rogovska N, Laird DA, Karlen DL, 2016. Corn and Soil Response to Biochar Application and Stover Harvest. *Field Crops Res.*, 187:96–106.
- Rogovska N, Laird DA, Rathke SJ, Karlen DL, 2014. Biochar Impact on Midwestern Mollisols and Maize Nutrient Availability. *Geoderma*, 230–231:340–347.
- Ronsse F, 2016. Biochar: A Regional Supply Chain Approach in View of Climate Change Mitigation. *Biochar Production*. Chapter 10:199-226.
- Usovich B, Lipiec J, Lukowski M, Marczewski W, Usovich J, 2016. The Effect of Biochar Application on Thermal Properties and Albedo of Loess Soil under Grassland and Fallow. *Soil and Tillage Research*, 164:45–51.
- Uzoma KC, Inoue M, Andry H, Zahoor A, Nishihara E, 2011. Influence of Biochar Application on Sandy Soil Hydraulic Properties and Nutrient Retention. *J. Food Agric. Environ.*, 9:1137–1143.
- Ventura F, Salvatorelli F, Piana S, Pieri L, Pisa, PR, 2012. The Effects of Biochar on The Physical Properties of Bare Soil. *Earth Environ. Earth Env. Sci. T. R. So.*, 103:5–11.
- Withrow J, 1915. The Chemical Engineering of the Hardwood Distillation Industry. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 7 (2): 912-913.
- Xiao Q, Zhu L, Zhang H, Li X, Shen Y, Li S, 2016. Soil Amendment with Biochar Increases Maize Yields in a Semi-Arid Region by Improving Soil Quality and Root Growth. *Crop Pasture Sci.*, 67:495–507.
- Yaman E, Varol E.A, Gültaş H.T, Özbay N, (2019). Ceviz Kabuğunun Karbonizasyonu ile Elde Edilen Katı Ürününün Toprak Düzenleyicisi Olarak Kullanılması. *BŞEÜ Fen Bilimleri Dergisi* 6 :106-116.
- Zhang J, Chen Q, You CF, 2016. Biochar Effect on Water Evaporation and Hydraulic Conductivity in Sandy Soil. *Pedosphere*, 26:265–272.
- Zhang Q, Du Z, Lou Y, He X, 2015. A One-Year Short-Term Biochar Application Improved Carbon Accumulation in Large Macroaggregate Fractions. *Catena* 127:26–31.
- Zhang Q, Wang Y, Wu Y, Wang X, Du Z, Liu X, 2013. Effects of Biochar Amendment on Soil Thermal Conductivity, Reflectance, and Temperature 2013. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 77:1478–1487.
- Zheng J, Chen J, Pan G, Liu X, Zhang X, Li L, 2016. Biochar Decreased Microbial Metabolic Quotient and Shifted Community Composition Four Years After a Single Incorporation in a Slightly Acid Rice Paddy from Southwest China. *Sci. Total Environ.* 571:206–217.
- Zong Y, Chen D, Lu S, 2014. Impact of Biochars on Swell–Shrinkage Behavior, Mechanical Strength, and Surface Cracking of Clayey Soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 177:920–926.
- Zong Y, Xiao Q, Lu S, 2016. Acidity, Water Retention, and Mechanical Physical Quality of a Strongly Acidic Ultisol Amended with Biochars Derived from Different Feedstocks. *J. Soils Sediments* 16:177–190.

Sulfur Removal from Coal with The Basic Extraction Liquid of Oak Ash

Gizem Hazan CAGLAYAN^{1*}, Ubeyde İPEK²

ABSTRACT: Desulfurized coal produces high amounts of SO_x during combustion. Therefore, many negative environmental impacts such as air pollution and acid rain occur. Coal desulfurization research is very important for environmental and socio-economic development. In this study; it was aimed to desulfurization of coal with oak ash extraction liquid. In this way, sulfur compounds that are harmful to the environment were removed with a waste in nature. Sorgun coal was chosen due to its high sulfur content. Extraction liquids were obtained from different weights of oak ash. Total sulfur and pyritic sulfur values were measured after desulfurization process. In addition, KOH + oak ash liquid mixtures were used for desulfurization to determine the effect of chemicals. For Sorgun coal, the highest total sulfur and pyritic sulfur removal with oak ash were obtained as 28.7% and 57.7%, respectively. Furthermore, the highest pyritic sulfur removal with oak ash + KOH mixtures was obtained as 61.9%. As a result of the study, it was observed that the oak ash extraction liquid was effective to remove total sulfur and pyritic sulfur from coal. It is clear that this study will light on further studies for desulfurization.

Keywords: Coal, Desulfurization, Oak ash, Sulfur

¹ Gizem Hazan CAGLAYAN ([Orcid ID: 0000-0002-5885-7934](https://orcid.org/0000-0002-5885-7934)), Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering and Architect, Mus Alparslan University, Mus, Turkey

² Ubeyde İPEK ([Orcid ID: 0000-0003-1125-0745](https://orcid.org/0000-0003-1125-0745)), Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Firat University, Elazığ, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Gizem Hazan CAGLAYAN, e-mail: g.hazan.caglayan@gmail.com

Bu çalışma Gizem Hazan ÇAĞLAYAN'nın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

INTRODUCTION

Energy is a vital need that is necessary for human life. Throughout human history, the usage of energy has been changed owing to major reforms in human civilization. By using and developing energy, both the world economy and human society have major improvement (Feng et al., 2020a). The rapid development of the industry and the economy also increase global energy consumption. In order to supply the rapidly increasing global energy consumption, sustainable growth in the field of energy is becoming necessary (Feng et al., 2020b).

Coal, which is a nonrenewable fossil resource, has been used as the main energy source for centuries (Çelik et al., 2019). The organic and inorganic structure of coal consists of minerals such as carbon, sulfur, clay, calcite and quartz (Boylu and Karağaçoğlu, 2018). The sulfur in coal occurs in organic and inorganic forms (Liu et al., 2020). Inorganic forms of sulfur in coal are generally found as pyrite, sulfur and sulfate (Li and Tang, 2014).

SO_x emissions from burning coal cause serious environmental problems (Ye et al., 2018). SO₂ gases generated by the combustion of coal can be oxidized in the troposphere layer of the atmosphere and converted into sulfate. At the same time, SO₂ gas, which turns into solid pollutants, is the main source of PM_{2.5}. All over the world, millions of tons of SO₂ gas are emitted into the air during the burning of coal, especially in power plants. It can be said that this is the most important reason for the increase in acid rain (Yong-liang et al., 2020). As a result, the desulfurization process is very important to ensure clean conversion of high sulfur coals and reduce environmental effects. Various pre-desulfurization processes are applied for the desulfurization of coal. In this way, the sulfur forms in the coal are changed (Wang et al., 2020). Primary desulfurization methods can be expressed as physical, physico-chemical, chemical and bio-desulfurization. Among these methods, it can be stated that the chemical desulfurization method is the most effective method for both inorganic and organic desulfurization (Xia and Xie, 2017). The above-mentioned coal desulfurization methods are shown in Figure 1.

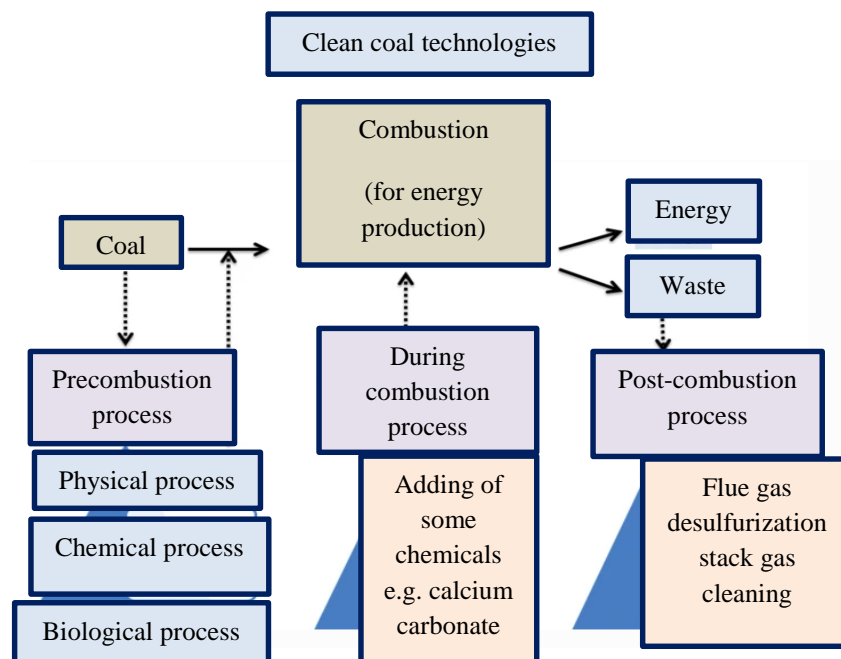


Figure 1. Clean coal technologies (Çelik et al., 2019)

Sulfur in coal can be removed by physical, chemical and biological methods. Among these methods, physical method is cost-effective and can remove pyritic sulfur but this method can't reduce organic sulfur. Both organic and inorganic sulfur from coal can be removed by chemical method (Ye et al., 2018). Many different methods applied for the desulfurization of coal are available in the literature (Tang et al., 2020).

Researches show that magnetic (Meshroglu et al., 2015), chemical (Longjun and Caixi, 2007) and biological (Kumar et al., 2019) methods are used to desulfurization of coal. Ning and Xiuxiang (2015) used a microwave method to desulfurize coal in a NaOH solution. They used K-edge X-ray absorption near-edge structures to analyze the changes in the form of sulfur before and after desulfurization and found that the pyritic sulfur content of the coal decreased from 53.6% to 39.2%. Liu et al. (2017) observed desulfurization of Yihai coalfield contains 4.97% total sulfur content. After desulfurization process with a newly isolated native bacterium *Aspergillus* sp. DP06, total sulfur content was reduced to 2.63%. Singh et al. (2018) investigated high-sulfur coal samples collected from Giral lignite mine were desulfurized using bacteria *Burkholderia* sp. GR 8-02 isolated from native lignite. After desulfurization, the total sulfur content of coal sample decreased from 4.23% to 2.99%.

Desulfurization of coal with waste material in nature instead of the physical, chemical and biological methods is an environmentally friendly desulfurization process. This method has many advantages over physical, chemical and biological methods such as less costly, reusing waste, not creating any waste material at the end of the process. Moreover; there is no published research examining the use of waste for desulfurization. The main purpose of this study is to use a waste material in nature for desulfurization process without adding chemicals or using microorganisms in desulfurization process and to determine the efficiency of this process. In this paper, the desulfurization process of Sorgun coal was examined using basic extraction liquids of oak ash. Before and after this process; the total sulfur and pyritic sulfur content of this sample were determined and removal was calculated.

MATERIALS AND METHODS

The samples were crushed to a particle size of 250 μm using the ASTM D2013 method. Total sulfur contents were measured using the IR ASTM D4239 method. Afterwards, 2 g, 4 g, 6 g, 8 g and 10 g oak ash samples were extracted in 20 mL, 40 mL, 60 mL, 80 mL and 100 mL of distilled water at 100°C for 30 min and then the mixtures were filtered to obtain basic liquid. The samples were re-extracted in the basic liquid at 100°C for 1 hour and then filtered. They were dried in an oven at 103°C for 1 hour and then leached in 100 mL HCl to remove the non-pyritic iron. They were boiled in 50 mL nitric acid solution (one volume of HNO_3 + seven volumes of pure water) in an Erlenmeyer flask with a reflux condenser for 30 min.

The mixtures were filtered after boiling. 2 mL H_2O_2 was added to filtrate and boiled to remove the discoloration due to coal breakdown and to oxidize the iron. Fe^{+3} ions in the filtrate solution were precipitated using ammonia. The filtrate solution was filtered again and then washed with hot distilled water and HCl. Its pH was adjusted to 2.5 and added 1 mL of 5-sulfosalicylic acid indicator solution.

Adjusted disodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid (0.01 N Titriplex III) was used for titration until the color turned from red to yellow, resulting in the detection of Fe^{+3} content. The pyritic sulfur content (%) was calculated using Eq. (1) (Açışlı, 2002):

$$Sp = \left(\frac{64.128}{55.847} \right) \times NVF \times \left(\frac{5.5847}{g} \right) \quad (1)$$

where N = normality of Titriplex III solution, V = volume of Titriplex III solution used for titration (mL), F = factor of Titriplex III solution and g = sample weight.

First of all, the properties of the coal sample were expressed. The results of the initial analysis of Sorgun coal are given in Table 1.

Table 1. Sorgun Coal Analysis Results.

Parameter	Original Coal	Dry Coal	Test Method
Humidity %	13.85	--	ASTM D3173
			ASTM D3302
Volatile Matter %	29.09	33.76	ASTM D3174
Ash %	25.29	29.35	ASTM D3175
Total Sulfur %	2.21	2.43	ASTM D 4239
Lower calorific value kcal / kg	4009	4742	ISO 1928
Upper calorific value kcal / kg	4246	4928	ASTM D5865

RESULTS AND DISCUSSION

In the current study; desulfurization by oak ash-based extraction liquid of Sorgun coal sample was examined. Figure 2 shows that the total sulfur removal of Sorgun coal

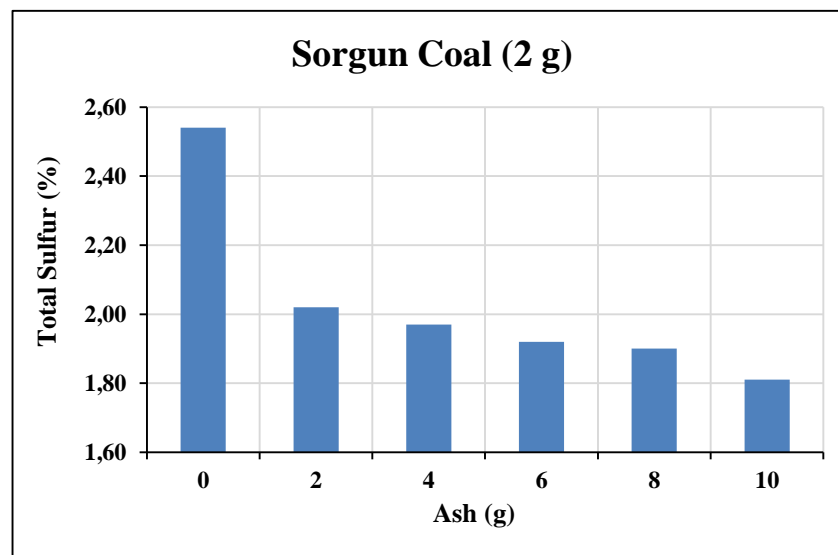


Figure 2. Variation of total desulfurization based on oak ash content

Figure 2 shows the amount of sulfur removed from 2 g of coal reacting with 2 g, 4g, 6 g, 8 g and 10 g of oak ash extraction liquid. Before desulfurization; total sulfur content of Sorgun coal was measured as 2.54%. After desulfurization, total sulfur contents of Sorgun coal were measured as 2.02% (for 2 g), 1.97% (for 4 g), 1.92% (for 6 g), 1.90% (for 8 g) and 1.81% (for 10 g). The highest total sulfur removal was calculated as 28.7%.

In previous studies; a lot of researchers investigated total sulfur removal methods. Singh et al. (2013) researched to removal of total sulfur from Tiru valley coal samples by *Pseudoxanthomonas* sp. The mean sulfur removal was calculated as 18.26%. Kiani et al. (2014) investigated the bio-desulfurization of Mehr Azin coal with a mixed culture of mesophilic microorganisms. The total sulfur removal was calculated as 50.3%. Wang et al. (2019) investigated desulfurization of coal in H₂O₂ and IL-H₂O₂ mixtures. As a result of the study, total sulfur decreased from 2.15% to 1.21%. The total sulfur removal was calculated as 43.7%.

We compared the pyritic sulfur content of the samples before and after desulfurization with oak ash extraction liquid. 2 g coal samples were treated using five different amounts of oak ash extraction liquid (20 mL, 40 mL, 60 mL, 80 mL and 100 mL) to determine the effect of coal and oak ash contents on the effectiveness of the pyritic desulfurization process. These results show in Figure 3.

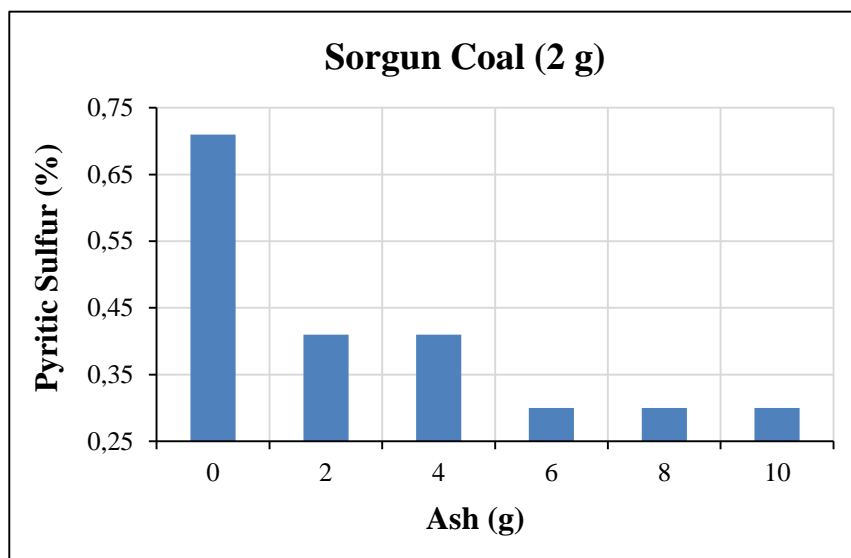


Figure 3. Variation of pyritic desulfurization by oak ash content

Before desulfurization with 2 g, 4 g, 6 g, 8 g and 10 g of oak ash extraction liquid, pyritic sulfur content of 2 g Sorgun coal was measured as 0.71%. After desulfurization, pyritic sulfur contents of Sorgun coal were measured as 0.41% (for 2 g), 0.41% (for 4 g), 0.30% (for 6 g), 0.30% (for 8 g) and 0.30% (for 10 g). The highest pyritic sulfur removal was calculated as 57.7%.

During the last years, researchers investigated various desulfurization methods of coal. Levent et al. (2007) investigated the desulfurization of Artvin/Yusufeli coal with H_2O_2/H_2SO_4 solutions in their study using the Taguchi method. The pyritic sulfur removal was calculated as 56.54%. Zhang et al. (2017) investigated the desulfurization of Inner Mongolia Erdos coal with a novel microwave-enhanced magnetic property processing method. Pyritic sulfur was reduced by 60% after 90 s microwave treatment. Tang et al. (2018) researched desulfurization of 3 gr Xinyu coal and Guxian raw coal utilizing the potassium tert-butoxide/hydrosilane. Pyritic sulfur contents of this coal decreased from 0.21 to 0.02 and 0.40 to 0.06, respectively. It can be said that total sulfur and pyritic sulfur removal results are consistent with the literature.

In order to examine the effect of KOH addition on pyritic desulfurization, 0.02 M 100 mL KOH solution and 2 g Sorgun coal were re-analyzed with oak ash (2 g, 4 g, 6 g, 8 g and 10 g) of different weight. Figure 4 shows these results.

Before desulfurization; pyritic sulfur content of 2 g of Sorgun coal was measured as 0.71%. After desulfurization; pyritic sulfur contents of Sorgun coal were measured as 0.38% (for 2 g oak ash and 0.02 M KOH solution), 0.27% (for 4 g oak ash and 0.02 M KOH solution), 0.27% (for 6 g oak ash and 0.02 M KOH solution), 0.27% (for 8 g oak ash and 0.02 M KOH solution) and 0.27% (for 10 g oak ash and 0.02 M KOH solution). The highest pyritic sulfur removal was calculated as 61.9%. It was observed that the amount of desulfurization was further increased with the addition of KOH. As a result of this analysis, higher removal was obtained due to the chemical contribution.

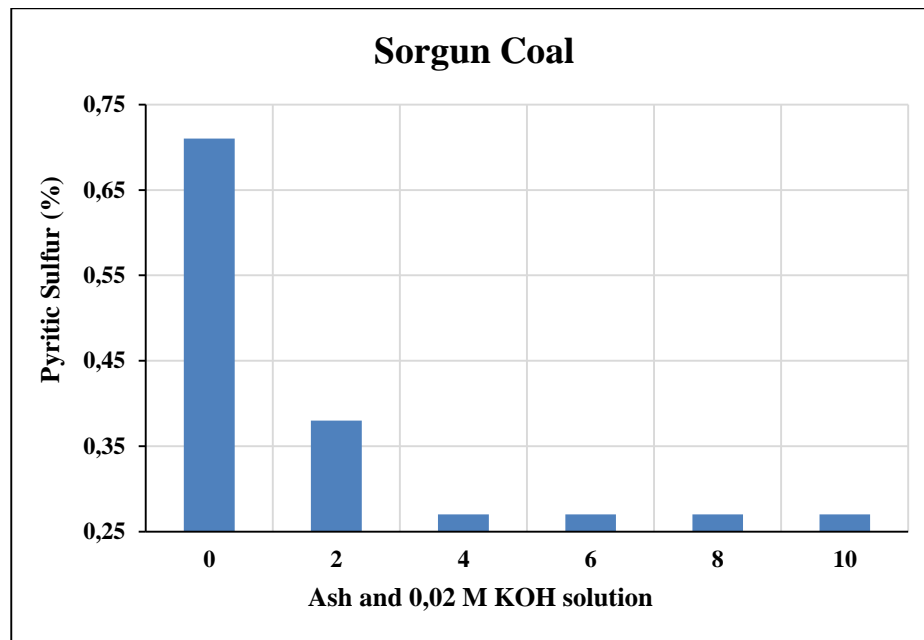


Figure 4. Variation of pyritic desulfurization by mix of oak ash content and 0.02 M KOH

CONCLUSION

In this study; it was aimed to benefit the environment by using waste material for desulfurization process. The oak ash as waste material was used for desulfurization of Sorgun coal. The results obtained from this study are expressed:

- The highest total sulfur and pyritic sulfur removal with oak ash extraction liquids were obtained as 28.7% and 57.7%, respectively.
- The lowest total sulfur and pyritic sulfur removal with oak ash extraction liquids were obtained as 20.5% and 42.3%, respectively.
- The highest and lowest pyritic sulfur removal with oak ash extraction liquids + 0.02 M 100 mL KOH were obtained as 61.9% and 46.5%, respectively.

When the results are examined; it can be said that oak ash can be used instead of physical methods, chemicals or microorganisms for desulfurization process. In addition, it is seen that the analysis results are appropriate to the literature. Since there is no similar study in the literature on the use of waste resources for the desulfurization process, it is clear that this study will contribute to further studies on the desulfurization of coal.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Fırat University with the BAP Project No. MF.15.15, 2016. In addition, we would like to thank the employees of Elazığ Governorship Environmental Measurement and Analysis Laboratory for their support.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Açıışlı Ö, 2002. Desulfurization of Balkaya Lignite at Various Gas Atmospheres. Ataturk University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Master Thesis (Printed).
- ASTM D2013/D2013M-20, Standard Practice for Preparing Coal Samples for Analysis, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2020, <https://www.astm.org/Standards/D2013.htm>, (Date of access: 22 April 2021).
- ASTM D4239-18e1, Standard Test Method for Sulfur in the Analysis Sample of Coal and Coke Using High-Temperature Tube Furnace Combustion, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2018, <https://www.astm.org/Standards/D4239.htm>, (Date of access: 22 April 2021).
- Boylu F, Karağaçlıoğlu İE, 2018. Evaluation of Coal Components-Coal Calorific Value Relationship. *Journal of Earth Sciences*, 39(3): 221-236.
- Çelik PA, Aksoy DÖ, Koca S, Koca H, Çabuk A, 2019. The Approach of Biodesulfurization for Clean Coal Technologies: A Review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(4): 2115-2132.
- Feng Y, Lu J, Wang J, Mi J, Zhang M, Ge M, Li Y, Zhang Z, Wang W, 2020a. Desulfurization Sorbents for Green and Clean Coal Utilization and Downstream Toxics Reduction: A Review and Perspectives. *Journal of Cleaner Production*, 273: 123080.
- Feng Y, Wang J, Hu Y, Lu J, Zhang M, Mi J, 2020b. Microwave Heating Motivated Performance Promotion and Kinetic Study of Iron Oxide Sorbent for Coal Gas Desulfurization. *Fuel*, 267: 117215.
- Kiani MH, Ahmadi A, Zilouei H, 2014. Biological Removal of Sulphur and Ash from Fine-Grained High Pyritic Sulphur Coals Using A Mixed Culture of Mesophilic Microorganisms. *Fuel*, 131: 89-95.
- Kumar A, Singh A, Singh P, Singh A, Saikia BK, Kumar A, 2019. Desulfurization of Giral Lignite of Rajasthan (Western India) Using *Burkholderia* sp. GR 8–02. *International Journal of Coal Preparation and Utilization*, 1-17.
- Levent M, Kaya Ö, Kocakerim M, Yiğit V, Küçük Ö, 2007. Optimization of Desulphurization of Artvin–Yusufeli Lignite with Acidic Hydrogen Peroxide Solutions. *Fuel*, 86(7-8): 983-992.
- Li W, Tang Y, 2014. Sulfur Isotopic Composition of Superhigh-Organic-Sulfur Coals from The Chenxi Coalfield, Southern China. *International Journal of Coal Geology*, 127: 3-13.
- Liu T, Hou JH, Peng YL, 2017. Biodesulfurization from The High Sulfur Coal with A Newly Isolated Native Bacterium, *Aspergillus* sp. DP06. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 36(2): 595-599.
- Liu F, Lei Y, Shi J, Zhou L, Wu Z, Dong Y, Bi W, 2020. Effect of Microbial Nutrients Supply on Coal Biodesulfurization. *Journal of Hazardous Materials*, 384: 121324.
- Longjun X, Cai-Xi C, 2007. Effect of Nitric Acid Pretreatment on Organic Sulfur Removal of Coal by 1-phrpyl Alcohol. *Coal Conversion*, 30: 76-79.
- Meshroghli S, Yperman J, Jorjani E, Carleer R, Noaparast M, 2015. Evaluation of Microwave Treatment on Coal Structure and Sulfur Species by Reductive Pyrolysis-Mass Spectrometry Method. *Fuel Processing Technology*, 131: 193-202.
- Ning X, Xiuxiang T, 2015. Changes in Sulfur Form During Coal Desulfurization with Microwave: Effect on Coal Properties. *International Journal of Mining Science and Technology*, 25(3): 435-438.
- Singh PK, Singh AL, Kumar A, Singh MP, 2013. Control of Different Pyrite Forms on Desulfurization of Coal with Bacteria. *Fuel*, 106: 876-879.
- Singh AK, Kumar A, Singh PK, Singh AL, Kumar A, 2018. Bacterial Desulphurization of Low-rank Coal: A Case Study of Eocene Lignite of Western Rajasthan, India. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 40(10): 1199-1208.
- Tang L, Wang S, Zhu X, Guan Y, Chen S, Tao X, He H, 2018. Feasibility Study of Reduction Removal of Thiophene Sulfur in Coal. *Fuel*, 234: 1367-1372.

- Tang L, Fan H, Chen S, Tao X, He H, Zhu X, 2020. Investigation on The Synergistic Mechanism of Coal Desulfurization by Ultrasonic with Microwave. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 42(20): 2516-2525.
- Wang L, Jin G, Xu Y, 2019. Desulfurization of Coal Using Four Ionic Liquids with $[\text{HSO}_4]^-$. *Fuel*, 236: 1181-1190.
- Wang M, Shen Y, Hu Y, Kong J, Wang J, Chang L, 2020. Effect of Pre-desulfurization Process on The Sulfur forms and Their Transformations During Pyrolysis of Yanzhou High Sulfur Coal. *Fuel*, 276: 118124.
- Xia W, Xie G, 2017. A Technological Review of Developments in Chemical-related Desulfurization of Coal in the Past Decade. *International Journal of Mineral Processing*, 161: 65-71.
- Ye J, Zhang P, Zhang G, Wang S, Nabi M, Zhang Q, Zhang H, 2018. Biodesulfurization of High Sulfur Fat Coal with Indigenous and Exotic Microorganisms. *Journal of Cleaner Production*, 197: 562-570.
- Yong-liang X, Yang L, Yun-Chuan B, Meng-Lei C, Lan-Yun W, 2020. Review on The Ionic Liquids Affecting The Desulfurization of Coal by Chemical Agents. *Journal of Cleaner Production*, 284: 124788.
- Zhang B, Yan G, Zhao Y, Zhou C, Lu Y, 2017. Coal Pyrite Microwave Magnetic Strengthening and Electromagnetic Response in Magnetic Separation Desulfurization Process. *International Journal of Mineral Processing*, 168: 136-142.

Atf İçin: Malak Akgün B, Akgün M, 2021. Gürültünün Hasta ve Hemşirelerin Durumluluk Kaygı Düzeyleri Üzerine Etkisinin Karşılaştırılması. İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2621-2631.

To Cite: Malak Akgün B, Akgün M, 2021. Comparison of Noise Effects to State Anxiety Levels of Patients and Nurses. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2621-2631.

Gürültünün Hasta ve Hemşirelerin Durumluluk Kaygı Düzeyleri Üzerine Etkisinin Karşılaştırılması

Bahanur MALAK AKGÜN^{1*}, Mustafa AKGÜN²

ÖZET: Hastanede gürültü hemşireler ve hastalar için önemli bir sorundur. Gürültüye maruz kalmak ruh sağlığı ve performans üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir. Çalışma birleştirilmiş klinikte ses düzeylerini saptamayı, gürültünün hasta ve hemşirelerin durumluluk kaygı düzeyleri üzerine etkisini karşılaştırılmayı amaçlamıştır. Çalışma kesitsel tanımlayıcı araştırma özelliğine uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Rastgele örnekleme yöntemiyle seçilen, çalışmaya katılmaya gönüllü olan 14 hemşire ve 40 hastadan Tanıtıcı Bilgi Formu, Spielberg'in Durumluluk Kaygı-Sürekli Kaygı Envanteri'ni yanıtlamaları istenirken, devlet hastanesinde birleştirilmiş kliniklerin ses düzeyinin ölçümü sabah ve öğleden sonra olmak üzere günde iki defa ve haftada iki gün olarak gerçekleştirilmiştir. Hastaların %65'i ve hemşirelerin tümü klinikte gürültü olduğunu, hastaların %48'i ve hemşirelerin %71'i gürültünün kendilerinde baş ağrısına neden olduğunu belirtmiş, hasta ve hemşirelerin çoğunluğu gürültü kaynaklarının insan ve cihaz sesleri olduğunu belirtmiştir. Kliniklerde ses düzeyinin ulusal ve uluslararası standartlarındaki ses düzeylerinin oldukça çok üstünde olduğu saptanmıştır. Hemşirelerin durumluluk kaygı puanı 39.29 ± 5.61 , hastalarınsa 45.4 ± 4.86 'dır. Hasta ve hemşirelerin durumluluk kaygı puanları arasında klinik ses düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > .05$). Koruyucu ruh sağlığı bakımından gürültünün hemşire ve hastalara etkileri araştırılmalı, hastane ses düzeyinin Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği değerlere uygunluğu sağlanmalı ve sağlık kurumlarında gürültü kontrolü sağlanmalıdır. İleriki çalışmalarda, özellikle gürültünün hemşireler ve hastalar için olumsuz ruh sağlığı etkilerinin araştırılması önerilmiştir.

Anahtar kelimeler: Desibel düzeyi, gürültü, anksiyete, hasta, hemşire

Comparison of Noise Effects to State Anxiety Levels of Patients and Nurses

ABSTRACT: Noise is an important problem for nurses and patients in hospitals. To exposure noise to may cause negative effects on psychology and performance. The study was designed to determine decibel levels on the hospital's four unified clinics and compare noise effects to state anxiety levels of patients and nurses. The study was carried out in accordance with the cross-sectional descriptive research feature. Information Form, Spielberger Anxiety Inventory were applied to 40 patients and 14 nurses who are selected by random sampling and are willing to participate in the study. A measurement of the sound level of unified clinics was performed in the morning and after lunch for two days in public hospital. 65% of patients and all of nurses stated that there was noise in the clinic. 48% of patients and 71% of nurses expressed that it caused a headache. The majority of patients and nurses stated that the sources of noise were human and device sounds. The sound levels in the clinics were found to be higher than the sound levels in national and international standards. The state anxiety levels were 39.29 ± 5.61 for nurses and 45.4 ± 4.86 for patients. There was no significant difference between the patient and nurses' state anxiety scores in terms of clinical sound levels ($p > .05$). The sound level of the hospital should be ensured to comply with the values recommended by the World Health Organization. The noise control should be provided in hospitals. It has been suggested to investigate the negative psychological effects of noise in particular for nurses and patients in the other studies.

Keywords: Decibel level, noise, anxiety, patient, nurse

¹Bahanur MALAK AKGÜN ([Orcid ID: 0000-0001-7151-0145](https://orcid.org/0000-0001-7151-0145)), Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Ardahan, Türkiye

²Mustafa AKGÜN ([Orcid ID: 0000-0002-7172-1855](https://orcid.org/0000-0002-7172-1855)), Ardahan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Ardahan, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Bahanur MALAK AKGÜN, e-mail: bahnur_mk@hotmail.com

Makale 1-4 Nisan 2017 tarihlerinde Floransa'da düzenlenen "The 25th European Congress of Psychiatry (EPA 2017)"de E-Poster Bildiri olarak sunulmuştur.

ETİK KURUL ONAYI: Bu makale için Kafkas Üniversitesi Rektörlüğü Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun Tarih: 27.04.2016 Toplantı No 2016/05 ve Karar No: 01 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

GİRİŞ

Gürültü, çevredeki rahatsız edici ya da zararlı bir ses olarak tanımlanmakta (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Çevresel Gürültü Eylem Planı, 2009-2020) ve bir sağlık sorunu nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle, gürültü insan sağlığına tehdit oluşturan ses düzeyleri olarak da tanımlanmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Pope, 2010; Çevresel Gürültü Eylem Planı, 2009-2020). Çünkü düzenli ve sessiz bir fiziksel çevre rahatlık ve huzur vericidir (Güler ve Çobanoğlu, 1994). Uzun süre gürültüye maruz kalmak fiziksel durum, fizyoloji, ruh sağlığı ve performans üzerinde olumsuz etkilere neden olarak sağlığa zararlı olabilmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Çevresel Gürültü Eylem Planı, 2009-2020).

Ortamın hoşluğunu ve sakinliğini yok ederek niteliğini değiştiren, algılamayı olumsuz etkileyen gürültü, özellikle kamu hastanelerinde kaçınılmaz bir şekilde olduğu için hastane ortamında daha da önem arz eden bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Pope, 2010; Vehid ark., 2011; Akan ark., 2012). Bununla birlikte, sağlıklı ve güvenli bir ortamda çalışmak bir insan hakkıdır. Ancak hemşireler çalıştıkları ortamdaki ve mesleklerinin doğasından kaynaklanan sağlık sorunları ile karşılaşabilirler (Parlar, 2008). Bu sağlık sorunlarının kaynaklarından biri de gürültüye maruz kalmaktır (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Parlar, 2008). Bu doğrultuda, sağlıklı ve güvenli iş ortamı ve güvenli istihdam özellikle hemşireler için çok önemlidir. Uluslararası Hemşireler Birliği 2006 ve 2007 temalarını sırasıyla güvenli ortam-güvenli istihdam (International Council of Nurses (ICN) (2006) ve pozitif uygulama-çalışma ortamı (ICN 2007) olarak belirlemiştir. Çalışma yaşamında kalitenin artırılması hasta bakım kalitesinde de artışa yansıtacaktır. Çünkü bireyin hastanede kaldığı süre boyunca fiziksel çevreyle etkileşimi sağlığını yeniden kazanması ve iyileşme süresi açısından önemlidir (Morton ve Fontaine, 2013).

Sonuç olarak, gürültünün insan, toplum ve çevre sağlığına yönelik olumsuz sonuçları vardır (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Hunashal ve Patil, 2012; Çevresel Gürültü Eylem Planı, 2009-2020). Önerilen seviyelerin oldukça üzerindeki ses seviyelerinin hemşireler ve hastaların kaygı düzeylerini etkilediği saptanmıştır (Akan ark., 2012; Terzi ark., 2019). Çalışmalarda özellikle kamu hastanelerinde kaçınılmaz bir şekilde gürültü olduğu belirtilmektedir (Parlar, 2008; Vehid ark., 2011; Akan ark., 2012; Terzi ark., 2019). Günlük gürültü düzeyinin 45-61 desibel (dB(A)) arasında (Vehid ark., 2011) veya 58-62 desibel arasında değiştiği (İncekar ark., 2019), 50 desibel'in altına düşmediği (Camuccio ark., 2019) açıklanmaktadır. Bu nedenle, hemşireler “toplum ve çevre bakımından gürültü kirliliği”; “işçi sağlığı ve iş güvenliği bakımından gürültü kirliliği” olarak iki ana başlıkta bu konuyu ele alarak gerekli araştırmaları yapmalı ve önlemleri almalıdır. Bu doğrultuda, koruyucu ruh sağlığı bakımından çevre kirliliğine neden olan önemli sorunlardan biri olan gürültü kontrolünü gerçekleştirebilmek için hemşirelerin ve çevre mühendislerinin yer aldığı multidisipliner ekip çalışmalarına gerek duyulmaktadır. Literatürde multidisipliner ekip çalışmaları oldukça azdır (Akan ark., 2012; Terzi ark., 2019; Camuccio ark., 2019). Çalışmalar genellikle gürültünün hasta veya hemşire ruh sağlığı üzerine etkilerini değerlendirmektedir (Akan ark., 2012; Hunashal ve Patil, 2012; İncekar ark., 2019; Camuccio ark., 2019). Gürültünün hemşire ve hastaların kaygı düzeyleri üzerine etkilerini aynı çalışmada değerlendiren herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki Devlet Hastanelerinin birleştirilmiş kliniklerinin ses düzeylerini inceleyen bir çalışmaya da ulaşılamamıştır. Bu bağlamda çalışmanın Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan bir Devlet Hastanesi'nin birleştirilmiş kliniklerinin ses düzeylerini incelemesi, bir multidisipliner ekip çalışması olması, gürültünün hemşire ve hastaların kaygı düzeyleri üzerine bir etkisinin olup olmadığını araştırması açısından literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışma, hemşire ve çevre mühendisinin yer aldığı bir ekip çalışması ile klinik ses

düzeylerini saptamayı, gürültünün hasta ve hemşirelerin durumluluk kaygı düzeyleri üzerine etkisini karşılaştırmayı amaçlamaktadır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, kesitsel tanımlayıcı araştırma özelliğine uygun bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan bir Devlet Hastanesi'nde yürütülmüştür. Araştırmanın evrenini 15 Nisan ve 31 Haziran 2016 tarihleri arasında bir devlet hastanesinin yataklı kliniklerinde hizmet veren hemşireler ve tedavi gören hastalar, örneklemini ise; evrenden olasılıksız rastgele örnekleme yöntemi ile seçilen, araştırmaya katılmaya gönüllü olan ve aydınlatılmış onam formunu imzalayan 14 hemşire ve tedavi gören 40 hasta oluşturmuştur. Kliniklerde birer sorumlu ve beş servis hemşiresi olmak üzere toplam 24 hemşirenin çalıştığı belirtilmiştir. Hastanenin birleştirilmiş toplam beş adet yataklı kliniği bulunmaktadır. 5. klinik çocuk hastalıkları, çocuk cerrahisi ve göz hastalıkları servisedir. Yetişkin ve çocuğu birlikte kapsadığı için diğer kliniklerle aynı homojenliğe sahip olmadığı düşünülerek çalışmaya dâhil edilmemiştir. Çalışmada dahiliye, cildiye, göğüs ve enfeksiyon hastalıkları servisi 1. klinik; kardiyoloji, fizik tedavi ve nöroloji servisi 2. klinik; beyin cerrahisi, plastik cerrahi, ortopedi ve travmatoloji, üroloji, kulak burun boğaz servisi 3. klinik; genel cerrahi, göğüs kalp damar cerrahisi, psikiyatri ve tutuklu servisi 4. klinik olarak adlandırılmıştır. Araştırmaya bilinci açık olan ve acil müdahale gerektirmeyen, on sekiz yaş üstü olan hastalar ve birleştirilmiş yataklı kliniklerde çalışan hemşireler alınmıştır. Araştırmanın verileri, "Tanıtıcı Bilgi Formu", "Spielberg'in Durumluluk Kaygı-Sürekli Kaygı Envanteri" ve "Ses Düzeyi Ölçüm Cihazı" aracılığıyla toplanmıştır.

Veri Toplama Araçları

Tanıtıcı bilgi formu

Literatürden yararlanılarak araştırmacılar tarafından hazırlanan bu form, hemşirelerin ve hastaların tanıtıcı verilerinin toplanması amacıyla yaş, eğitim durumu, medeni durum, klinikteki gürültü nedenleri nelerdir, gürültü sizde ne tür rahatsızlıklar yaratıyor gibi sorulardan oluşmaktadır (Akan ark., 2012; Hunashal ve Patil, 2012; Terzi ark., 2019; İncekar ark., 2019; Camuccio ark., 2019).

Spielberg'in durumluluk kaygı-sürekli kaygı envanteri

Spielberger ve ark tarafından geliştirilmiştir. Öner ve Le Compte tarafından 1985 yılında Türk toplumuna uyarlaması yapılmış durumluk ve sürekli kaygı düzeylerini 20 soru ile ayrı ayrı ölçen likert tipi bir ölçektir. Her iki ölçekten elde edilen toplam puan değeri 20-80 arasında değişir. Büyük puan yüksek kaygı seviyesini, küçük puan ise düşük kaygı seviyesini belirtir. Durumluk Kaygı Ölçeği bireyin belirli bir anda ve belirli koşullarda kendini nasıl hissettiğini belirlerken, Sürekli Kaygı Ölçeği bireyin içinde bulunduğu durum ve koşullardan bağımsız olarak, kendini nasıl hissettiğini belirlemektedir. Türkçe formunun madde güvenilirliği korelasyonları, Sürekli Kaygı Ölçeği için .34 il .72; Durumluk Kaygı Ölçeği için ise; .42 ile .85 arasında olduğu belirtilmiştir (Öner ve Compte, 1982). Bu çalışma için ölçeğin Cronbach Alfa katsayısı Durumluk Kaygı Ölçeği için .56 ve Sürekli Kaygı Ölçeği için .55 olarak bulunmuştur.

Ses düzeyi ölçüm cihazı

Akıllı telefon için Android işletim sistemi tercih edilmiştir. Noise Meter uygulaması Google Play Market'ten indirilmiştir (Kahveci ark., 2015; Yurtcan ve Kılıç, 2018). İki gün boyunca sabah 09.00-11.30 saatleri ve öğleden sonra 13.30-16.00 saatleri arasında olmak üzere gün içerisinde iki defa ses ölçümleri yapılmıştır ve sonuçları kaydedilmiştir.

Verilen Toplanması

Hastanenin kliniklerinde ölçek ve tanııcı bilgi formu hasta ve hemşirelere dağıtıldıktan hemen sonra klinik ses düzeyi ölçümü sabah ve öğleden sonra olmak üzere iki gün boyunca gerçekleştirilmiştir. Her klinikte günün belirli saatlerinde hemşire deski önünde ve hasta odalarında ses düzeyi ölçümü yapılmıştır.

Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen verilerin analizinde değişkenlerin normal dağılım göstermediği için Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmiş, Kruskal Wallis H testi ve Spearman Korelasyon testi kullanılmıştır. İstatistik parametreleri ortalama, standart sapma, sayı ve yüzdelik değerleri ile ifade edilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde istatistiksel anlamlılık .05 önem düzeyinde incelenmiş olup SPSS 20 versiyonu kullanılmıştır.

Araştırmanın Etik Yönü

Araştırma öncesi bir üniversitenin Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan yazılı izin (27.04.2016 tarih, 2016/05 sayılı toplantı, 01 karar numarası) ve araştırmaya katılan hasta ve hemşirelerden araştırma ile ilgili açıklama yapılarak yazılı onamları alınmıştır. Araştırmanın yapılabilmesi için ilgili Devlet Hastanesi'nden yazılı izin alınmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, hastaların %30'u 61-70 yaş aralığındadır ve %31'i 71 yaş ve üzeri yaşlardadır. Bu hastaların %45'i kadın, %55'i erkek, %25'i bekar, %75'i evli ve %48'i ilkokul mezunudur. Hastaların %38'i çiftçi olduğunu ve %42'i çalışmadığını belirtmiştir. Hemşirelerin %36'sı 21-25 yaş aralığında, %50'si ise 26-30 yaş aralığındadır. Hemşirelerin %86'sı kadın, %14'ü erkek, %57'si bekar ve %43'ü evlidir. Hemşirelerin %7'si lise mezunu, %21'i ön lisans mezunu ve %72'si lisans mezunu olduğunu belirtmiştir. Şuan çalışılan klinikte çalışma süresi 1 yıl ve altında olanlar örneklemin %50'sini, 2 yıl olanlar %29'unu, 3 yıl olanlar %7'sini ve 4 yıl olanlar %14'ünü oluşturmaktadır.

1. klinik ses düzeyi ölçümlerine göre hemşire deski için minimum ses düzeyi 20.38 dB(A) ve maksimum ses düzeyi 83.38 dB(A) olarak sabah ölçümlerinde saptanmıştır. Hasta odaları için minimum ses düzeyi 11.82 dB(A) olarak ve maksimum ses düzeyi 87.77 dB(A) olarak sabah ölçümlerinde tespit edilmiştir. 1. klinikte bazı hasta odalarının minimum ses düzeylerinin, hemşire deski minimum ses düzeyinden daha yüksek seviyede olduğu saptanmıştır. 1. Klinikte; hemşire deski maksimum ses düzeyinden daha yüksek ses düzeylerine sahip hasta odalarının olduğu saptanmıştır. İki günlük ölçümlerde hemşire deski ses seviyeleri incelendiğinde minimum ses seviyesi 68.82 dB(A) ve maksimum ses seviyesi 82.86 dB(A) olarak bulunmuş ve bu değerler sabah ölçümlerinde tespit edilmiştir. İki günlük ölçümlerde hasta odaları ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde ise minimum ses seviyesi 63.11 dB(A) ve maksimum ses seviyesi 87.68 dB(A) olarak sabah ölçümlerinde saptanmıştır (Tablo 1).

2. klinik ses düzeyi ölçümlerine göre hemşire deski için minimum ses seviyesi 20.29 dB(A) olarak öğleden sonra ve maksimum ses seviyesi 78.93 dB(A) olarak sabah ölçümlerinde saptanmıştır. Hasta odaları için minimum ses seviyesi 8.68 dB(A) olarak sabah ve maksimum ses seviyesi 84.10 dB(A) olarak öğleden sonra ölçümlerinde tespit edilmiştir. 2. klinikte bazı hasta odalarının minimum ses düzeyleri hemşire deski minimum ses düzeyinden daha yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. 2. Klinikte; hemşire deski maksimum ses düzeyinden daha yüksek ses düzeylerine sahip hasta odalarının olduğu saptanmıştır. İki günlük ölçümlerde hemşire deski ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde

minimum ses seviyesi 69.60 dB(A) olarak öğleden sonra ve maksimum ses seviyesi 78.93 dB(A) olarak sabah ölçümlerinde tespit edilmiştir. İki günlük ölçümlerde hasta odaları ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde ise minimum ses seviyesi 8.68 dB(A) olarak sabah ve maksimum ses seviyesi 83.33 dB(A) olarak öğleden sonra ölçümlerinde saptanmıştır (Tablo 1).

3. klinik ses düzeyi ölçümlerine göre hemşire deski için minimum ses seviyesi 25.61 dB(A) olarak öğleden sonra ve maksimum ses seviyesi 89.43 dB(A) olarak sabah ölçümlerinde saptanmıştır. Hasta odaları için minimum ses seviyesi 16.04 dB(A) olarak sabah ve maksimum ses seviyesi 81.64 dB(A) olarak öğleden sonra ölçümlerinde tespit edilmiştir. 3. klinikte hemşire deski minimum ses düzeylerinin, hasta odaları minimum ses düzeylerinden daha yüksek seviyede olduğu saptanmıştır. 3. Klinikte; hasta odaları maksimum ses düzeylerinin, hemşire deski ses düzeylerinden daha düşük seviyede olduğu saptanmıştır. İki günlük ölçümlerde hemşire deski ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde minimum ses düzeyi 78.74 dB(A) olarak öğleden sonra ve maksimum ses düzeyi 89.43 dB(A) olarak sabah ölçümlerinde tespit edilmiştir. İki günlük ölçümlerde hasta odaları ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde ise minimum ses düzeyi 62.07 dB(A) olarak sabah ve maksimum ses düzeyi 76.64 dB(A) olarak öğleden sonra ölçümlerinde saptanmıştır (Tablo 1).

4. klinik ses düzeyi ölçümlerine göre hemşire deski için minimum ses seviyesi 21.29 dB(A) olarak öğleden sonra ve maksimum ses düzeyi 93.12 dB(A) olarak sabah ölçümlerinde saptanmıştır. Hasta odaları için minimum ses seviyesi 4.74 dB(A) olarak sabah ve maksimum ses seviyesi 80.98 dB(A) olarak öğleden sonra ölçümlerinde tespit edilmiştir. 4. klinikte hemşire deski minimum ses düzeylerinin hasta odaları minimum ses düzeylerinden daha yüksek seviyede olduğu saptanmıştır. 4. Klinikte; hasta odaları maksimum ses düzeylerinin, hemşire deski ses düzeylerinden daha düşük seviyede olduğu saptanmıştır. Ancak 1. gün öğleden sonraki ses düzeyi ölçümünde bir odanın maksimum ses seviyesi, hemşire deski maksimum ses seviyesinden daha yüksek bir değere ulaşmıştır. İki günlük ölçümlerde hemşire deski ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde minimum ses düzeyi 79.94 dB(A) olarak ve maksimum ses düzeyi 94.29 dB(A) olarak öğleden sonra ölçümlerinde tespit edilmiştir. İki günlük ölçümlerde hasta odaları ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde ise minimum ses düzeyi 68.09 dB(A) olarak sabah ve maksimum ses düzeyi ortalaması 80.73 dB(A) olarak öğleden sonra ölçümlerinde saptanmıştır (Tablo 1).

İki günlük ölçümlerde hemşire deski ve hasta odaları ses düzeyi ortalamaları ulusal (Resmi Gazete, 2010; Resmi Gazete, 2013) ve uluslararası (Environmental Protection Agency, 1974; Berglund ark., 1999) standartlarındaki ses düzeylerinin oldukça çok üstündedir. 1., 2. ve 4. kliniklerde hemşire deski maksimum ses düzeyinden ve ortalama ses düzeyinden daha yüksek ses düzeylerine sahip hasta odaları mevcuttur. Oysa kliniklerin en yoğun olduğu birim hemşire deski olmasına rağmen bu sonuçların alınması, gürültü haritalarının ve gürültü kontrolü için stratejilerin oluşturulmasında önemli bir veridir. Bu durum refakatçılardan, hasta ziyaretçilerinden, hasta odasına bakım için gelen hemşirelerin veya oda temizliğine gelen hizmetlilerin çıkarttıkları gürültüden kaynaklanabilir. Ölçümler sırasında gerçekleştirdiğimiz gözlemlerimiz de bu doğrultudadır. Bu ölçüm sonuçları literatürle uyumludur. Çalışmalarda hastanelerin yetersiz akustiğe ve yoğun gürültülü ortamlara sahip oldukları saptanmıştır (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Pope, 2010; Vehid ark., 2011; Akan ark., 2012; Lacerda ark., 2013; Alidosti ark., 2016). Hastaneler, sessiz ve sakin mekan imajına sahip olmasına rağmen (Richardson ark., 2009; Li ark., 2011) çalışmalarda özellikle hasta bekleme odasında, hasta kayıt deskinde, hemşire ve hasta odalarında (Pope, 2010; Li ark., 2011; Gültekin ark., 2013) gürültünün iş üretimini ve hasta bakımını olumsuz etkileyecek düzeyde yüksek olduğu belirtilmiştir (Richardson ark., 2009; Pope, 2010; Li ark., 2011). Hastanelerin ortalama ses düzeylerinin; hasta odalarında 67 dB(A), hemşire istasyonlarında 63

dB(A) olduğu ve hemşirelik ünitelerinde bazen ses düzeyinin 102 dB(A) (Pope, 2010) ve 96 dB(A) (Richardson ark., 2009) gibi değerlere ulaştığı bildirilmektedir.

Tablo 1. Kliniklere ait sabah ve öğleden sonraki hemşire deski ve hasta odalarının minimum- maksimum ses düzeyleri (dB(A))

Ölçüm Yapılan Klinik		1. Gün						2. Gün					
		Max	Sabah Min	Ort.	Max	Öğleden Sonra Min	Ort.	Max	Sabah Min	Ort.	Max	Öğleden Sonra Min	Ort.
1. Klinik	Hemşire Deski	83.38	30.87	82.86	81.20	31.72	77.84	69.40	20.38	68.82	79.09	42.83	78.99
	Hasta Odası	68.91	24.86	66.82	83.42	29.26	81.02	73.83	27.39	73.25	74.28	13.20	74.28
	Hasta Odası	67.13	11.82	63.11	85.77	24.85	83.93	-	-	-	83.97	21.46	82.59
	Hasta Odası	87.77	58.35	87.68	74.27	30.97	73.75	-	-	-	74.30	42.48	73.90
	Hasta Odası	87.59	58.63	87.58	72.94	29.63	70.70	-	-	-	-	-	-
	Hasta Odası	69.55	36.47	64.34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. Klinik	Hemşire Deski	-	-	-	78.60	30.41	78.53	78.93	30.76	78.89	69.60	20.29	69.60
	Hasta Odası	79.92	38.67	71.90	84.10	26.58	83.32	79.23	8.68	78.55	83.33	19.14	83.33
	Hasta Odası	66.33	37.90	61.14	80.86	22.70	78.76	74.26	24.92	74.15	81.15	27.99	80.97
	Hasta Odası	73.42	41.11	71.32	69.75	20.00	67.73	74.08	25.47	74.08	74.97	18.04	74.70
	Hasta Odası	-	-	-	68.75	28.88	67.10	72.66	29.48	72.21	-	-	-
	Hasta Odası	-	-	-	72.80	31.60	71.77	74.43	18.35	74.04	-	-	-
3. Klinik	Hemşire Deski	89.43	58.91	89.43	86.46	62.56	86.46	81.44	34.92	80.19	82.36	25.61	78.74
	Hasta Odası	73.85	28.60	73.39	70.97	40.21	62.07	72.64	30.31	71.56	74.34	21.47	74.23
	Hasta Odası	76.68	16.04	76.64	62.07	29.32	62.07	66.58	27.76	66.58	74.31	25.53	74.31
	Hasta Odası	70.75	25.79	69.90	67.61	24.26	66.91	-	-	-	74.09	22.60	73.80
	Hasta Odası	76.18	24.36	76.10	81.64	26.13	74.68	-	-	-	74.08	20.23	73.99
	Hasta Odası	72.59	21.41	70.55	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4. Klinik	Hemşire Deski	93.12	56.42	93.11	80.36	21.29	79.94	91.25	59.87	90.98	94.35	61.30	94.29
	Hasta Odası	74.23	6.38	73.55	73.74	34.75	73.65	70.31	12.22	69.35	74.10	17.29	77.10
	Hasta Odası	68.24	4.74	68.09	78.58	10.15	77.50	-	-	-	70.73	11.08	70.71
	Hasta Odası	70.35	7.21	69.77	80.98	13.52	80.73	-	-	-	75.59	20.18	73.27
	Hasta Odası	-	-	-	79.11	32.52	78.89	-	-	-	73.35	23.83	72.98
	Hasta Odası	-	-	-	79.71	40.85	78.60	-	-	-	-	-	-

Kliniklerde hemşire deski ve hasta odaları için minimum ve maksimum ses değerleri arasında oldukça büyük farklar saptanmıştır. Oysa bir gürültü ne kadar anlamsız, ne kadar şiddetli, düzensiz ve ani olursa o kadar rahatsız edicidir. Ani gürültü insanlarda korku yaratmakta ve gürültünün kalkması ile birlikte bu durum zamanla ortadan kalkmaktadır. Çalışma hayatında yüksek düzeyli ve ani veya kesikli gürültüler iş verimini etkileyerek, işin zamanında ve doğru olarak yapılmasını engellemektedir. Dikkat gerektiren işlerde dikkatin dağılması ve algılama zamanının uzaması ve tekrar dikkati toplamak için daha büyük bir gayretin gösterilmesi gerekmektedir. Aralıklı ve ani gürültü kişide dikkat azalmasına, uyku düzeninin bozulmasına, görme keskinliğinde azalmaya neden olabilmektedir (Özkan ve Boyacıoğlu, 2018). Florence Nightingale de aralıklı ani gürültünün özellikle hasta yeni uykuya daldığı sırada sürekli gürültüden daha korkutucu olduğunu ifade etmiştir. Bu nedenle hemşirenin sessiz yürümesi, fısıltıyla konuşması gereklidir (Dunphy, 2010). Hemşireler hastanede çalışma saatlerinin tümünü klinikte geçirdikleri için gürültünün önlenmesinde birincil sorumluluğa sahiptirler. Bu önlem hem kendi iş güvenlikleri hem de hasta güvenliği ve hasta bakım kalitesi açısından önem arz etmektedir. İş sağlığı ve güvenliği bakımından Çalışanların Gürültü İle İlgili Risklerden Korunmalarına Dair Yönetmelikte (Resmi Gazete, 2013) haftalık gürültü maruziyet düzeyi 87 dB(A)'dır. Gürültünün sağlık için zararlı olduğu değer 8 saatlik çalışma süresi için 85-90 dB(A) olarak kabul edilmiştir (Sirel, 1988). Özellikle hastaneler gibi yerlerde insan trafiğinin yoğun ve teknolojik araç, gereçlerin kullanımının fazla olması nedeniyle gürültülü ortamlar olduğu için hastanelerde çalışan kişilerin günde ortalama 87 dB(A) gürültüye maruz kaldıkları belirtilmiştir (Lacerda ark., 2013). Bu bağlamda bu çalışmada da

gözlemleneceği gibi hemşireler gürültünün sağlık üzerindeki olumsuz sonuçları açısından risk grubudurlar.

Hemşirelerin ve hastaların çoğunluğu tanıtıcı bilgi formlarında klinikteki olumsuz koşulun gürültü olduğunu belirtmişler, gürültü kaynağını insan ve cihaz sesleri olarak yanıtlamışlardır. Hem hemşireler hem hastalar sözel olarak temizlik makinası ve yemek taşıma arabasının çıkardıkları sesin en rahatsızlık verici gürültü kaynağı olduğunu belirtmişlerdir. Gözlemlerimizde de temizlik makinası çalıştırıldığında maksimum ses ölçüm değerlerine ulaşılmıştır. Bu hasta ve hemşire yanıtları literatürle uyumludur. Telefon zil sesi ve konuşmaları, koridorda konuşanların gürültüsü ile tuvaletlerden sızan suyun sesi en sık şikâyet edilen gürültü kaynakları olarak belirtilmiştir (Vehid ark., 2011). İnsanlar alçak sesle konuştuklarında 50-60 dB(A) olan ses seviyeleri, yüksek sesle konuştuklarında 70-80 dB(A) olabilmektedir (Sirel, 1988). Bu nedenle kliniklerde alçak sesle konuşmak, kullanılan aletlerle ilgili çeşitli önlemlerin alınması gürültü kontrolünde oldukça önemli bir strateji oluşturacaktır. Bir çalışmada ise 23 hastanın %65.2'si klinikteki gürültüyü rahatsız edici bulmamıştır. Bu çalışmada psikiyatri kliniğindeki gürültünün ana kaynağı sözlü iletişim ve ayrıca ilişkilere dayalı bakım faaliyetlerinden kaynaklanan akustik basınçtır. Rahatsız edici olarak algılanan diğer gürültü kaynaklarıysa, kapıların açılıp kapatılması ve giriş kapı zillerinin çalmasından kaynaklanmıştır (Camuccio ark., 2019).

Hemşire deski ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde maksimum ses düzeyi ortalama değeri 1., 2. ve 3. klinikte sabah, 4. klinikte öğleden sonra ölçümlerinde tespit edilmiştir. Hasta odaları ses düzeyi ortalamaları incelendiğinde ise maksimum ses düzeyi ortalama değeri 1. klinikte sabah ölçümlerinde, 2., 3., ve 4. klinikte öğleden sonra ölçümlerinde saptanmıştır. Sabah saatleri klinikte temizliğin gerçekleştirildiği, kliniğe yatış ve taburcuların olduğu, tedavinin ve bakımın uygulandığı saatler olması nedeniyle hemşire deskinde genellikle sabah saatlerinde ses düzeyi ortalama desibel değerinin maksimum değere ulaşması olağandır. Hasta odalarında ise genellikle ses seviyesi maksimum değeri öğleden sonra yani ziyaretçilerin hasta odalarında buldukları saatlerdedir. Bu değerler ulusal (Resmi Gazete, 2010; Resmi Gazete, 2013) ve uluslararası (Environmental Protection Agency, 1974; Berglund ark., 1999) standartlarındaki ses düzeylerinin oldukça çok üstündedir. Bunun için maksimum ses düzeyinin hangi saatlerde, hangi alanlarda ve gürültü kaynağının neler olduğunu bilmek gürültü kontrolünde hemşirelere bir strateji oluşturmalarında önemli bir yol haritası oluşturacaktır. Literatürdeki çalışmalarda da bu strateji kullanılmıştır. Örneğin nöroloji ve kulak burun boğaz ünitelerinde sabah ilk saatte ses düzeyinin diğer birimlere göre düşük, gün içerisinde en yüksek ses düzeyinin fizik tedavi ve rehabilitasyon ünitesinde 61 dB(A) olduğu saptanmıştır (Vehid ark., 2011). Gül ve ark. (2013) ise çalışmalarında göğüs hastalıkları servislerinin hasta odalarında ve yoğun bakım kliniğinde gürültü seviyesinin olması gereken sınırların üzerinde olduğunu belirlemiştir. Camuccio ve ark. (2019) psikiyatri servisinde ortalama ses seviyesinin sabah 62.5 dB(A), öğleden sonra 55.8 dB(A) ve gece 51.5 dB(A) olduğunu saptamıştır.

Özellikle hastane personelinin çıkarttığı sesler ana gürültü kaynağı olduğu için hastanedeki gürültünün yapay olduğu bu nedenle, öncelikle hastane gürültü kontrolü yönetmeliğine ve sonrasında personelin eğitimine gereksinim duyulduğu belirtilmiştir (Richardson ark., 2009; Pope, 2010; Vehid ark., 2011; Gül ark., 2013; Özkan ve Boyacıoğlu, 2018). Gürültünün azaltılmasında eğitim yönteminin etkili olduğu, ortam gürültü düzeyini azalttığı, sağlık çalışanlarının bilgi düzeyini arttırdığı ve çalışanların davranışlarını olumlu yönde etkilediği ayrıca gürültü gözlem formunun güvenilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır (İncekar ark., 2019). Bir çalışmada personel konuşmalarının ve yemek arabalarının tekerleklerinin gürültüye neden olduğu tespit edildiği için yemek arabalarının tekerlekleri değiştirilmiş ve personeller konu ile ilgili olarak uyarılmıştır (Gül ark., 2013). Gürültü kaynağını kesmek ya da azaltmak için anons hoparlörlerini, radyo ve televizyon seslerini kısmak, gürültü yapan makinelere

susturucu takmak, gürültüye neden olan parçaları yenilemek, periyodik bakım ve yağlamaları zamanında ve düzenli yapmak, alınan önlemlere rağmen gürültü istenen düzeye düşürülemezse gürültü çıkaran ekipmanları ayırarak özel yerlere koymak, binanın içindeki döşeme ve duvarları ses emici özellikteki malzemelerle kaplamak alınabilecek önlemler arasındadır (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Hintzsche ark., 2008; Camuccio 2019; Çevresel Gürültü Eylem Planı, 2009-2020).

Bulgulara göre, hemşirelerin durumluluk kaygı düzeyi 39.29 ± 5.61 , sürekli kaygı düzeyi 45.36 ± 4.53 'dir. Hastaların ise, durumluluk kaygı düzeyi 45.4 ± 4.86 , sürekli kaygı düzeyi 51.25 ± 5.83 'dir. Gürültünün kendilerinde oluşturduğu rahatsızlıkları baş ağrısı (hemşireler %71, hastalar %48 oranlarında), sinirlilik (hemşireler %50, hastalar %43 oranlarında) ve anlamada güçlük (hemşireler %50 oranında) olarak belirtmişlerdir. Bu soruya hemşire ve hastalar birden fazla yanıt vermiştir. Hasta ve hemşirelerin durumluluk kaygı puanları arasında klinik ses düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (sırasıyla $\chi^2 = 6.03$, $\chi^2 = 5.37$; $p > .05$).

Hemşire ve hastaların klinik ses düzeyleri ile durumluluk kaygı puanları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > .05$). Hemşirelerin durumluluk kaygı puanları arasında hemşire deski ses düzeyi ölçümleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($\chi^2 = 11.65$; $p > .05$). Hastaların durumluluk kaygı puanları arasında kliniklerdeki hasta odaları ses düzeyi ölçümleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (sırasıyla $\chi^2 = 10.42$, $\chi^2 = 8.59$, $\chi^2 = 9.86$, $\chi^2 = 5.67$; $p > .05$).

Gürültü kontrolü çalışmaları içerisinde, işçi sağlığı ve iş güvenliği bakımından gürültünün hemşirelere olumsuz etkilerini azaltmaya yönelik çok fazla araştırmaya ulaşılamamıştır (Gül ark., 2013) fakat hastalar açısından gürültünün olumsuz etkilerini azaltılmaya yönelik gürültü kontrolü ile ilgili birçok araştırmaya ulaşılmıştır (Hintzsche ark., 2008; Richardson ark., 2009; Li ark., 2011). Hastalar gürültünün kendilerinde fiziksel ve ruh sağlığı olarak rahatsızlıklar oluşturduğunu belirtmelerine rağmen kaygı düzeylerine gürültünün bir etkisinin olmadığı bulgularda saptanmıştır. Hatta sürekli kaygı düzeyleri durumluluk kaygı düzeylerinden daha yüksektir. Hastanede yatışlarının olduğu dönemde daha düşük düzey kaygıya sahiptirler. Hastaların durumluluk kaygı puanları arasında klinik ses düzeyleri açısından anlamlı fark yoktur. Hastaların durumluluk kaygı puanları arasında kliniklerdeki hasta odaları ses düzeyi ölçümleri açısından da anlamlı bir fark yoktur. Hastaların klinik ses düzeyleri ile durumluluk kaygı puanları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Literatürde hastane ortamının hem olumlu hem olumsuz uyarılarının hastaların davranışlarını etkileyebildiği ileri sürülmektedir (Morton ve Fontaine, 2013; Cunha ve Silva, 2015; Shepherd ark., 2015; Stansfeld, 2015). Bununla birlikte, düzenli ve sessiz bir fiziksel çevre rahatlık ve huzur vericidir (Güler ve Çobanoğlu, 1994). Oysa gürültünün çevredeki rahatsız edici ya da zararlı bir ses ya da bir sağlık sorunu nedeni olması bakımından insan sağlığına tehdit oluşturan ses düzeyleri olduğu açıklanmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Resmi Gazete, 2013; Gül ark., 2013; Çevresel Gürültü Eylem Planı, 2009-2020). Eylem ve iletişimi engelleyen ses, strese neden olan bir rahatsızlık, kızgınlık hissi yaratır. Çalışmalarda gürültünün karşılıklı konuşma ve sosyal etkileşimde bozulmaya (Tsiou ark., 2008) neden olduğu, yaşam kalitesini etkilediği ve anksiyete gibi ciddi ruh sağlığı semptomlarına yol açtığı (Akan ark., 2012; Stansfeld, 2015), stres (Hunashal ve Patil, 2012), depresyon (Hunashal ve Patil, 2012; Akan ark., 2012), ve deliryuma (Morton ve Fontaine, 2013) neden olduğu belirtilmiştir.

Hastane ortamında, gürültünün hastalar için olduğu kadar sağlık çalışanları için de olumsuz ruh sağlığı etkileri vardır, bunlardan biri de tükenmişlik riskidir (Alidosti ark., 2016). Gürültünün hemşirelerde anksiyeteye ve depresyona (Lacerda ark., 2013; Özkan ve Boyacıoğlu, 2018) neden olduğu belirtilmiştir. Önerilen seviyelerin oldukça üzerinde ses seviyelerinin olduğu kliniklerde hemşirelerin iş tatminini ve kaygı düzeylerini etkiler (Terzi ark., 2019). Gürültünün ruh sağlığı üzerindeki etkileri

arasında davranış bozuklukları, öfkelenme, sıkılma, rahatsızlık hissi, alınganlık, merak, uykusuzluk, geç yatma ve sinirlilik (Güler ve Çobanoğlu, 1994; Tsiou ark., 2008; Özkan ve Boyacıoğlu, 2018) yer alabilir. Gürültü karakter değişikliklerine neden olabilir, kişileri huzursuz edebilir ve eğilimi olanlarda sorunların ve bunaltıların ağırlaşmasına yol açabilir. Ek olarak, gürültü çalışma etkinliğini, problem çözme yeteneğini, okuma, anlama, öğrenme düzeyini azaltabilir, sözel iletişimi ve düşünmeyi engelleyebilir (Tsiou ark., 2008). Bu doğrultuda, hemşireler için sağlıklı ve güvenli iş ortamı ve güvenli istihdamında özellikle gürültüsüz ortamda çalışmak çok önemlidir. Çalışma yaşamında kalitenin artırılması hasta bakım kalitesinde de artışa yansiyacaktır. Çünkü bireyin hastanede kaldığı süre boyunca fiziksel çevreyle etkileşimi sağlığını yeniden kazanması ve iyileşme süresi açısından önemlidir (Morton ve Fontaine, 2013). Bu çalışmada hasta ve hemşirelerin kaygı düzeylerine gürültünün bir etkisinin olmadığını tespit etmemiz örneklem büyüklüğünden veya klinik çalışma ve yatış sürelerinden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Çalışmada kliniklerde ses düzeyinin ulusal ve uluslararası standartlarındaki ses düzeylerinin oldukça çok üstünde olduğu, gürültü kaynaklarının neler olduğu tespit edilmiştir. Ancak gürültünün hasta ve hemşirelerin anksiyete düzeylerine bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Hemşirelerin “toplum ve çevre bakımından gürültü kirliliği”; “işçi sağlığı ve iş güvenliği bakımından gürültü kirliliği” olarak iki ana başlıkta bu konuyu ele alarak gerekli araştırmaları yapmaları ve önlemleri almaları önerilmiştir. Bu doğrultuda, koruyucu ruh sağlığı bakımından çevre kirliliğine neden olan önemli sorunlardan biri olan gürültü kontrolünü gerçekleştirebilmek için hemşirelerin ve çevre mühendislerinin yer aldığı multidisipliner ekip çalışmalarına gerek duyulmaktadır.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığı beyan olunur.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Alidosti M, Heydarabadi AB, Baboli Z, Nazarbigi H, Mobasheri M, 2016. Association Between Job Burnout And Noise Pollution Among Nurses In Behbahan City, Iran. *Journal of Fundamentals of Mental Health*, 18: 103-108.
- Berglund B, Lindvall T, Schwela DH, 1999. *Guidelines For Community Noise Geneva: World Health Organization*. <http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/a68672.pdf>. (Erişim Tarihi: 18.01.2016).
- Camuccio CA, Sanavia M, Cutrone F, Marella I, Gregio M, Cabbia C, Cocchio S, Baldo V, 2019. Noise Levels In An Acute Psychiatric Unit: An Exploratory Observational Study. *Issues Ment Health Nursing*, 40 (6): 493-502.
- Cunha M, Silva N, 2015. Hospital Noise And Patients' Wellbeing, *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 171: 246-251.
- Çevresel Gürültü Eylem Planı, 2009-2020. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı. Ankara-Türkiye.
- Dunphy LM, 2010. *Nursing Theories Nursing Practice* (Parker ME, Smith MC. Ed.). Davis Company, s.35-54, Philadelphia-USA.
- Environmental Protection Agency, 1974. *Information On Levels Of Environmental Noise Requisite To Protect Public Health And Welfare With An Adequate Margin Of Safety*. <http://www.nonoise.org/library/levels/levels.htm>. (Erişim Tarihi: 18.01.2016).

- Gül G, Bol P, Erbaycu AE, 2013. Hasta Ve Çalışan Güvenliğinde Risk Yönetimi: Bir Eğitim Araştırma Hastanesinde Yapılan Risk Analizi Ve İyileştirme. Sağlıkta Performans ve Kalite Dergisi, 5 (1): 1-16.
- Güler Ç, Çobanoğlu Z, 1994. Gürültü. Aydoğdu Ofset, 1s.1-39, Ankara-Türkiye.
- Gültekin E, Yener M, Develioğlu ÖN, Köleli H, Külekçi M, 2013. Noise Pollution In Biochemistry Laboratories Of Different Hospital In Istanbul/Turkey. Turkish Archives of Otorhinolaryngology, 51: 67-69.
- Hintzsche M, Jäcker-Cüppers M, Kühne R, Marohn HD, Schade L, 2008. Gürültü Azaltım Önlemleri El Kitabı. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı, Ankara-Türkiye.
- Hunashal RB, Patil YB, 2012. Assessment Of Noise Pollution Indices In The City Of Kolhapur, India. Procedia Social and Behavioral Sciences, 37: 448-457.
- International Council of Nurses (ICN), 2006. Occupational Health And Safety For Nurses. <http://www.icn.ch/indkit2006.pdf>. (Erişim Tarihi: 15.01.2016).
- International Council of Nurses (ICN), 2007. Positive Practice Environments: Quality Workplaces=Quality Patient Care. <http://www.icn.ch/images/stories/documents/publications/ind/indkit2007.pdf>. (Erişim Tarihi: 15.01.2016).
- İncekar MÇ, Çeçen E, Balcı S, Mutlu B, Öğüt NU, 2019. Hamilçikan Ş, The Effect Of Education In Reducing Noise On Health Personnels' Knowledge Level And Behavioral Change. Türk Yoğun Bakım Dergisi, 17: 31-7. Doi: 10.4274/tybd.galenos.2018.84856
- Kahveci AY, Alemdar H, Ersoy C, 2015. Çevresel Ve Mobil Algılama İle Uyku Kalitesi Takibi. 23rd Signal Processing and Communications Applications Conference, 16-19 Mayıs, Malatya.
- Lacerda Costa G, Moreira de Lacerda AB, Marques J, 2013. Noise On The Hospital Setting: Impact On Nursing Professionals' Health. Revista CEFAC, 15: 642-652.
- Li SY, Wang TJ, Wu SFV, Liang SY, Tung HH, 2011. Efficacy Of Controlling Night-Time Noise And Activities To Improve Patients' Sleep Quality In A Surgical Intensive Care Unit. Journal of Clinical Nursing, 20: 396-407.
- Morton GP, Fontaine DK, 2013. Critical Care Nursing: A Holistic Approach. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia-USA.
- Noise Problem In The East Region Of Turkey. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 19 (2): 75-81.
- Öner N, Le Compte A, 1982. Süreksiz Durumluluk/Sürekli Kaygı Envanteri El Kitabı. İstanbul Boğaziçi Üniversitesi Yayınları 1, s.2-7, İstanbul-Türkiye.
- Özkan S, Boyacıoğlu N, 2018. Yoğun Bakım Hastalarında Gürültünün Etkisi. Hemşirelik Bilimi Dergisi, 1 (1): 27-32.
- Parlar S, 2008. Sağlık Çalışanlarında Göz Ardı Edilen Bir Durum: Sağlıklı Çalışma Ortamı. TAF Preventive Medicine Bulletin, 7 (6): 547-554.
- Pope D, 2010. Decibel Levels And Noise Generators On Four Medical/Surgical Nursing Units. Journal of Clinical Nursing, 19: 2463-2470.
- Resmî Gazete, (2013), Çalışanların Gürültü İle İlgili Risklerden Korunmalarına Dair Yönetmelik. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/07/20130728-11.htm>. (Erişim Tarihi: 18.01.2016).
- Resmî Gazete, 2016. Çevresel Gürültünün Değerlendirilmesi Ve Yönetimi Yönetmeliği. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/06/20100604-5.htm>. (Erişim Tarihi: 18.01.2016).
- Richardson A, Thompson A, Coghill E, Chambers I, Turnock C, 2009. Development And Implementation Of A Noise Reduction Intervention Programme: A Pre- And Postaudit Of Three Hospital Wards. Journal of Clinical Nursing, 18: 3316-3324.

- Shepherd D, Heinonen-Guzejev M, Hautus MJ, Heikkilä K, 2015. Elucidating The Relationship Between Noise Sensitivity And Personality. *Noise Health*, 17 (76): 165.
- Sirel Ş, 1988. Gürültü. Yapı Fiziği Uzmanlık Enstitüsü. <http://www.yfu.com/kitapciklar/gurultu.pdf>. (Erişim Tarihi: 18.01.2016).
- Stansfeld SA, 2015. Noise Effects On Health In The Context Of Air Pollution Exposure. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12 (10): 12735–60.
- Terzi B, Azizoğlu F, Polat Ş, Kaya N, İşsever H, 2019. The Effects Of Noise Levels On Nurses In Intensive Care Units. *Nursing In Critical Care*, 24 (5): 299-305.
- Tsiou C, Efthymiatis G, Katostaras T, 2008. Noise In The Operating Rooms Of Greek Hospitals. *The Journal Of The Acoustical Society of America*, 123: 757-65.
- Vehid S, Erginöz E, Yurtseven E, Çetin E, Köksal S, Kaypmaz A, 2011. Hastane Ortamı Gürültü Düzeyi. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 11 (4): 409-414.
- Yurtcan Y, Kılıç BG, 2018. Speech Recognition On Mobile Devices In Noisy Environments. 26th Signal Processing and Communications Applications Conference, 2-5 Mayıs, İzmir.

Atf İçin: Kuru-Kaçmazoğlu E, 2021. Kalsiyum Aljinatta Tutuklanmış *Paracoccus denitrificans* ile Sabit Yatak Biyoreaktörde İçme Sularından Nitrat Giderimi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2632-2644.

To Cite: Kuru-Kaçmazoğlu E, 2021. Nitrate Removal from Drinking Water by Calcium Alginate Immobilized *Paracoccus denitrificans* in a Packed Bed Bioreactor. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2632-2644.

Kalsiyum Aljinatta Tutuklanmış *Paracoccus denitrificans* ile Sabit Yatak Biyoreaktörde İçme Sularından Nitrat Giderimi

Emine KURU KAÇMAZOĞLU^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, kalsiyum aljinatta tutuklanmış *Paracoccus denitrificans* hücreleri ile sabit yataklı biyofilm reaktörde nitrat giderimi incelenmiştir. Bu amaçla, besleme çözeltisinin nitrat içeriği ve akış hızının biyolojik denitrifikasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu inceleme sonucunda, reaktör çıkışındaki ürün suyun nitrat derişimi, 150 mL h⁻¹'lik akış hızına kadar Dünya Sağlık Örgütü ve TS-266 tarafından izin verilen standartların altında bulunmuştur. Maksimum reaktör verimliliği ve 31.53 mg L⁻¹ h⁻¹ olarak 150 mL h⁻¹'lik besleme çözeltisi akış hızında elde edilmiştir. Bu değer için hidrolik alıkonma süresi 30 dakikadır. Besleme çözeltisi nitrat içeriği 250 mg L⁻¹'ye kadar, çıkış suyundaki nitrat derişimi standartların altında bulunmuştur. Maksimum nitrat giderme hızı ve reaktör verimliliği 397.50 mg L⁻¹ h⁻¹'lik yükleme hızında sırasıyla 342.06 ve 30.70 mg L⁻¹ h⁻¹ olarak elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik nitrat giderimi, dolgu yataklı biyoreaktör, immobilizasyon, kalsiyum aljinat.

Nitrate Removal from Drinking Water by Calcium Alginate Immobilized *Paracoccus denitrificans* in a Packed Bed Bioreactor

ABSTRACT: In this study, nitrate removal was investigated in a packed bed bioreactor with *Paracoccus denitrificans* cells immobilized in calcium alginate. For this purpose, the effects of nitrate content and flow rate of the feed solution on biological denitrification were investigated. As a result of this examination, the nitrate concentration of the product water at the reactor outlet was found below the standards allowed by the World Health Organization and TS-266 up to a flow rate of 150 mL h⁻¹. Maximum reactor efficiency was obtained as 31.53 mg L⁻¹ h⁻¹ at a feed solution flow rate of 150 mL h⁻¹. The hydraulic retention time for this value is 30 minutes. The nitrate content of the feed solution was up to 250 mg L⁻¹, and the nitrate concentration in the effluent was below the standards. Maximum nitrate removal rate and reactor efficiency were found as 342.06 and 30.70 mg L⁻¹ h⁻¹ at a loading rate of 397.50 mg L⁻¹ h⁻¹, respectively.

Keywords: Biological nitrate removal, packed bed bioreactor, immobilization, calcium alginate.

¹ Emine KURU KAÇMAZOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-9718-6790), İnönü Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Malatya, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Emine KURU KAÇMAZOĞLU, e-mail: emine.kacmazoglu@inonu.edu.tr

Bu çalışma yazarın Doktora tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Organizmaların yapısında yer alan azot, hayati öneme sahip temel elementlerden biri olup, artan insan nüfusunun beslenme gereksinimini karşılamak için başta tarımsal üretim olmak üzere çeşitli etkinliklerde azot ve azotlu bileşikler sıkça kullanılmaktadır. Evsel atıksuların yanısıra mezbaha, alkol, şeker, tekstil gibi çeşitli endüstriyel atıksuların alıcı ortamlara deşarj edilmesi, tarım arazilerinde bilinçsiz gübre kullanımı, meraların işlenebilir arazilere dönüştürülmesi gibi etkenler su kütlelerindeki azotlu bileşiklerin miktarını artıran başlıca etkinliklerdir. Su kütlelerinde bu bileşiklerin artması ise ötrofikasyon ve alg patlaması, sağlık sorunları gibi birçok önemli çevresel sorunun ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Chen ve Lin, 1993; Kapoor ve Viraraghavan, 1997; Conley ve ark., 2009; Wang ve Chu, 2016).

İçme sularında özellikle de yeraltı sularında kirliliğe yol açan azotlu bileşiklerin en önemlisi nitrat azotudur. Yüksek oranda nitrat içeren suların tüketilmesi, methemoglobinemia (mavi bebek sendromu), nitrozamin ve benzeri kanserojen bileşiklerin oluşması gibi bir dizi ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Uslu ve Türkmen, 1987; Crespi ve Ramazzoth, 1991; Dourson ve ark., 1991; Shrimali ve Singh, 2001; Erkekoğlu ve Baydar, 2010; Sadler ve ark., 2016; Wang ve Chu, 2016). Bu nedenle su arıtımında azot giderimi büyük önem taşımakta olup, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı (USEPA) ve Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından çıkarılan yönetmeliklerde, içme sularındaki nitrat içeriğinin sınır değerini 50 mg NO₃ L⁻¹ olarak tanımlanmıştır (Mateju ve ark., 1992; Anonim, 2016; Anonymous, 2016; Anonymous, 2017a; Anonymous, 2018).

Nitratın içme sularından uzaklaştırılması için farklı performans ve maliyet seviyelerine sahip çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler mevcuttur (Gayle ve ark., 1989; Dahab, 1991; Demircioğlu, 1996; Nuhuğlu, 1996; Kapoor ve Viraraghavan, 1997; Bucco ve ark., 2014). Diğer yöntemlere göre biyolojik denitrifikasyonun, daha ekonomik, uygulaması kolay, çevreye duyarlı ve çok yönlü bir yaklaşım olması nedeniyle, su ve atıksuların arıtımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Üstelik denitrifikasyon prosesi, atıksu arıtımında bir ileri atıksu arıtım yöntemi olarak hem nitratın giderilmesini sağlamakta hem de havalandırmanın güç olduğu durumlarda karbon giderimine yardımcı olmaktadır (van Der Hoek ve ark., 1988; Hiscock ve ark., 1991; Rogalla ve ark., 1991; van Der Hoek ve ark., 1992; Dorias ve Bauman, 1994; Orhon ve ark., 1994; McCleaf ve Schroeder, 1995; Ovez ve ark., 2006; Rahimi ve ark., 2020).

Biyolojik denitrifikasyon, bir dizi enzimatik reaksiyon yoluyla nitratın azot gazına indirgenmesi sürecine denir. Birçok bakteri iyonik azot oksitleri (NO₃⁻, NO₂⁻) gaz halindeki ürünlere (NO, N₂O ve N₂) indirgeyerek çoğalma eğilimindedirler. Azot oksitler (NO_x) oksijen (O₂) yokluğunda son elektron alıcısı olarak işlev görürler (Knowles, 1982; Kocataş, 1996). Enerji kaynağı olarak inorganik veya organik bileşiklerin kullanılmasına göre denitrifikasyon, ototrofik ve heterotrofik olmak üzere iki yolla gerçekleştirilir. Ototrofik denitrifikasyon bakterileri enerji kaynağı olarak, hidrojen, demir veya kükürt bileşiklerini ve karbon kaynağı olarak karbon dioksit ve bikarbonat gibi inorganik karbon bileşiklerini kullanırlar. Heterotrofik denitrifikasyonda ise, elektron vericisi olarak oksitlenebilen organik bir karbon kaynağına gereksinim vardır. Etanol, metanol, asetik asit, yağ asitleri, şeker ve şeker kamışı, suda çözünmeyen ama biyolojik olarak parçalanabilen polimerler, sentetik polyester granüller, gazete ve saman, işlenmemiş pamuk lifi, ağaç kabuğu ve benzeri doğal organik substratlar gibi çeşitli katı, sıvı ve gaz halinde karbon kaynakları kullanılmaktadır. Heterotrofik denitrifikasyon, karbon kaynaklarının kolay bulunması, daha ekonomik olması, büyük ölçeklerde uygulanması gibi avantajları nedeniyle son yıllarda su arıtım uygulamalarında daha çok tercih edilmektedir (Van Rijn ve ark., 2006; Karanasios ve

ark., 2010; Xu ve ark., 2011; Burghate ve Ingole, 2014; Zhu ve ark., 2015; Wang ve Chu, 2016; Zhang ve ark., 2018).

Mikroorganizmaların suda çözünmeyen bir taşıyıcıya fiziksel ve kimyasal olarak tutunarak üredikleri biyofilm sistemleri askıdaki biyokütle reaktörlerine kıyasla daha düşük alan gerektirmesi ve özellikle daha düşük sermaye ve işletme maliyetlerine sahip olmasından dolayı, başta besin endüstrisi olmak üzere biyolojik dönüşüm proseslerinde ve biyolojik su/atıksu tasfiyesinde sıkça kullanılmaktadırlar (Chibata ve ark., 1986; Muslu, 1990; Yang ve ark., 1994; Van Rijn ve ark., 2006; Xu ve ark., 2011; Zhu ve ark., 2015).

Biyofilm sistemler ya hücreler çeşitli taşıyıcılara fiziksel adsorbsiyon, iyonik veya kovalent bağlarla doğrudan bağlanarak ya da organizmanın hareketini (göçünü) sınırlayan poröz veya fibröz materyallerin içerisinde tutuklanarak elde edilirler. Bu amaçla, kollajen, jelatin, agar, aljinat, karrajen, selüloz triasetat, poliakrilamid, epoksi reçineleri, ve benzeri jel polimerler taşıyıcı olarak kullanılmaktadır (Chibata ve ark., 1986; Lewandowski ve ark., 1987; Wakao ve ark., 1994; Bülbül ve Aksu, 1997; Lee ve ark., 2001; Liu ve ark., 2003; Shams ve ark., 2016; Schroeder ve ark., 2020).

Alginat jel, deniz yosunundan elde edilen bir polisakkarittir ve kalsiyum, alüminyum gibi multivalent iyonlarla jelleşerek poröz yapıda üç boyutlu bir matriks oluşturur (Chen ve Huang, 1988; Kitamikado, 1992; Hu ve ark., 2020). Aljinat jelde tutuklama güvenli, toksik olmayan, hızlı, hafif, basit, ucuz ve çok yönlü kullanıma uygun bir yöntem olduğu için tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, dolgu malzemesi olarak kalsiyum aljinat (Ca-aljinat) jelde tutuklanmış *P.denitrificans* hücreleri ile bir kolon reaktörde nitrat gideriminin uygulanabilirliği ve işlem üzerine besleme çözeltisi akış hızı ve nitrat derişiminin etkileri araştırılmış ve sistemin biyofilm ve denitrifikasyon kinetiği incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

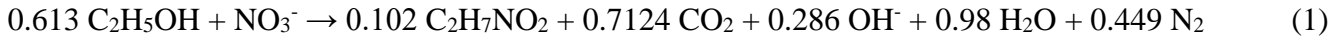
Deney Sistemi

Araştırmada kullanılan deney düzeneği Şekil 1'de gösterilmektedir. Sistem, Ca-aljinat dolgulu biyoreaktör, peristaltik pompa, termostat, besleme solüsyonu tankı ve sıvı akışları için lateks bazlı tüplerden oluşmaktadır. Reaktör 100 cm yüksekliğinde ve iç çapı 2.5 cm olan silindirik bir kaptır. Yatak boyunca eşit aralıklarla 8 adet ve giriş-çıkışta iki adet ilave numune alma noktası vardır. Reaktörün sadece 70 cm'lik kısmı 275 g Ca-aljinat boncukları ile doldurulmuştur. Reaktörün sıcaklığı, bir su ceketi ile 30°C'de sabit tutulmuştur. Besleme çözeltisi, kolona peristaltik pompa yardımıyla alttan verilmiştir. Reaktörün Ca-aljinat ile doldurulan kısmının toplam boş hacmi (V_T) 375 mL'dir. Reaktörün aktif olan kısmının boşluk hacmi (V_R) ise 75 mL olarak belirlenmiştir.

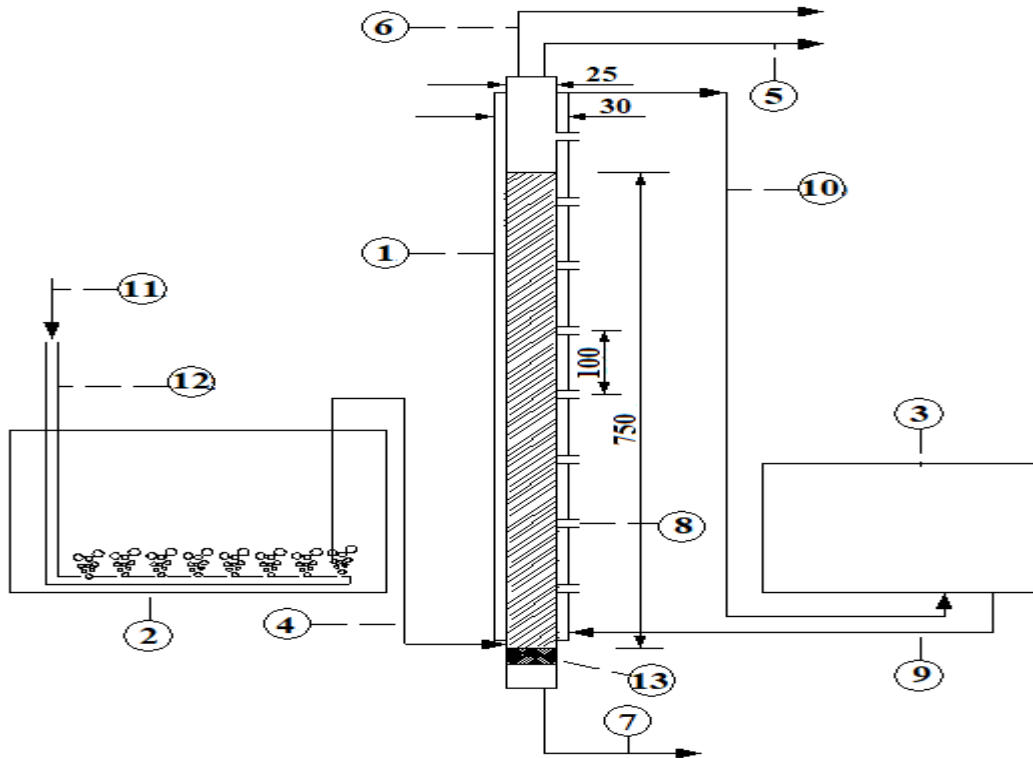
Mikroorganizmanın Üretilmesi

Araştırmada denitrifikasyon bakterisi olarak kullanılan *Paracoccus denitrificans* NRRL B-3784, Dr. Lk. Nakamura'dan (Department of Agriculture, Agricultural Resource Service, Midweek Area, National Centre for Agriculture Utilisation Resource, 1815 North University street, Peoria, Illinois, USA) liyofilize kültür olarak temin edilmiştir. Mikroorganizmanın üretilmesinde, van Spanning ve çalışma arkadaşları tarafından önerilen ve litresinde 57 mM C_2H_5OH , 50 mM KNO_3 , 9.6 mM K_2HPO_4 , 6.3 mM KH_2PO_4 , 30 mM NH_4Cl , 0.6 mM Na_2MoO_4 , 0.26 mM Titriplex I, 0.8 mM $MgSO_4$, %0.01 maya özütü ve 1.0 mL eser elementler çözeltisi içeren besiyeri kullanılmıştır. Ancak yukarıda verilen besiyerinin orijinalinde karbon kaynağı olarak, metilamin yer almaktadır (van Spanning ve ark., 1990). Mikroorganizma bu besiyerinde üç gün süreyle yetiştirildikten sonra Ca-aljinatta tutuklanmıştır.

Heterotrofik denitrifikasyonun etanol ile sitokiyometrik eşitliği Eşitlik 1’de verilmiştir.



Buradaki $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_2$ hücre kütesini göstermektedir. Eşitlik 1’de verilen reaksiyon için substratın ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) ürüne (N_2) dönüşüm katsayısı ($Y_{P/S}=g \text{ N/g C}_2\text{H}_5\text{OH}$) 0.466’dır (Gayle ve ark., 1989; Mateju ve ark., 1992; Burghate ve Ingole, 2014). Besleme çözeltisinin bulunduğu tanktaki karıştırma, tankın altında sabitlenmiş Z şeklinde azot gazı dağıtıcısı ile sağlanmıştır. Besleme çözeltisi reaktöre hızı ayarlanabilen bir pompa yardımıyla gönderilmiştir.



Şekil 1. Deney düzeneğinin şematik görünüşü (1: Ca-aljinat dolgulı biyoreaktör, 2: Besleme çözeltisi tankı, 3: Sabit sıcaklıktaki su sirkülatörü, 4: Besleme çözeltisinin reaktör girişi, 5 ve 6: Ürün su çıkışı, 7: Drenaj, 8: Örnek alma vanaları, 9 ve 10: Termostat suyunun reaktöre giriş ve çıkış noktaları, 11: Azot gazı girişi, 12: Gaz dağıtıcısı, 13: Reaktör tabanı).

Mikroorganizmanın Ca-Aljinat Jelde Tutuklanması

Deiyonize suda çözülmüş *Microcystis pyrifera*’dan elde edilmiş %4 (w/v)’lük Ca-aljinat çözeltisi *Paracoccus denitrificans* kültürüyle 1/1 (v/v) oranında karıştırılmıştır. Bu aljinik asit-kültür karışımı, peristaltik pompa yardımıyla karışmakta olan 0.2 mol L^{-1} ’lik CaCl_2 çözeltisine damlatılmıştır. Böylece yaklaşık 3 mm çapında mikroorganizmaların tutuklandığı Ca-aljinat boncukları elde edilmiştir. Boncuklar 20 dakika süreyle CaCl_2 çözeltisi içerisinde tutularak katılaşmaları sağlanmıştır. Daha sonra 5 mmol L^{-1} CaCl_2 içeren deiyonize su ile yıkanmıştır (Hulst ve ark., 1985; Robinson ve ark., 1985; De Boer ve ark., 1995).

Reaktöre, toplamda 275 g Ca-aljinat boncuğu doldurulmuştur. Boncuklar reaktöre doldurulduktan sonra, 57 mM $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 25 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 9.6 mM K_2HPO_4 , 6.1 mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.6 mM Na_2MoO_4 , 0.26 mM Titriplex I, 0.8 mM MgSO_4 , %0.01 maya özütü ve 1.0 mL eser elementler çözeltisi içeren besiyeri ile reaktör beslenmiştir. Nitrat dönüşüm verimi %95-98’e ulaşınca kadar reaktör kesikli modda çalıştırılmış, bu değere ulaşıldıktan sonra sürekli çalışma moduna geçilmiştir. Denemeler 55 gün boyunca stabil olarak sürdürülmüştür.

Her bir örnek alma musluğundan örnekler, tek bir deneme için 48 sa’lik çalışma süresi içerisinde belirli zaman aralıklarında toplanmıştır. Çalışma süresi boyunca, her bir örnek alma musluğundan en az

10 örnek alınmıştır. Farklı zaman aralıklarında toplanan bu örneklerin nitrat derişimleri deneysel hata aralığında ($\pm\%10$) değişmektedir. Dolayısıyla burada sunulan veriler, farklı zaman aralıklarında elde edilen verilerin ortalamasıdır.

Analiz Yöntemleri

Her bir örnek alma musluğundan alınan örnekler, nitrat ve nitrit içerikleri açısından analiz edilmiştir. Nitrat ve nitrit analizleri, Shimadzu UV 160A tipi spektrometre kullanılarak yapılmıştır (Anonymous, 1985; Anonymous, 2017b).

Nitrat derişimi, standart yonteme göre, 220 nm dalga boyunda 1 M HCl ayırıcı kullanılarak ölçülmüştür. Nitrit derişimi, sülfanilamitin nitrit iyonları ile diazonyum tuzu oluşturması ve ortama 1-Naftil-etilen diamin dihidrokloritin ilavesi ile bağlanmasından sonra 543 nm'de fotometrik olarak ölçülmüştür (Anonymous, 1985; Anonymous, 2017b).

Çalışmanın amacı sadece mevcut deney düzeneğinin nitrat giderme performansını araştırmak olduğundan, toplanan örneklerde mikroorganizma ve organik madde analizi yapılmamıştır.

Toplam azot derişimi (ΣNO_x) Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\Sigma\text{NO}_x = (\text{N-NO}_2^-) + (\text{N-NO}_3^-) \quad (2)$$

Denitrifikasyon verimliliği (E) Eşitlik 3 kullanılarak belirlenmiştir.

$$E = [1 - (\Sigma\text{NO}_x)_{\text{ıkış}} / (\Sigma\text{NO}_x)_{\text{Giriş}}] \times 100 \quad (3)$$

Buradaki $(\Sigma\text{NO}_x)_{\text{Giriş}}$ ve $(\Sigma\text{NO}_x)_{\text{çıkış}}$ değerleri denitrifikasyon reaktörünün giriş ve çıkışındaki toplam oksitlenmiş azot bileşiklerini göstermektedir.

Kinetik verilerin hesaplanmasında Eşitlik 4-10 kullanılmıştır (Keskinler ve ark., 1995; La Motta ve Cascante, 1996):

$$X = [(C_{\text{Giriş}} - C_{\text{ıkış}}) / C_{\text{Giriş}}] \times 100 \quad (4)$$

$$D = F / V_T \quad (5)$$

$$D_R = F / V_R \quad (6)$$

$$L = C_{\text{Giriş}} D_t \quad (7)$$

$$P_r = D(C_{\text{Giriş}} - C_{\text{ıkış}}) Y_{P/S} \quad (8)$$

$$R = D_R (C_{\text{Giriş}} - C_{\text{ıkış}}) \quad (9)$$

$$\tau = 1 / D_t \quad (10)$$

Burada; X, dönüşüm verimini (%), $C_{\text{Giriş}}$, reaktör girişindeki nitrat derişimini (mg L^{-1}), $C_{\text{ıkış}}$, reaktör ıkışındaki nitrat derişimini (mg L^{-1}), D, dilüsyon hızını (h^{-1}), F, besleme çözeltisi akış hızını (mL h^{-1}), V_T , toplam hacmi (mL), D_R , gerçek dilüsyon hızını (h^{-1}), L, nitrat yükleme hızını ($\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$), P_r , reaktör verimliliğini ($\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$), $Y_{P/S}$, substratın ürüne dönüşme katsayısını, R, nitrat giderme hızını ($\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$) ve τ ise reaktördeki alıkonma süresini (h^{-1}) göstermektedir.

Çalışma Koşulları

Karbon kaynağı olarak etil alkol, azot kaynağı olarak $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ kullanılan denemelerde sıcaklık 30°C ; başlangıç pH'sı 7.5 ve C/N 2.0 olarak ayarlanmış ve farklı akış hızı (85.23, 98.63, 119.52, 150.00 ve 183.86 mL h^{-1}) ile nitrat derişimlerinin ($100, 150, 200, 250$ ve 300 mg L^{-1}) etkileri incelenmiştir.

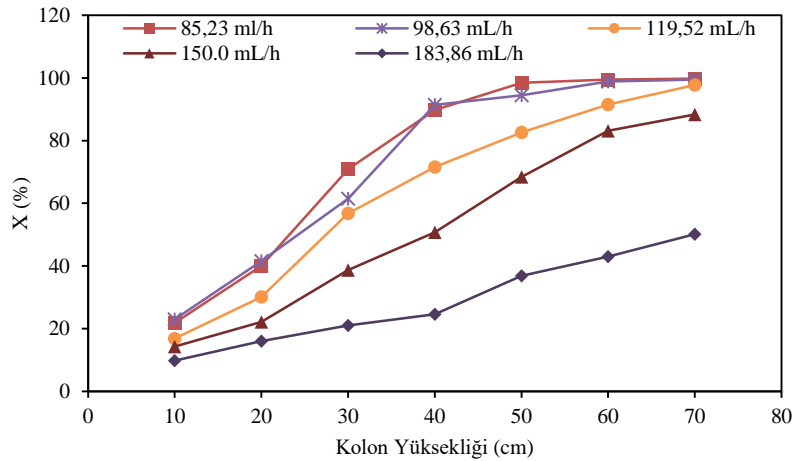
BULGULAR VE TARTIşMA

Bu çalışmada, sabit yataklı kolon reaktörde, Ca-aljinatta tutuklanmış *Paracoccus denitrificans* hücreleri ile içme sularından nitrat giderimi üzerine, 85.23 ila 183.86 mL h^{-1} arasında değişen besleme çözeltisinin akış hızı ve 100 ilâ 300 mg L^{-1} arasında değişen nitrat derişiminin etkisi araştırılmıştır.

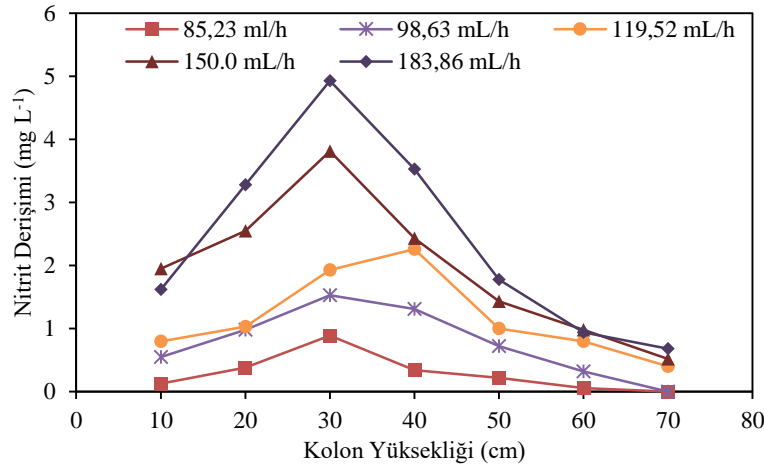
Denemeler tıpa akışlı kolon reaktörde yürütüldüğünden, nitrat ve nitrit derişimi, reaktör verimliliği, nitrat giderme hızı gibi parametreler reaktör (kolon) yüksekliğinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu nedenle veriler, kolon yüksekliğine göre değerlendirilmiştir.

Nitrat Giderimi Üzerine Besleme Çözeltisi Akış Hızının Etkisi

Şekil 2’de besleme çözeltisi akış hızının nitrat giderim verimine etkisi ve Şekil 3’te ise denitrifikasyon esnasında oluşan nitrit derişimi verilmiştir. Şekil 2 ve Şekil 3’te de görüldüğü gibi artan besleme çözeltisi akış hızına bağlı olarak denitrifikasyon verimliliği azalmaktadır. Çalışılan akış hızlarında çıkış suyu nitrat ve nitrit içerikleri, en yüksek akış hızı (183.86 mL h⁻¹) hariç diğerlerinde, içme suları için önerilen sınır değerlerin altındadır (Anonim, 2016).



Şekil 2. Besleme çözeltisi akış hızının nitrat giderim verimine etkisi (C/N: 2.0, besleme çözeltisi nitrat içeriği: 200 mg L⁻¹, karbon kaynağı: etanol)



Şekil 3. Besleme çözeltisi akış hızının nitrit birikimine etkisi (Besleme çözeltisi nitrat içeriği: 200 mg L⁻¹, C/N: 2.0, karbon kaynağı: etanol)

Çizelge 1’de 70 cm’lik kolon yüksekliğinde, farklı besleme çözeltisi akış hızının etkisine ait kinetik veriler yer almaktadır. Çizelgeden de görüldüğü gibi, en yüksek nitrat giderim hızı, 150.0 mL h⁻¹’lik akış hızında, 353.52 mg L⁻¹ h⁻¹ ve reaktör verimliliği ise, 31.53 mg L⁻¹ h⁻¹ olarak ölçülmüştür. Bu değer için hidrolik alıkonma süresi 30 dk ve D_r değeri 2.0 h⁻¹’dir.

Biyofilm sistemlerinin verimini etkileyen parametreler; partikül büyüklüğü, destek materyalinin porozitesi, biyofilm kalınlığı ve substratın biyofilm içerisine difüzyonu olarak bilinmektedir (Wilderer, 1995; Zhang ve Bishop, 1994; Stewart, 2003). Besleme çözeltisi akış hızı, substratın biyofilm içerisine difüzyonunu dolayısıyla organizmanın metabolizma hızını etkilediğinden nitrat giderme verimi ile doğrudan ilişkilidir. Farklı türler ve farklı reaktör tipleri ile yapılan çalışmalar sonucunda da yüksek akış

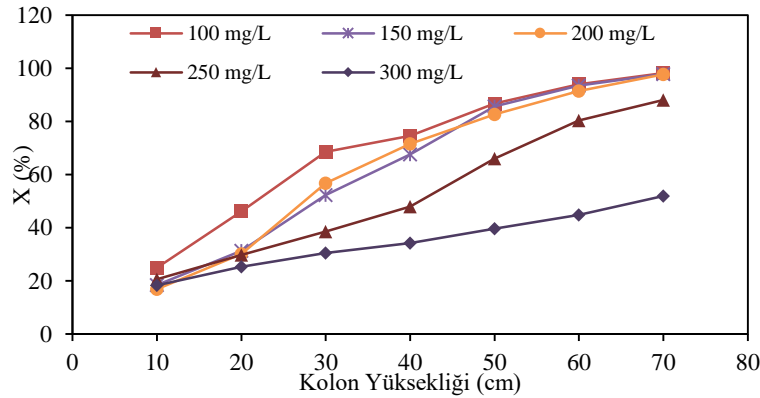
hızı uygulamalarının nitrat giderim veriminde düşümlere yol açtığı bulunmuştur. Daha yüksek akış hızlarında nitrat giderim veriminin azalmasının nedenleri arasında bakterilerin, hücre dışı enzimlerin ve çözümlü substratın yıkanması sayılabilir (Claus ve Kutzner, 1985a; Claus ve Kutzner, 1985b; Kargı, 1993; Wijffels ve ark., 1995; Xu ve ark., 2009; Ashok ve Hait, 2015; Wang ve Chu, 2016). Bunun sonucu olarak çıkış suyundaki organik madde derişimi artmaktadır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar alan-yazın ile uyumludur.

Çizelge 1. Farklı besleme çözeltisi akış hızlarına ait (70 cm kolon yüksekliğinde) kinetik veriler

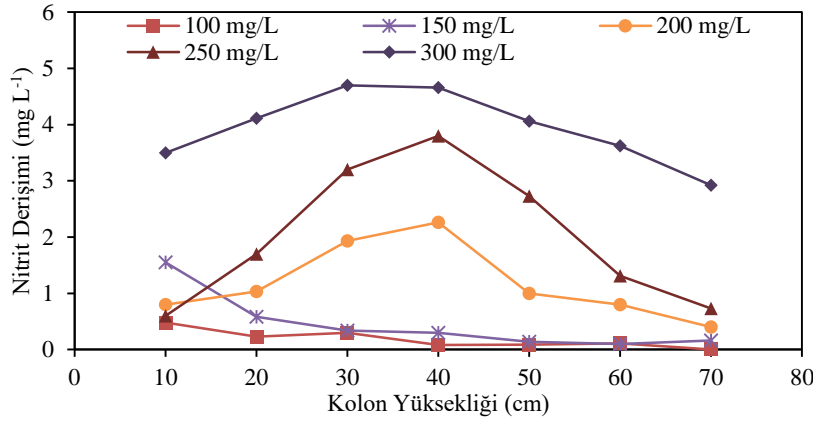
F (mL h ⁻¹)	85.23	98.63	119.52	150.00	183.86
C _{Giriş} (mg L ⁻¹)	200	200	200	200	200
X (%)	99.82	99.51	97.75	88.38	50.17
D (h ⁻¹)	0.23	0.26	0.32	0.40	0.49
D _R (h ⁻¹)	1.14	1.31	1.59	2.0	2.45
R (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	227.59	260.71	310.85	353.52	245.83
P _r (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	20.48	23.08	27.9	31.53	21.93
L (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	228	262	318	400	490
τ (dk)	52.8	45.62	37.65	30	24.47
NO ₂ (mg L ⁻¹)	0	0	0.4	0.52	0.68

Nitrat Giderimi Üzerine Besleme Çözeltisi Nitrat Derişiminin Etkisi

Farklı başlangıç nitrat derişim oranlarının nitrat giderimi üzerine etkisi incelenirken besleme çözeltisinin başlangıç nitrat derişimi 100, 150, 200, 250 ve 300 mg L⁻¹ olarak değiştirilmiştir. Elde edilen bulgular Şekil 4 ve Şekil 5'te verilmiştir. Şekil 4'te de görüldüğü gibi başlangıç nitrat derişimi 200 mg L⁻¹'ye kadarki derişimlerde %95'in üzerinde verim elde edilmiştir. Çalışılan en yüksek nitrat derişiminde nitrat giderim verimi %51'e düşmüştür. Denitrifikasyon esnasında oluşan nitrit oluşum hızı, başlangıç nitrat derişimi artıka artmaktadır (Şekil 5). Dolayısıyla yüksek başlangıç nitrat derişimi hem nitratın, hem de nitritin eksik redüksiyonuna neden olmaktadır.



Şekil 4. Besleme çözeltisi nitrat içeriğinin, nitrat giderme verimine etkisi (C/N= 2.0, akış hızı: 119.52 mL h⁻¹, karbon kaynağı: etanol)



Şekil 5. Besleme çözeltisi nitrat içeriğinin nitrit derişimine etkisi (C/N: 2.0, akış hızı: 119.52 mL h⁻¹, karbon kaynağı: etanol)

Çizelge 2’de 70 cm’lik kolon yüksekliğinde farklı başlangıç nitrat derişiminin etkilerine ait kinetik veriler yer almaktadır. Çizelgeden görülebileceği üzere 397.5 mg L⁻¹ h⁻¹’lik yükleme hızına kadar, yükleme hızı arttıkça reaktör verimliliğinin arttığı ancak bu değerden sonra reaktör verimliliğinde önemli bir azalma görülmüştür. Çalışmada en yüksek nitrat giderim hızı değeri 397.5 mg L⁻¹ h⁻¹’lik yükleme hızında, 342.06 mg L⁻¹ h⁻¹ ve reaktör verimliliği ise 30.7 mg L⁻¹ h⁻¹ olarak ölçülmüştür. Bu değer için hidrolik alıkonma süresi 37.8 dk ve D_r değeri ise 1.59 h⁻¹’dir.

Çizelge 2. Çıkış suyundaki farklı besleme çözeltisi nitrat derişimine ait kinetik veriler

C _{Giriş} (mg L ⁻¹)	100	150	200	250	300
F (mL h ⁻¹)	119.52	119.52	119.52	119.52	119.52
X (%)	98.21	97.91	97.75	88.05	51.89
D (h ⁻¹)	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
D _R (h ⁻¹)	1.59	1.59	1.59	1.59	1.59
R (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	156.17	230.39	310.85	342.06	247.52
P _r (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	14.02	20.68	27.9	30.7	22.22
L (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	159	238.5	318	397.5	477
τ (dk)	37.8	37.8	37.8	37.8	37.8
NO ₂ (mg L ⁻¹)	0.0	0.16	0.4	0.73	2.92

Yüksek nitrat derişimlerinde, denitrifikasyon veriminde azalmalar sabit yataklı reaktörlerin kullanıldığı benzer araştırma sonuçlarında da görülmektedir (Claus ve Kutzner, 1985a; Claus ve Kutzner, 1985b; Chang ve ark., 1999; Karanasios ve ark., 2010;). Biyofilm reaktörlerinin en önemli avantajları şok yüklemelere karşı dayanıklı oluşlarıdır (Mol ve ark., 1993; Yang ve ark., 1994; Nuhoglu ve ark., 2002; Wang ve ark., 2013). Ancak yine de yüksek NO₃ yüklemelerinde redüksiyonun son basamaklara kadar yürütülemediği ve nitrit birikimine yol açtığı belirtilmektedir (Claus ve Kutzner, 1985a; Claus ve Kutzner, 1985b; Almeida ve ark., 1995; Glass ve Silverstein, 1998). Aynı durum bizim çalışmamız için de geçerlidir.

Metabolize edilecek bir substratın kullanımı ya difüzyon ya da metabolizma ile sınırlıdır. İkinci durumda metabolizma için gerekenden daha fazla substrat mevcuttur ve bu substratın çok az bir kısmı kullanılabilir. Sonuçta yüksek substrat içeriği, ozmotik basınç veya benzeri fizyolojik mekanizmalar yoluyla inhibisyona neden olur. Araştırmamızda yüksek derişimdeki nitrat yüklemelerinde görülen verimdeki azalma böyle bir nedene bağlı olabilir (Claus ve Kutzner, 1985a; Claus ve Kutzner, 1985b; Wilderer, 1995; Pekdemir ve ark., 1998).

Biyofilm sistemlerin dezavantajlarından biri çıkış suyuna hücre kaçağı olabilmektedir (Bülbül ve Aksu, 1997). Yapılan çalışmada çıkış suyunda 3.2x10² CFU/mL hücre bulunduğu belirlenmiştir.

SONUÇ

Bu araştırmada, sabit yataklı kolon reaktörde, Ca-aljinatta tutuklanmış *Paracoccus denitrificans* hücreleri ile içme sularından nitrat giderimi üzerine, besleme çözeltisi akış hızı ve nitrat derişiminin etkisi araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen temel sonuçlar aşağıdaki gibidir:

- Artan besleme çözeltisi akış hızına bağlı olarak denitrifikasyon verimliliği azalmaktadır. 150 mL h⁻¹'lik akış hızına kadar çıkış suyundaki nitrat derişiminin izin verilen standartların altında olduğu belirlenmiştir.
- Maksimum reaktör verimliliği, yine aynı akış hızında 353.52 mg L⁻¹ h⁻¹ ve reaktör verimliliği ise 31.53 mg L⁻¹ h⁻¹ olarak belirlenmiştir.
- Başlangıç nitrat derişimi 200 mg L⁻¹'ye kadar ki derişimlerde %95'in üzerinde nitrat giderimi sağlanmıştır.
- Başlangıç nitrat derişimi artıkça denitrifikasyon ara ürünü olan nitrit birikimide artmaktadır. Yüksek başlangıç nitrat derişimi hem nitratın hem de nitritin tam olarak indirgenememesine yol açmaktadır.
- 397.5 mg L⁻¹ h⁻¹'lik yükleme hızına kadar, çıkış suyundaki nitrat derişimi standartların altında bulunmuştur. Bu değer için maksimum nitrat giderme hızı ve reaktör verimliliği sırasıyla 342.06 ve 30.70 mg L⁻¹ h⁻¹ olarak elde edilmiştir.
- Hücre kaçaklarının giderilmesi için tasfiye sonrası herhangi bir dezenfeksiyon işleminin uygulanması gereklidir.
- İçme suyundan nitrat giderimi çalışmalarında, Ca-aljinatın tutuklama malzemesi olarak kullanılmasının uygun olduğu görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Burada sunulan veriler, yazarın "Sabit Yataklı Reaktörlerde Mikrobiyal Nitrat Giderimi ve Kinetiği" başlıklı doktora tezinden üretilmiştir.

Doktora çalışmasının planlanması ve yürütülmesinde büyük desteklerini gördüğüm Danışmanım Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR'u rahmetle anar, Eş Danışmanım Prof. Dr. Bülent KESKİNLER'e yardımlarından dolayı içtenlikle teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması sırasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim.

Yazar Katkısı

Makalenin planlanmasının, yürütülmesinin ve yazılmasının makalenin tek yazarı olarak tarafımdan yapıldığını beyan ederim.

KAYNAKLAR

- Almeida JS, Reis MA, Carrondo MJ, 1995. Competition Between Nitrate and Nitrite Reduction in Denitrification by *Pseudomonas fluorescens*. Biotechnology and Bioengineering, 46 (5): 476-484.
- Anonim, 2016, TSE, Türk İçme Suyu Standartları, TS-266. Ankara.
- Anonymous, 1985, Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. (16th ed.) Washington, DC, pp. 391-406.
- Anonymous, 2016. Nitrate And Nitrite In Drinking-Water., World Health Organization, Geneva-Switzerland.

- Anonymous, 2017a. Guidelines For Drinking-Water Quality: Fourth Edition Incorporating The First Addendum, World Health Organization, Geneva.
- Anonymous, 2017b. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, (23rd ed.), Method 4500-NO₂⁻ B. American Public Health Association, Washington, DC.
- Anonymous, 2018. 2018 Edition Of The Drinking Water Standards And Health Advisories Tables. Office of Water United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Ashok V, Hait S, 2015. Remediation of Nitrate-Contaminated Water by Solid-Phase Denitrification Process-A Review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22:8075-8093.
- Bucco S, Padoin N, Netto WS, Soares HM, 2014. Drinking Water Decontamination by Biological Denitrification Using Fresh Bamboo as İnoculum Source. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37:2009-2017.
- Burghate SP, Ingole NW, 2014. Biological Denitrification-A Review. *Journal of Environmental Science, Computer Science and Engineering & Technology*. 3 (1): 009-028.
- Bülbül G, Aksu Z, 1997. Atıksulardaki Fenol Kirliliğinin Serbest ve Ca-Alginat'a Tutuklanmış P. Putida İle Giderilmesinin Kesikli ve Karıştırmalı Tepkime Kabında Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi. *Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 21 (3): 175-181.
- Chang CC, Tseng SK, Huang HK, 1999. Hydrogenotrophic Denitrification with İmmobilized *Alcaligenes eutrophus* for Drinking Water Treatment. *Bioresource Technology*, 69: 53-58.
- Chen KC, Huang CT, 1988. Effects of The Growth of *Trichosporon cutaneum* in Calcium Alginate Gel Beads Upon Bead Structure and Oxygen Transfer Characteristics. *Enzyme and Microbial Technology*, 10 (5): 284-292.
- Chen KC, Lin YF, 1993. The Relationship Between Denitrifying Bacteria and Methanogenic Bacteria in A Mixed Culture System of Acclimated Sludge. *Water Research*, 27 (12): 1749-1759.
- Chibata I, Tosa T, Sato T, 1986. Methods of Cell Immobilization. In: Demain AL, Solomon NA Editors, *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*, pp. 217-229, Washington DC-USA
- Claus G, Kutzner HJ, 1985a. Physiology and Kinetics of Autotrophic Denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 22: 283-288.
- Claus G, Kutzner HJ, 1985b. Autotrophic Denitrification by *Thiobacillus denitrificans* in a Packed Bed Reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 22: 289-296.
- Conley DJ, Paerl HW, Howarth RW, Boesch DF, Seitzinger SP, Havens KE, Lancelot C, Likens GE, 2009. Controlling Eutrophication: Nitrogen and Phosphorus, *Science* 323 (5917): 1014-1015.
- Crespi M, Ramazzoth V, 1991. Evidence That N-Nitroso Compounds Contribute to The Causation of Certain Human Cancers. In: Bogardi I, Kuzelka RD Editors. *Nitrat Contamination: Exposure, Consequence and Control*, North Atlantic Treaty Organization ASI Series, Vol. G:30, pp. 233-252. Berlin-Germany.
- Dahab MF, 1991. Nitrate Treatment Methods: An Overwiev. In: Bogardi I, Kuzelka RD Editors. *Nitrat Contamination: Exposure, Consequence and Control*, North Atlantic Treaty Organization ASI Series, G:30, pp. 449-468, Berlin-Germany.
- De Boer W, Klein Gunnewiek PA, Laanbroek HJ, 1995. Ammonium Oxidation at Low pH By A Chemolithotrophic Bacterium Belonging to The Genus *Nitrosospira*. *Soil Biology and Biochemistry*, 27 (2): 127-132.
- Demircioğlu N, 1996. Sulu Ortamlarda Sıvı Membran Teknolojisiyle Nitrat ve Nitrit İyonlarının Çift Yönlü Taşınım Kinetiği. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Dorias B, Bauman P, 1994. Denitrification in Trickling Filters. *Water Science and Technology*, 30 (6): 181-184.

- Dourson M, Stern B, Griffin S, Bailey K, 1991. Impact of Risk-Related Concerns on U.S. Environmental Protection Agency Programs. Nitrat Contamination Exposure, Consequence and Control. In: Bogardi I, Kuzelka RD Editors. Nitrat Contamination: Exposure, Consequence and Control, North Atlantic Treaty Organization ASI Series, G:30, pp. 477-487, Berlin-Germany.
- Erkekoğlu P, Baydar T, 2010. Nitrite, a Hidden Foe in Food: Evaluation of Nitrite in Toxicological Perspective. Gazi University Journal of Science, 23 (3): 261-270.
- Gayle BP, Boardman GD, Sherrard JH, Benoit RE, 1989. Biological Denitrification of Water. Journal of Environmental Engineering, 115 (5): 930-943.
- Glass C, Silverstein J, 1998. Denitrification Kinetics of High Nitrate Concentration Water: pH Effect on Inhibition and Nitrite Accumulation. Water Research, 32 (3): 831-839.
- Hiscock KM, Lloyd JM, Lerner DN, 1991. Review of Natural and Artificial Denitrification of Groundwater. Water Research, 25 (9): 1099-1111.
- Hu M, Zheng G, Zhao D, Yu W, 2020. Characterization of The Structure and Diffusion Behavior of Calcium Alginate Gel Beads. Journal of Applied Polymer Science, 137 (31):1-9.
- Hulst AC, Tramper J, Van't Riet K, Westerbeek JMM, 1985, A New Technique for Immobilized Biocatalyst in Large Quantities. Biotechnology and Bioengineering, 27 (6): 870-876
- Kapoor A, Viraraghavan T, 1997. Nitrate Removal From Drinking Water-Review. Journal of Environmental Engineering, 123 (4): 371-380.
- Karanasios KA, Vasiliadou IA, Pavlou S, Vayenas DV, 2010. Hydrogenotrophic Denitrification of Potable Water: A Review. Journal of Hazardous Materials 180 (1):20-37.
- Kargı F, 1993. Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler. Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi, s.217-223, İzmir-Türkiye.
- Keskinler B, Çakıcı A, Algur ÖF, 1995. Endüstriyel Atıksulardan Fe²⁺'nin Biyoteknolojik Arıtımı. Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences, 19 (4): 311-317.
- Kitamikado M, Tseng CH, Yamaguchi K, Nakamura T, 1992. Two Types of Bacterial Alginate Lyases. Applied and Environmental Microbiology, 58 (8): 2474-2478.
- Knowles R, 1982. Denitrification. Microbial Review, 46 (1): 43-70.
- Kocataş A, 1996. Ekoloji- Çevre Biyolojisi. Ege Üniversitesi Basımevi (3. Baskı), s.322-330, İzmir-Türkiye.
- La Motta EJ, Cascante P, 1996. Substrate Consumption Kinetics in Anaerobic Biofilm Fluidized Reactor. Journal of Environmental Engineering, 122 (3): 198-203.
- Lee HG, Choi MW, Wang SH, Park TJ, Kim CW, 2001. Applicability of Fixed Bed Biofilm Reactor for Nitrogen Removal From Sewage With High Nitrogen Contents. Environmental Engineering Research, 6 (2): 55-61.
- Lewandowski Z, Bakke R, Characklis WG, 1987. Nitrification and Autotrophic Denitrification in Calcium Alginate Beads. Water Science and Technology, 19 (1-2): 175-182.
- Liu SX, Hermanowicz SW, Peng M, 2003. Nitrate Removal From Drinking Water Through The Use of Encapsulated Microorganisms in Alginate Beads. Environmental Technology, 24 (9): 1129-1134.
- Mateju V, Cizinska S, Krejci J, Jonach T, 1992. Biological Water Denitrification: A Review. Enzyme and Microbial Technology, 14 (3): 170-183.
- McCleaf PR, Schroeder ED, 1995. Denitrification Using a Membrane Immobilized Biofilm. Journal of American Water Works Association, 87 (3): 77-86.
- Mol N, Kut OM, Dunn IJ, 1993. Adsorption of Toxic Shocks on Carriers in Anaerobic Biofilm Fluidized Bed Reactors. Water Science and Technology, 28 (2): 55-65.

- Muslu Y, 1990. Kullanılmış Suların Tasfiyesi. Cilt 1, İstanbul Teknik Üniversitesi İnşaat Fakültesi Matbaası (2. Baskı), s.318-337, İstanbul-Türkiye.
- Nuhoğlu A, 1996. Çapraz Akışlı Membran Biyoreaktörde Denitrifikasyon Prosesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Nuhoğlu A, Pekdemir T, Yıldız E, Keskinler B, Akay G, 2002. Drinking Water Denitrification by Membrane Bioreactor. *Water Research*, 36: 1155-1166.
- Orhon D, Sözen S, Ubayo E, 1994. Assessment of Nitrification - Denitrification Potential of Istanbul Domestic Waste Water. *Water Science and Technology*, 30 (6): 21-30.
- Ovez B, Mergaert J, Sağlam M, 2006. Biological Denitrification in Drinking Water Treatment Using The Seaweed *Gracilaria verrucosa* as Carbon Source And Biofilm Carrier. *Water Environment Research*, 78 (4): 430-434.
- Pekdemir T, Kuru-Kaçmazoğlu E, Keskinler B, Algur ÖF, 1998. Drinking Water Denitrification in a Fixed Bed Packed Biofilm Reactor. *Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences*, 22 (1): 39-45
- Rahimi S, Modin O, Mijakovic I, 2020. Technologies For Biological Removal and Recovery of Nitrogen From Wastewater. *Biotechnology Advances*, 43 (2020) 107570: 1-25.
- Robinson PK, Dainty AL, Goulding KH, Simpkins I, Trevan MD, 1985. Physiology of Alginate-Immobilized *Chlorella*. *Enzyme and Microbial Technology*, 7: 212-216.
- Rogalla F, De Larminat G, Couttelle J, Godart H, 1991. Experience with Nitrate-Removal Methods From Drinking Water. In: Bogardi I, Kuzelka RD Editors. Nitrat Contamination: Exposure, Consequence and Control, North Atlantic Treaty Organization ASI Series, Vol. G:30, pp. 367-383. Berlin-Germany.
- Sadler R, Maetam B, Edokpolo B, Connell D, Yu J, Stewart D, Park MJ, Gray D, Laksono B, 2016. Health Risk Assessment for Exposure to Nitrate in Drinking Water From Village Wells in Semarang, Indonesia. *Environment Pollution*, 216 (2016):738-745.
- Schroeder A, Souza DH, Fernandes M, Rodrigues EB, Trevisan V, Skoronski E, 2020. Application of Glycerol as Carbon Source for Continuous Drinking Water Denitrification Using Microorganism From Natural Biomass. *Journal of Environmental Management*, 256 (2020): 1-8.
- Shams DF, Rubio A, Elefsiniotis P, Singhal N, 2016. Post-Denitrification Using Alginate Beads Containing Organic Carbon and Activated Sludge Microorganisms. *Water Science and Technology*, 74 (7): 1626-1635.
- Shrimali M, Singh KP, 2001. New Methods of Nitrate Removal From Water. *Environmental Pollution* 112 (2001):351-359.
- Stewart PS, 2003. Diffusion in Biofilm. *Journal of Bacteriology*, 185 (5): 1485-1491. DOI: 10.1128/JB.185.5.1485-1491.
- Uslu O ve Türkmen A, 1987. Su Kirliliği ve Kontrolü. T. C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi, s. 151, Ankara-Türkiye.
- Van Der Hoek JP, Kappelhof JWNM, Hijnen WAM, 1992. Biological Nitrate Removal From Groundwater by Sulphur/Limestone Denitrification. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 54 (2): 197-200.
- Van Der Hoek JP, Van Der Ven PJM, Klapwijk A, 1988. Combined Ion Exchange/Biological Denitrification for Nitrate Removal From Ground Water Under Different Process Conditions. *Water Research*, 22 (6): 679-684.
- Van Rijn J, Tal Y, Schreier HJ, 2006. Denitrification in Recirculating Systems: Theory and applications. *Aquacultural Engineering*, 34 (3): 364-376.

- Van Spanning RJM, Wansel C, Harms N, Oltmann LF, Stouthamer AH, 1990. Mutagenesis of Gene Encoding Cytochrome c550 of *Paracoccus denitrificans* and Analysis of The Resultant Physiological Effects. *Journal of Bacteriology*, 172 (2): 987-996.
- Wakao N, Endo K, Mino K, Sakurai Y, Shiota H, 1994. Immobilization of *Thiobacillus ferrooxidans* Using Various Polymers as Matrix. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 40: 349-358
- Wang J, Chu L, 2016. Biological Nitrate Removal From Water and Wastewater by Solid-Phase Denitrification Process. *Biotechnology Advances*, 34: 1103-1112.
- Wang R, Feng Q, Liao T, Zheng X, Butterbach-Bahl K, Zhang W, Jin C, 2013. Effects of Nitrate Concentration on The Denitrification Potential of a Calcic Cambisol and Its Fractions of N₂, N₂O and NO. *Plant Soil*, 363: 175-189.
- Wijffels RH, Hunik JH, Leenen EJTM, Günther A, Obon de Castro JM, Tramper J, Englund G, Bakketun A, 1995. Effects of Diffusion Limitation on Immobilized Nitrifying Microorganisms at Low Temperatures. *Biotechnology and Bioengineering*, 45:1-5
- Wilderer PA, 1995. Technology of Membrane Biofilm Reactors Operated Under Periodically Changing Process Conditions. *Water Science and Technology*, 31 (1): 173-183.
- Xu Y, Qiu TL, Han ML, Li J, Wang XM, 2011. Heterotrophic Denitrification of Nitrate-Contaminated Water Using Different Solid Carbon Sources. *Procedia Environmental Sciences*, 10 (1): 72-77.
- Xu ZX, Shao L, Yin HL, Chu HQ, Yao YJ, 2009. Biological Denitrification Using Cornobs as a Carbon Source and Biofilm Carrier. *Water Environment Research*, 81 (3): 242-247.
- Yang PY, Ma T, See TS, Nitisaravut N, 1994. Applying Entrapped Mixed Microbial Cell Techniques for Biological Wastewater Treatment. *Water Science and Technology*, 29 (10-11): 487-495.
- Zhang H, Zhao Z, Chen S, Kang P, Wang Y, Feng J, Jia J, Yan M, Wang Y, Xu L, 2018. *Paracoccus versutus* KS293 Adaptation to Aerobic and Anaerobic Denitrification: Insights From Nitrogen Removal, Functional Gene Abundance, and Proteomic Profiling Analysis. *Bioresource Technology*, 260:321-328.
- Zhang TC, Bishop PL, 1994. Experimental Determination of The Dissolved Oxygen Boundary Layer And Mass Transfer Resistance Near The Fluid-Biofilm Interface. *Water Science and Technology*, 30 (11): 47-58.
- Zhu, SM, Deng YL, Ruan YJ, Guo XS, Shi MM, Shen JZ, 2015. Biological Denitrification Using Poly(Butylene Succinate) as Carbon Source and Biofilm Carrier for Recirculating Aquaculture System Effluent Treatment. *Bioresource Technology*, 192: 603-610.

Atf İçin: Bingul Z, 2021. The Use of Waste Green Tea Leaves for Crystal Viyole Adsorption: Kinetic, Equilibrium and Thermodynamics Studies. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2645-2659.

To Cite: Bingul Z, 2021. The Use of Waste Green Tea Leaves for Crystal Viyole Adsorption: Kinetic, Equilibrium and Thermodynamics Studies. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2645-2659.

The Use of Waste Green Tea Leaves for Crystal Viyole Adsorption: Kinetic, Equilibrium and Thermodynamics Studies

Züleyha BİNGÜL^{1*}

ABSTRACT: In this study; the adsorption of crystal violet (CV) dyestuff in cationic form on waste green tea leaves was investigated and the effects of adsorbent particle size, initial dyestuff concentration, stirring speed, initial pH, temperature and adsorbent amount on adsorption capacity and dye removal efficiency were optimized. To determine the characterization of waste green tea leaves, pH_{pzc} analysis was performed and pH_{pzc} of waste green tea leaves was determined as 5.511. In adsorption of CV dye on waste green tea leaves, the highest dye removal efficiency was obtained at the natural pH (5.58) of the solution. As the initial dye concentration increased, the amount of dye adsorbed per unit adsorbent increased, while the dye removal efficiency decreased. It has been observed that increasing temperature decreases the adsorption capacity. While CV adsorption capacity of waste green tea leaves was 227.049 mg g⁻¹ at 0.1 g L⁻¹ adsorbent dosage, CV adsorption capacity decreased to 8.788 mg g⁻¹ at 5 g L⁻¹ adsorbent dosage. Freundlich, Langmuir, Halsey and Dubinin-Radushkevich models were used for mathematical modeling of adsorption equilibrium on CV adsorption. The degree of suitability of isotherms for adsorption of CV dye is Freundlich>Halsey>Langmuir>Dubinin-Radushkevich, respectively. Two different kinetic models (pseudo-first-order and pseudo-second-order) were used for the kinetic data, and the calculated kinetic parameter constants showed that the adsorptions fit the pseudo-second-order kinetic model. In addition, thermodynamic parameters of CV adsorption showed that the adsorption process occurs spontaneously ($\Delta G_0 < 0$) and is exothermic ($\Delta H_0 > 0$).

Keywords: Adsorption, isotherm, kinetic, thermodynamic, waste green tea

¹Züleyha BİNGÜL ([Orcid ID: 0000-0003-2472-9077](https://orcid.org/0000-0003-2472-9077)), İğdır Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, İğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Züleyha BİNGÜL, e-mail: zuleyha.bingul@igdir.edu.tr

INTRODUCTION

Dye is a fluid material formed by the combination of solvents, pigments, fillers and additives added to a binder, and at the same time forms a very thin layer by clinging to the surface on which it is applied (Arslan et al., 2021). Approximately 15% of dyes, which are used in a variety of sectors to provide color to products such as cosmetics, textiles, carpets, food, plastic, printing and paper are discharged as waste into the aquatic environment (Önal et al., 2017; Jawad et al., 2020). The presence of dyes in aquatic environments not only causes aesthetic problems but also decreases light penetration, photosynthetic activity and oxygen productivity in water (Meghwal et al., 2020; Yu et al., 2020). In addition, dyes cause toxic effects by accumulating on fish and other aquatic organisms living in water sediments. In the short term, dyes cause asthma, allergic reactions, jaundice, skin irritation in humans, as well as long-term carcinogenic and mutagenesis effects (Hasanzadeh et al., 2020; Liu et al., 2020; Hasan et al., 2021).

Crystal violet (CV) is a cationic and water-soluble dye that belongs to the triarylmethane dye family. It's commonly utilized in the textile and dyeing industries, as well as dermatology, medicine, veterinary medicine, ink manufacture and the plastics industry. It is also used in gram staining to classify microorganisms and as a food additive. CV, on the other hand, is a carcinogenic, mutagenic, and poisonous dye. Because it is not biodegradable, it lasts a long period in the environment. Exposure to CV dye causes skin and eye irritation, kidney and respiratory failure (Chakraborty et al., 2011; Shoukat et al., 2017). For these reasons, CV should be removed from wastewater before it is discharged into the receiving environment to protect human health and water resources.

To remove dyes from wastewater, many technologies such as electrolysis (Liu et al., 2020), electro dialysis (Lafi et al., 2019), flocculation (Zhao et al., 2020), oxidation (Güzel et al., 2017), adsorption (Farizoglu et al., 2019), membrane process (Yang et al., 2018) and ion exchange (Joseph et al., 2020) are utilized. Adsorption, which is one of these methods, is the most preferred method in terms of simplicity, ease of use and cost.

Adsorption is a surface phenomenon based on the interaction between adsorbates in the gas or liquid phase and adsorbents in the solid phase. The efficiency, capacity and reusability of the adsorbent material depend on the functional groups on the adsorbent surface. It is very important to use economical and highly efficient adsorbents in adsorption applications (Afroze and Sen, 2018). Adsorbents, which are abundant in nature, require very little processing, and are industrial waste or by-products, are defined as economic adsorbents (Zuorro and Lavecchia, 2010). Many investigations on the use of carbon-containing agricultural by-products and wastes as an alternative adsorbent in wastewater treatment have been done in recent years. In these studies, agricultural waste such as coconut shell (Ayub and Changani, 2014), cherry kernel (Altun, 2019), olive kernel (Jamshidi et al., 2013), almond shell (Duran et al., 2011), peach shell (Markovic et al., 2015), apricot shell (Namal and Kalipci, 2020), waste tea (Cherdchoo et al., 2019), cotton stalk (Deng et al., 2011) were used as adsorbent and their adsorption capacities were investigated.

Waste green tea, a type of agricultural waste, is an alternative low-cost adsorbent for dye removal from wastewater. The green tea plant, called *Camellia sinensis*, is native to South-East Asia. They are pale-colored, unfermented leaves with a slightly bitter flavor. It has beneficial effects on health such as anticancer, antibacterial, anti-inflammatory, lowering cholesterol level and also helps to lose weight. Extracts from it are utilized in a variety of beverages, cosmetic products, nutritional supplements and health foods. Also, the green tea plant is a species of plant whose leaves are used to make tea, and after making tea, the leaves are considered waste and thrown away (Jeyaseelan and

Gupta, 2016). Therefore, it is important to use such wastes as adsorbents, which causes disposal problems (Burca et al., 2016; Indolean et al., 2017).

In this study, waste green tea leaves were used for dye removal from aqueous solutions by the adsorption method. Adsorption studies were carried out using crystal violet, a cationic dye. The effect of contact time, dye concentration, adsorbent amount, temperature, initial pH and stirring speed on dye removal has been studied and optimized.

MATERIALS AND METHODS

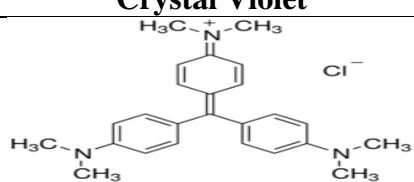
Preparation of The Adsorbent

Waste green tea was used as an adsorbent in the study. The green tea leaves were purchased at a local market. Typically, green tea leaves were steeped in 100 °C boiled water for 5 minutes. After being used as the tea, the waste leaves were washed until a colorless filtrate was obtained and rinsed with distilled water. It was then dried in an oven at 105 °C for 24 hours. Finally, dried green tea leaves were ground in a grinder and passed through sieves of various grain sizes to obtain adsorbents with different particle sizes ranged from 75 to 500 µm.

Chemicals

In the study, crystal violet (Sigma Aldrich), a cationic dye was used as adsorbate. The characteristic properties and molecular structure of CV is given in Table 1.

Table 1. Characteristics of crystal violet

Name	Crystal Violet
Structural formula	
Molecular formula	C ₂₄ H ₂₈ N ₃ Cl
Molecular weight	393.95 g/mol
CAS Number	122965-43-9
Dye class	Triethylmetan
λ _{max} (nm)	579

1000 mg L⁻¹ CV stock solution was prepared and then the desired concentrations were obtained by diluting this solution with distilled water in the experiments. 0.1 N HCl (Sigma Aldrich, 36-38%) and 0.1 N NaOH (Sigma Aldrich) were used to adjust the pH of the solutions. The chemicals used are of analytical purity.

Point of zero charge (pH_{pzc})

The point of zero charge (pH_{pzc}) of the waste green tea leaf was determined using 0.01M NaCl concentration series (50 mL). 0.1M NaOH or 0.1M HCl were used to adjust the pH between 2.0 and 12.0. After that, 0.15 g of waste green tea leaves was added to the solutions and shaken at 200 rpm for 48 hours. The final pH values of the samples were measured. The initial pH has been plotted versus the ΔpH (initial pH-final pH). The pH_{pzc} was determined by intersecting the resulting curve with the abscissa (Degermenci et al. 2019).

Experimental procedure

Adsorption experiments were carried out with 100 mL dye solution in 250 mL flasks. In the study, contact time (3-120 min), initial dye concentration (25-150 mg L⁻¹), pH (2-12), amount of adsorbent (0.1-5 g L⁻¹), size of adsorbent (75-125, 125-180, 180-500 and >500 µm), temperature (25-

55 °C) and stirring speed (100-400 rpm) were optimized. 50 mg L⁻¹ dye solution was mixed at natural pH, 25 °C and 200 rpm constant stirring speed for equilibrium time after adding 2.5 g L⁻¹ biosorbent. The pH measurements of the samples were performed with pH meter (WTW Multi 3620 IDS SET C) electrometrically according to TS EN ISO 10523 standard. The samples taken at certain time intervals were filtered with filter paper and the absorbance values were determined with a spectrophotometer at the wavelength where the dyes showed maximum absorbance (at the wavelengths of 579 nm for CV). After determining the optimum operating parameters at which the maximum removal efficiency is achieved, isotherm, kinetic and thermodynamic studies were carried out with the obtained data.

RESULTS AND DISCUSSION

pH_{pzc}, which expresses the pH value at which the electrical charge density on the adsorbent surface is zero, is an important parameter for the adsorption process as it determines the charge of the active sites interacting with organic molecules. If the pH value of the solution is greater than pH_{pzc} (pH > pH_{pzc}), the adsorbent surface is negatively charged and cationic dyes are retained while anionic dyes are pushed from the surface due to electrostatic interaction. On the contrary, if the pH value of the solution is lower than pH_{pzc} (pH < pH_{pzc}), the adsorbent surface is positively charged and while the anionic dyestuffs containing the carboxyl functional group are kept on the surface very effectively, the cationic dyestuffs are repelled (Stavrinou et al., 2018). In the study, the pH_{pzc} of waste green tea leaves used as adsorbent, was read as 5.511 from the X-axis cut-off point of the drawn curve (Figure 1).

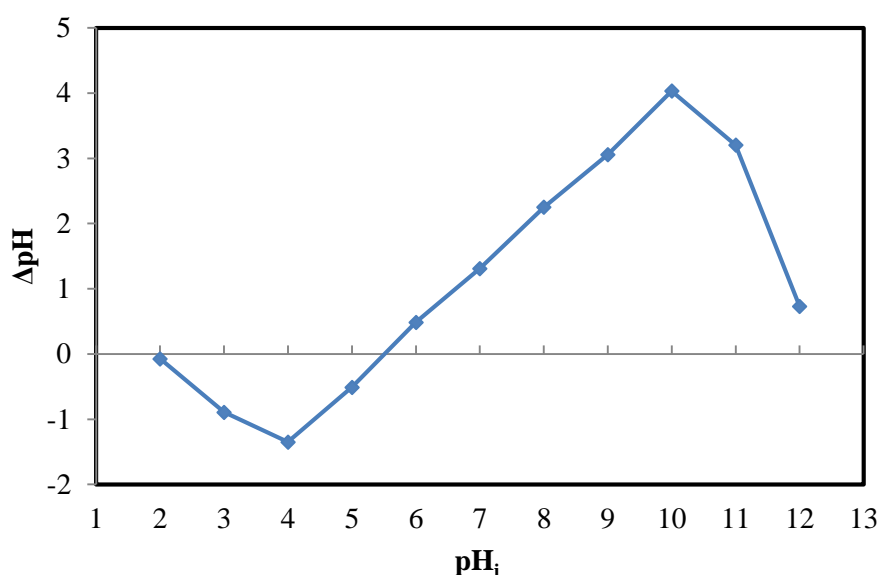


Figure 1. Zero load point of waste green tea leaves

pH is an important parameter that has an effect on dye solubility in solution and adsorbent surface charge (Kazemia and Javanbakht, 2020). In the study, the effect of initial pH on adsorption of CV dye was investigated by changing the initial pH between 2-12 for dye concentration of 50 mg L⁻¹ and adsorbent dose of 2.5 g L⁻¹. The dye removal efficiencies obtained are shown graphically in Figure 2. The CV removal efficiency from the aqueous solution is 40.71% at pH 2, 70.39% at pH 4, 80.33% at pH 10 and 85.69% at natural pH (5.58). The results show that the removal efficiency of CV, which is a cationic dye, is low at acidic pH and increases with increasing pH. Also, pH_{pzc} of waste green tea leaves was read as 5.511 from Figure 1. When pH > pH_{pzc}, the adsorbent surface is negatively charged. As a result of the electrostatic interaction between the negatively charged surface and the positively

charged organic molecules, CV adsorption was more efficient at $\text{pH} > 5.511$. The results are also supported by the results obtained in the study by Silva et al (2020).

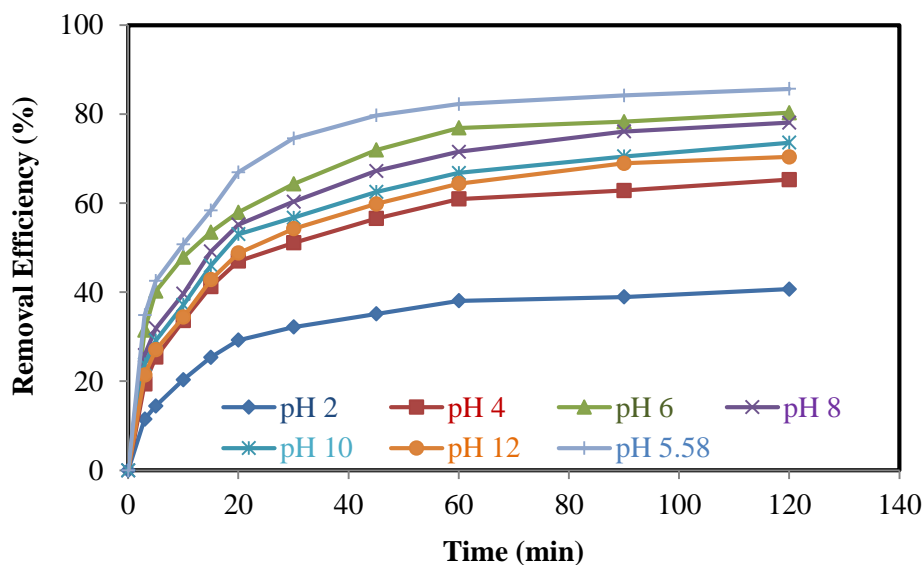


Figure 2. Change of CV removal efficiency with initial pH as a function of time

The stirring speed of the adsorbent/adsorbate system is a factor that affects the adsorption process as it reduces the surface film resistance of the adsorbent particle. The effect of stirring speed on the adsorption of CV was examined for 100, 200, 300 and 400 rpm stirring speeds and the removal efficiencies obtained are shown in Figure 3.

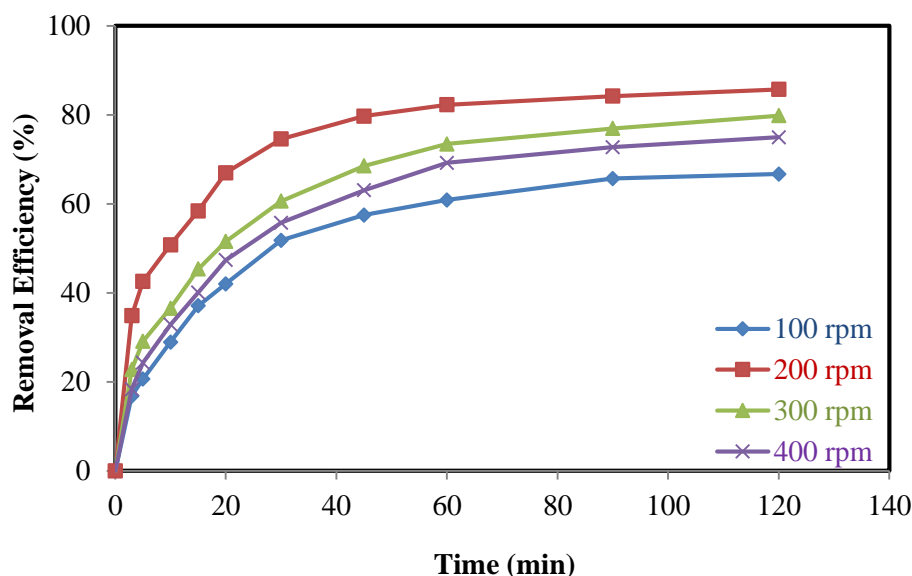


Figure 3. Change of CV removal efficiency with stirring speed as a function of time

While the dye removal efficiency is 66,67% at 100 rpm stirring speed, it is 85.69% at 200 rpm stirring speed. When the mixing speed was increased from 100 rpm to 200 rpm, the adsorbent showed a more homogeneous distribution in the solution and the mass transfer rate of dye molecules on waste green tea leaves increased (Harrache et al., 2019). When the mixing speed is increased to 300 and 400 rpm, a vortex has formed in the suspension and the homogeneity has deteriorated (Tang et al., 2017). Similar results were also obtained in the study conducted by Kul (2021).

Particle size is an important parameter in the diffusion of solutes to adsorbents, as it affects the available surface area for adsorption and the mass transfer rate. The effect of adsorbent particle size on

the adsorption of CV dyestuff was investigated for particle sizes of 75, 125, 180 and >500 μm . The dye removal efficiencies obtained in the experiments are given in Figure 4. The crystal violet removal efficiencies at 75, 125, 180 and >500 μm particle sizes were 69.21%, 65.42%; 59.91% and 49.99%, respectively. As the particle size decreased, the dye removal efficiency showed an increasing trend. This is because the adsorption process is controlled by the surface area available for adsorption. In this case, the adsorption capacity is low as the larger particles have a smaller surface area. Small particles, on the other hand, have a large surface area, and therefore their adsorption capacity is high (Felista et al., 2020).

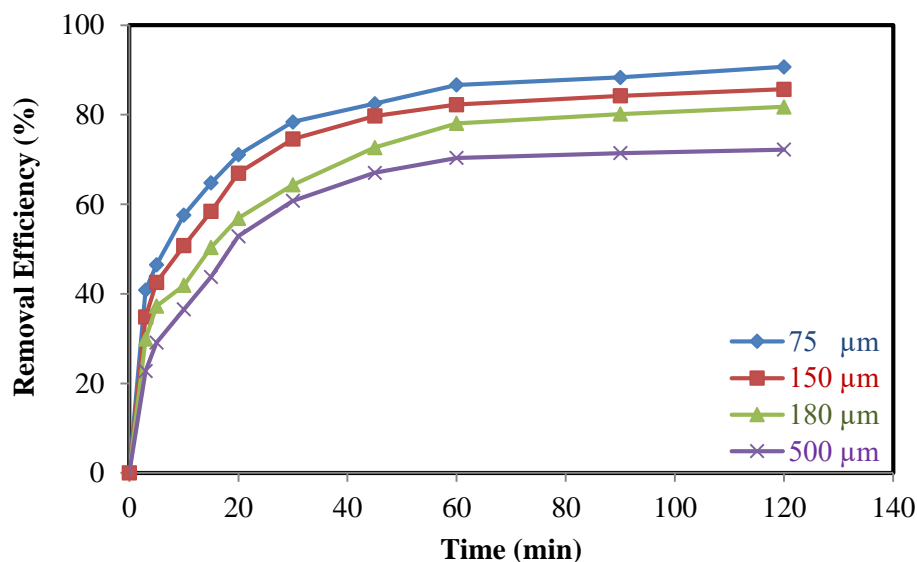


Figure 4. Change of CV removal efficiency with adsorbent particle size as a function of time

The amount of adsorbent is an important variable in the adsorption process since it increases the total surface area and active sorption sites. In the study, the effect of the amount of adsorbent on the adsorption of CV dyestuff was investigated for five different adsorbent amounts of 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2 and 3 g L^{-1} . The experiments were carried out at 25 $^{\circ}\text{C}$, 200 rpm stirring speed, initial dye concentration of 50 mg L^{-1} and natural pH (5.58) conditions. The obtained dye removal efficiencies and the amount of dye adsorbed per unit adsorbent is shown in Figure 5.

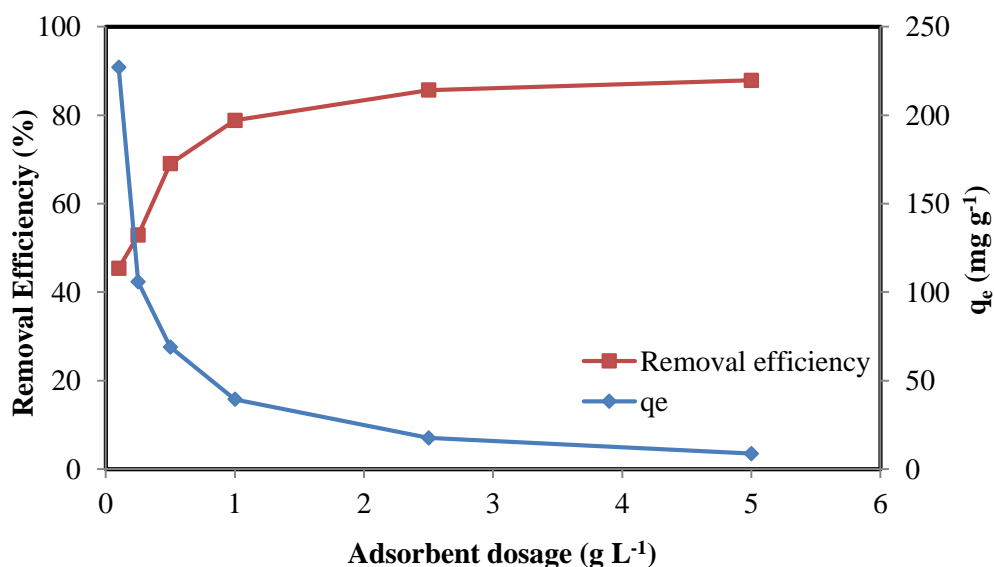


Figure 5. Change of removal efficiency and q_t versus adsorbent concentration in CV adsorption

When the amount of adsorbent was increased from 0.1 g to 5 g, the dye removal efficiency increased from 45.40% to 87.88%, while the amount of dye adsorbed per unit adsorbent decreased from 227.049 mg g⁻¹ to 8.788 mg g⁻¹. The higher percentage of dye adsorption with the increase in the amount of adsorbent is attributed to the availability of more binding sites for adsorption. Similar results have been found in adsorption of methylene blue on kaolin (Mouni et al., 2018).

The initial dye concentration is the driving force for the mass transfer that occurs in the adsorption process. The effect of the initial dye concentration on adsorption of CV dyestuff was investigated at dye concentrations ranging from 25 to 150 mg L⁻¹. The results obtained are shown in Figure 6.

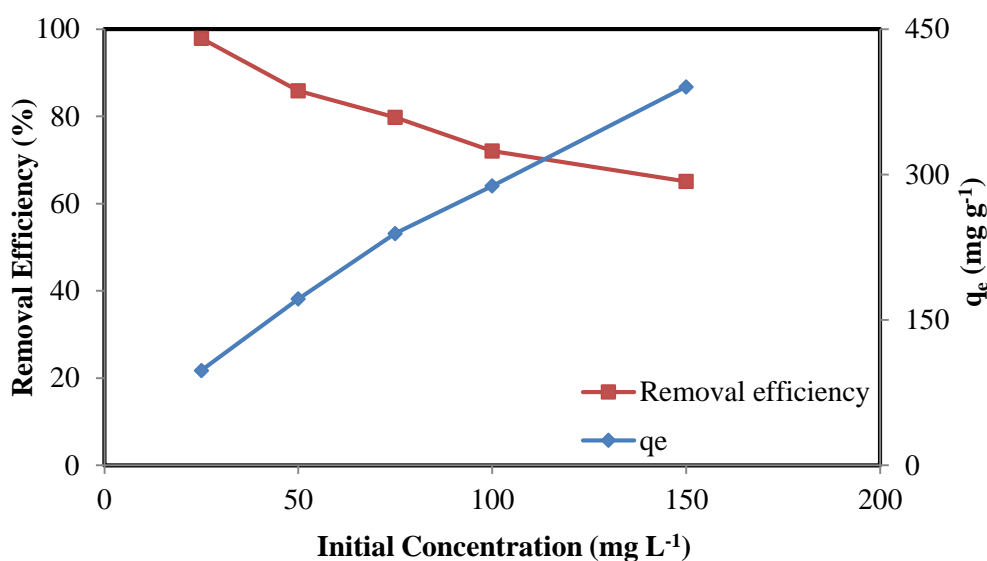


Figure 6. Change of q_t and dyestuff removal efficiencies versus initial CV concentration

While the dye removal efficiency was 97.88% at 25 mg L⁻¹, it decreased to 79.76% at 75 mg L⁻¹ and to 65.07% at 150 mg L⁻¹. While the amount of dye adsorbed per unit adsorbent was 97.876 mg g⁻¹ at 25 mg L⁻¹, it increased to 239.273 mg g⁻¹ at 75 mg L⁻¹ and to 390.438 mg g⁻¹ at 150 mg L⁻¹. As the initial concentration increased, the dye removal efficiency decreased, while the amount of dye adsorbed per unit adsorbent increased. The reason for this is that the number of active sites that will hold the dye molecules does not change as the dye concentration increases (Birhanu et al., 2020). At low initial concentrations, the ratio of active sites on the adsorbent surface to dye molecules is high, and therefore the interaction of dye molecules with the adsorbent is higher (Bingul et al., 2016; Hamzezadeh et al., 2020). Therefore, the removal percentage is higher at low dyestuff concentrations. At high initial concentrations, the removal efficiency decreases as the active sites on the adsorbent surface reach saturation. A similar trend was reported by Nuhoglu et al. (2021).

Temperature is a parameter affecting the adsorption capacity and diffusion rate of dye molecules (Bingul and Adar, 2021). The effect of temperature on the adsorption of CV dyestuff was investigated at different temperatures between 25°C and 55°C and the results are presented in Figure 7. The percentage of dye removal decreased from 85.69% to 68.69% when the temperature increased from 25 °C to 55 °C. The decreasing trend of CV adsorption with increasing temperature indicates that the bonding forces on the surface deteriorate at high temperature and the adsorption is exothermic. The solubility of the dye increased as the temperature increased, causing the interaction between the solute and the solvent to be stronger than the interaction between the solute and the adsorbent, making adsorption of the solute more difficult (Alshabanat et al., 2013; Shoukat et al., 2017). A similar trend was reported by Kumari et al. (2017).

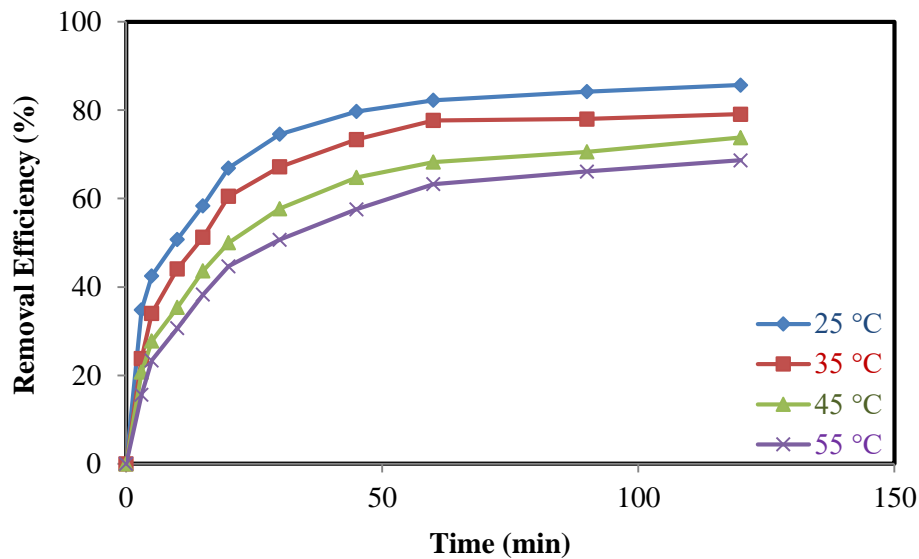


Figure 7. Change of CV removal efficiency with temperature as a function of time

Adsorption isotherms

In adsorption studies, mathematical equations of adsorption isotherm models are used to provide a connection between the dye molecules adsorbed and the dye molecules in the solution at equilibrium (Shanmugaprasath et al., 2014). In this study, Freundlich, Langmuir, Halsey, and Dubinin–Radushkevich isotherm models were used to describe experimental data obtained in adsorption of CV on waste green tea leaves at different initial dye concentrations ranging from 25 to 150 mg L⁻¹. The results are shown in Table 2 and Fig. 8.

Langmuir, Freundlich, Halsey and Dubinin–Radushkevich isotherm models are given in Eq. 1-4, respectively.

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{q_m K_L C_e} \quad R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (1)$$

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (2)$$

$$\ln q_e = \frac{1}{n_H} \ln K_H - \frac{1}{n_H} \ln C_e \quad (3)$$

$$\ln q_e = \ln q_m - \beta \varepsilon^2 \quad \varepsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \quad E = \frac{1}{\sqrt{2B}} \quad (4)$$

Where, q_e is amount of dye adsorbed per unit adsorbent at equilibrium (mg g⁻¹), K_L is Langmuir isotherm constant (L mg⁻¹), C_e is concentration of dye in solution at equilibrium (mg L⁻¹), q_m is the maximum monolayer adsorption capacity (mg g⁻¹), K_F is the Freundlich adsorption constant, n is heterogeneity factor, β is Dubinin-Radushkevich isotherm constant (mol² kJ⁻²), ε is potential energy, E is adsorption energy (kJ mol⁻¹), T is temperature (K), R is gas constant (J mol⁻¹ K⁻¹), K_H is Halsey isotherm constant and n_H is the Halsey exponent.

The degree of suitability of isotherms for CV is Freundlich>Halsey>Langmuir>Dubinin-Radushkevich, respectively. The Freundlich isotherm is an empirical relationship that demonstrates the interaction between adsorbate molecules and heterogeneous surfaces (Safa and Bhatti, 2011). The smaller $1/n$, the greater the expected heterogeneity. If $1 < n < 10$, it indicates a suitable sorption process (Liu and Wang, 2013). If the n value is also below one ($n < 1$), the adsorption is chemical, if the value is above one ($n > 1$), the adsorption is physical (Ajenifuja et al., 2017). The $1/n$ value was computed as

0.2929 using the data in Table 2, and the fact that it is close to 0 shows that the adsorbent is heterogeneous. The n value was calculated to be 3.4141, indicating a physical adsorption process.

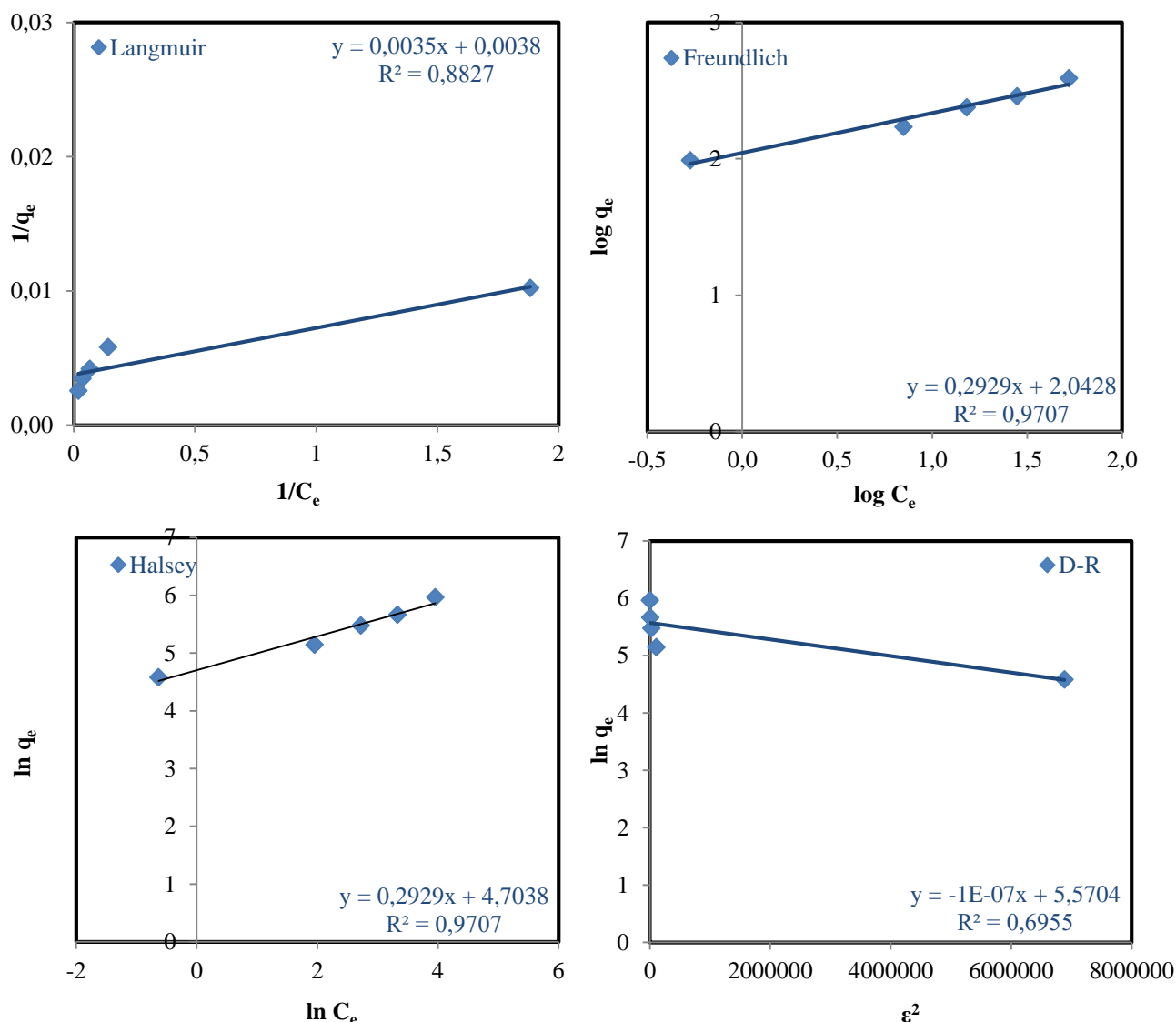


Figure 8. Adsorption isotherm models

Table 2. Isotherm constants

Isotherm constants	Values	Isotherm constant	Values
Langmuir isotherm		Freundlich isotherm	
q_m (mg g ⁻¹)	263.158	n	3.4141
K_L (L mg ⁻¹)	1.086	K_F	1.963
R^2	0.883	R^2	0.971
Dubinin–Radushkevich isotherm		Halsey isotherm	
q_m (mg g ⁻¹)		K_H	0.213
β (mol ² kJ ⁻²)	$1 \cdot 10^{-7}$	n_H	3.4141
E (kJ mol ⁻¹)	2.236	R^2	0.971
R^2	0.695		

The Langmuir isotherm model is a monolayer adsorption model that determines the equilibrium distribution of contaminants between solid and liquid phases (Miyah et al., 2017). R_L is a dimensionless constant and is an important parameter for the Langmuir isotherm, which shows the suitability of the adsorption process. If $0 < R_L < 1$, adsorption is suitable, if $R_L > 1$ is not suitable, if $R_L = 1$

is linear, and if $R_L=0$, adsorption is irreversible. The R_L value for an initial dye concentration of 50 mg L^{-1} is 0.0181, greater than 0 but less than 1. This value shows that the adsorption process is suitable for CV and the adsorption process occurs spontaneously.

The Halsey isotherm confirms the heterogeneity of the adsorbent structure. It is seen from Figure 8 and Table 2 that the experimental data fit the Halsey isotherm model. Fitting the experimental data to the Halsey isotherm also confirms the heterogeneous nature of waste green tea leaves.

To determine the kind of adsorption process, the Dubinin–Radushkevich (D–R) isotherm is used. If the activation energy value is between $1\text{--}8 \text{ kJ mol}^{-1}$, the adsorption is physical, if it is greater than this value, the adsorption is chemical (Amin et al., 2015). The E value calculated in this study is 0.8 kJ mol^{-1} and the adsorption of CV on waste green tea leaves is physical.

Adsorption kinetics

Adsorption kinetics is a critical factor in determining optimum operating conditions (Akram et al., 2017). The pseudo-first-order and pseudo-second-order kinetics were used in order to investigate the mechanism of CV adsorption onto waste green tea leaves and the results are shown in Fig. 9 and Table 3. The pseudo-first-order is given in Eq. 5 and pseudo-second-order kinetic is given in Eq 6.

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - \frac{k_1 t}{2.303} \quad (5)$$

$$\frac{1}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} \quad (6)$$

Where, k_1 is the pseudo-first-order rate constant (min^{-1}), q_t is amount of dye adsorbed at any time t (mg g^{-1}), k_2 is the pseudo-second-order rate constant ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$) and t is adsorption time (min.). According to Figure 9 and Table 3, the pseudo-second-order kinetic model was determined to be more suitable to explain the adsorption.

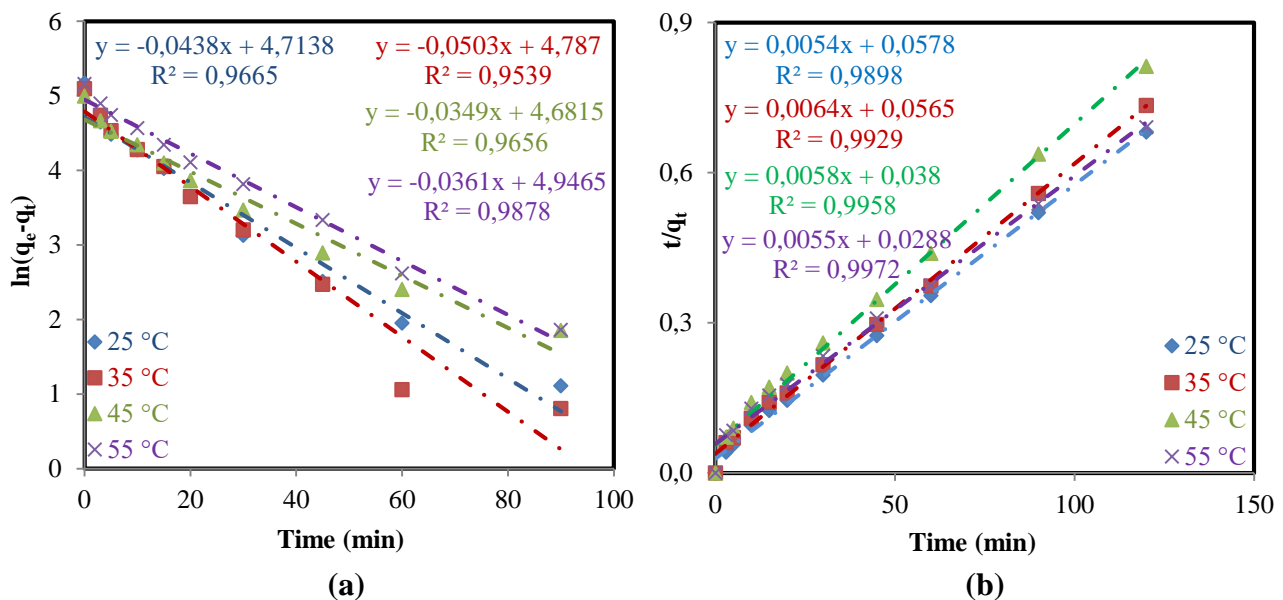


Figure 9. (a) First-order plot (b) Second-order plot for the adsorption of CV on waste green tea

Table 3. Kinetic parameters for adsorption of CV on waste green tea

T (K)	Pseudo-first-order kinetic model			Pseudo-second-order kinetic model		
	k_1 (min^{-1})	q_e (mg g^{-1})	R^2	k_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$)	q_e (mg g^{-1})	R^2
298	0.0438	111.475	0.9665	0.0005045	185.18500	0.9898
308	0.0503	119.941	0.9539	0.0007250	156.25000	0.9929
318	0.0349	107.932	0.9656	0.0008850	172.41400	0.9958
328	0.0361	140.682	0.9878	0.0010500	181.81800	0.9972

Adsorption thermodynamics

Thermodynamic calculations are made to understand the nature of the adsorption process (Akram et al., 2017). Gibbs free energy (ΔG^0), enthalpy (ΔH^0), and entropy (ΔS^0) change are calculated according to Equations 7 and 8, respectively. Figure 10 shows graphs of $\ln(k_2)$ and $\ln(K_c)$ as a function of time. The enthalpy, entropy and activation energy values found from these graphs are given in Table 4. Where K_c is the equilibrium constant of adsorption

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_c \quad (7)$$

$$\ln K_c = \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT} \quad (8)$$

The negative ΔG^0 value indicates that the adsorption is spontaneous, and the negative ΔH^0 value indicates that the adsorption is exothermic (İrdemez et al., 2021). The negative value of ΔS^0 indicates that the randomness at the solid/solution interface has reduced. In the study, ΔG^0 values for 298, 308, 318 and 328 K temperatures were calculated as -4.435, -3.409, -2.738 and -2.142 kJ mol^{-1} , respectively. The ΔH^0 value was found to be -26.798 kJ mol^{-1} and the ΔS^0 value as -0.076 kJ mol^{-1} . Changes in entropy, enthalpy and free energy indicated that the adsorption of CV was exothermic and spontaneous.

Activation energy is important in determining whether the adsorption process is physical or chemical. If the activation energy is between 5-40 kJ mol^{-1} , adsorption indicates physical adsorption, and if this value is between 40-800 kJ mol^{-1} , adsorption indicates chemical adsorption. The Arrhenius equation given in Equation 9 is used to calculate the activation energy. The E_a value was also calculated as 19.5790 kJ mol^{-1} , which is an indication that the adsorption of CV on waste green tea leaves is physical. Where A is Arrhenius constant ($\text{g mol}^{-1} \text{h}^{-1}$), E_a is activation energy (J mol^{-1})

$$\ln k_2 = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (9)$$

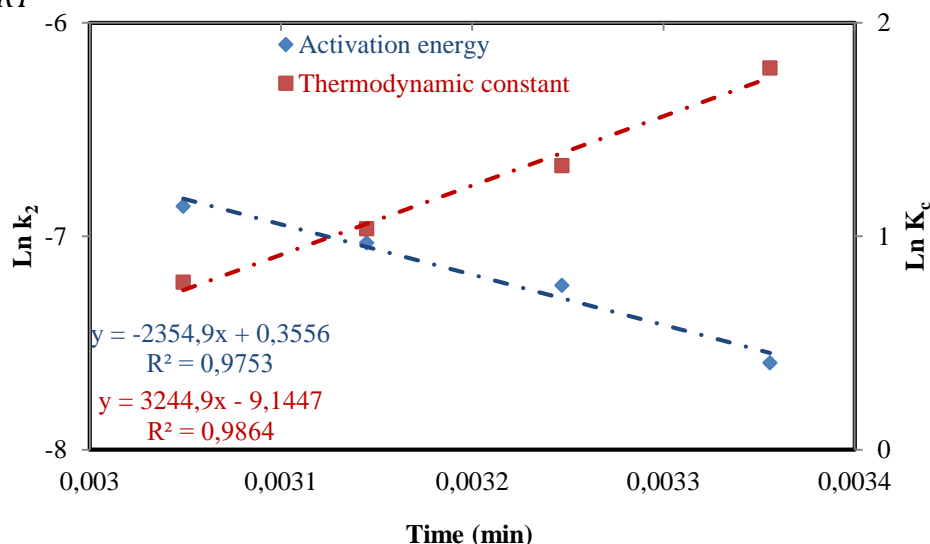
**Figure 10.** The graphs drawn to find activation energy and thermodynamic constants

Table 4. Thermodynamic parameters

T (K)	ΔG (Kj mol ⁻¹)	ΔS (Kj mol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔH (kJ mol ⁻¹)	E_a (kJ mol ⁻¹)
298	-4.43472			
308	-3.40855	-0,0760	-26.9780	19.5790
318	-2.73820			
328	-2.14237			

CONCLUSIONS

In this study; the adsorption capacity of waste green tea leaves and their use as an adsorbent in the removal of dyestuffs from aqueous solutions were investigated. Natural pH (5.58), the particle size of 75 μm , stirring speed of 200 rpm and 25 C° were determined as optimum conditions. It was observed that dye removal efficiency increased as contact time, pH and adsorbent dose were increased. Conversely, adsorption of CV dye decreased with increasing initial dye concentration, stirring speed, temperature, and particle size. Adsorption of CV dye on waste green tea leaves fitted the Freundlich and Halsey isotherm models better than the others. According to kinetic studies, the experimental findings fit well on the pseudo-second-order kinetic model. Changes in entropy, enthalpy and free energy, indicated that the adsorption of CV dyes was exothermic, spontaneous and physisorption. The obtained results showed that waste green tea leaves can be used as a low-cost adsorbent for dye removal from wastewater.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Afroze S, Sen TK, 2018. A review on heavy metal ions and dye adsorption from water by agricultural solid waste adsorbents. *Water Air Soil Pollution*, 229(225).
- Ajenifuja E, Ajao JA, Ajayi EOB, 2017. Adsorption isotherm studies of Cu (II) and Co (II) in high concentration aqueous solutions on photocatalytically modified diatomaceous ceramic adsorbents. *Applied Water Science*, 7: 3793–3801.
- Akram M, Bhatti NH, Iqbal M, Noreen S, Sadaf S, 2017. Biocomposite efficiency for Cr(VI) adsorption: Kinetic, equilibrium and thermodynamics studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(1): 400-411.
- Alshabanat M, Alsenani G, Almufarj R, 2013. Removal of crystal violet dye from aqueous solutions onto date palm fiber by adsorption technique. *Journal of Chemistry*.
- Altun T, 2019. Chitosan-coated sour cherry kernel shell beads: an adsorbent for removal of Cr(VI) from acidic solutions. *Journal of Analytical Science and Technology*, 10: 14.
- Amin MT, Alazba AA, Shafiq M, 2015. Adsorptive removal of reactive black 5 from wastewater using bentonite clay: Isotherms, kinetics and thermodynamics. *Sustainability*, 7(11): 15302-15318.
- Arslan R, Tozluoğlu A, Sertkaya S, Fidan H, Küçük S, 2021. Functionalized nanocellulose based adsorbents for dye removal from wastewater. *Artvin Coruh University Journal of Forestry Faculty*, 22(1): 148-160.
- Ayub S, Changani F, 2014. Adsorption process for wastewater treatment by using coconut shell. *International Journal of Civil, Structural, Environmental and Infrastructure Engineering Research and Development*, 4(3): 21-34.

- Bingul Z, Adar E, 2021. Usability of spent *Salvia officinalis* as a low-cost adsorbent in the removal of toxic dyes: waste assessment and circular economy. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*.
- Bingul Z, Gurbuz H, Aslan A, Ercisli S, 2016. Biosorption of zinc (II) from aqueous solutions by nonliving lichen biomass of *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. *Environmental Engineering and Management Journal*, 15(12): 2733-2740.
- Birhanu Y, Leta S, Adam G, 2020. Removal of chromium from synthetic wastewater by adsorption onto Ethiopian low-cost *Odaracha* adsorbent. *Applied Water Science*, 10(11): 1-11.
- Burca S, Maicaneanu A, Indolean C, 2016. A green approach: Malachite green adsorption onto waste green tea biomass. Isotherm and kinetic studies. *Academia Romana, Revue Roumaine de Chimie*, 61: 541-547.
- Chakraborty S, Chowdhury S, Saha PD, 2011. Adsorption of crystal violet from aqueous solution onto sodium-modified rice husk. *Carbohydrate Polymers*, 86: 1533–1541.
- Cherdchoo W, Nithettham S, Charoenpanich J, 2019. Removal of Cr(VI) from synthetic wastewater by adsorption onto coffee ground and mixed waste tea. *Chemosphere*, 221: 758-767.
- Degermenci GD, Degermenci N, Ayvaoglu V, Durmaz E, Çakır D, Akan E, 2019. Adsorption of reactive dyes on lignocellulosic waste; Characterization, equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Journal of Cleaner Production*, 225: 1220-1229.
- Deng H, Lu J, Li G, Zhang G, Wang X, 2011. Adsorption of methylene blue on adsorbent materials produced from cotton stalk. *Chemical Engineering Journal*, 172(1): 326-334.
- Duran C, Ozdes D, Gundogdu A, Senturk HB, 2011. Kinetics and isotherm analysis of basic dyes adsorption onto almond shell (*prunus dulcis*) as a low cost adsorbent. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 56: 2136–2147.
- Farizoglu B, Fil BA, Sozudogru O, Aladag E, Kul S, 2019. Comparison of cationic dyes (Basic Orange 2, Basic Yellow 2 and Basic Violet 3) removal from aqueous solution using clay as an adsorbent. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(5): 3658-3666.
- Felista MM, Wanyonyi WC, Ongera G, 2020. Adsorption of anionic dye (Reactive black 5) using macadamia seed Husks: Kinetics and equilibrium studies. *Scientific African*, 7.
- Güzel F, Saygılı H, Saygılı Akkaya G, Koyuncu F, Yılmaz C, 2017. Optimal oxidation with nitric acid of biochar derived from pyrolysis of weeds and its application in removal of hazardous dye methylene blue from aqueous solution. *Journal of Cleaner Production*, 144: 260-265.
- Hamzadeh A, Rashtbari Y, Afshin S, Morovati M, Vosoughi M, 2020. Application of low-cost material for adsorption of dye from aqueous solution. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1-16.
- Harrache Z, Abbas M, Aksil T, Trari M, 2019. Thermodynamic and kinetics studies on adsorption of Indigo Carmine from aqueous solution by activated carbon. *Microchemical Journal*, 144: 180-189.
- Hasan MM, Shenashen MA, Hasan MN, Znad H, Salman MS, Awual MR, 2021. Natural biodegradable polymeric bioadsorbents for efficient cationic dye encapsulation from wastewater. *Journal of Molecular Liquids*, 323.
- Hasanzadeh M, Simchi A, Fard HS, 2020. Nanoporous composites of activated carbon-metal organic frameworks for organic dye adsorption: Synthesis, adsorption mechanism and kinetics studies. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 81: 405-414.

- Indolean C, Burca S, Maicaneanu A, 2017. Adsorptive removal of malachite green from model aqueous solutions by chemically modified waste green tea biomass. *Acta Chimica Slovenica*, 513(64): 513–521.
- İrdemez Ş, Durmuş G, Kul S, Torun FE, Bingül Z, 2021. Comparison of kinetics of Cr (III) ions removal from wastewater using raw and activated montmorillonite minerals. *EQA - International Journal of Environmental Quality*, 45: 17-26.
- Jamshidi B, Ehrampoush MH, Dehvari M, 2013. Utilization of olive kernel ash in removal of RB19 from synthetic textile wastewater. *Journal of Environmental Treatment Techniques*, 1(3): 151-157.
- Jawad AH, Abdulhameed AS, Mastuli MS, 2020. Mesoporous crosslinked chitosan-activated charcoal composite for the removal of thionine cationic dye: Comprehensive adsorption and mechanism study. *Journal of Polymers and the Environment*, 28: 1095–1105.
- Jeyaseelan C, Gupta A, 2016. Green tea leaves as a natural adsorbent for the removal of Cr(VI) from aqueous solutions. *Air, Soil and Water Research*, 9: 13-19.
- Joseph J, Radhakrishnan RC, Johnson JK, Joy SP, Thomas J, 2020. Ion-exchange mediated removal of cationic dye-stuffs from water using ammonium phosphomolybdate. *Materials Chemistry and Physics*, 242.
- Kazemia J, Javanbakht V, 2020. Alginate beads impregnated with magnetic Chitosan@Zeolite nanocomposite for cationic methylene blue dye removal from aqueous solution. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154: 1426-1437.
- Kul S, 2021. Removal of Cu(II) from aqueous solutions using modified sewage sludge ash. *International Journal of Environmental Science and Technology*.
- Kumari HJ, Krishnamoorthy P, Arumugam TK, Radhakrishnan S, Vasudevan D, 2017. An efficient removal of crystal violet dye from waste water by adsorption onto TLAC/Chitosan composite: A novel low cost adsorbent. *International Journal of Biological Macromolecules*, 96: 324-333.
- Lafi R, Mabrouk W, Hafiane A, 2019. Removal of methylene blue from saline solutions by adsorption and electro dialysis. *Membrane and Water Treatment*, 10(2): 139-148.
- Liu J, Wang X, 2013. Novel silica-based hybrid adsorbents: lead (II) adsorption isotherms. *The Scientific World Journal*.
- Liu L, He D, Pan F, Huang R, Lin H, Zhang X, 2020. Comparative study on treatment of methylene blue dye wastewater by different internal electrolysis systems and COD removal kinetics, thermodynamics and mechanism. *Chemosphere*, 238.
- Liu N, Wu Y, Sha H, 2020. Magnesium oxide modified diatomite waste as an efficient adsorbent for organic dye removal: Adsorption performance and mechanism studies. *Separation Science and Technology*, 55(2): 234–246.
- Markovic S, Stankovic A, Lopicic Z, Lazarevic S, Stojanovic M, Uskokovic D, 2015. Application of raw peach shell particles for removal of methylene blue. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(2): 716-724.
- Meghwal K, Kumawat S, Ameta C, Jangid NK, 2020. Effect of dyes on water chemistry, soil quality, and biological properties of water. *Impact of Textile Dyes on Public Health and the Environment*, 25.
- Miyah Y, Lahrichi A, Idrissi M, Boujraf S, Taouda H, Zerrouq F, 2017. Assessment of adsorption kinetics for removal potential of crystal violet dye from aqueous solutions using Moroccan pyrophyllite. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 23: 20-28.

- Mouni L, Belkhiri L, Bollinger JC, Bouzaza A, Assadi A, Tirri A, Dahmoune F, Madani K, Remini H, 2018. Removal of methylene blue from aqueous solutions by adsorption on Kaolin: Kinetic and equilibrium studies. *Applied Clay Science*, 153, 38-45.
- Namal OO, Kalipci E, 2020. Adsorption kinetics of methylene blue removal from aqueous solutions using potassium hydroxide (KOH) modified apricot kernel shells. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 100(14): 1549–1565.
- Nuhoğlu Y, Kul ZE, Kul S, Nuhoğlu Ç, Torun FE, 2021. Pb (II) biosorption from the aqueous solutions by raw and modified tea factory waste (TFW). *International Journal of Environmental Science and Technology*, 18: 2975–2986.
- Önal ES, Yatkin T, Ergüt M, Özer A, 2017. Green synthesis of iron nanoparticles by aqueous extract of *eriobotrya japonica* leaves as a heterogeneous fenton-like catalyst: Degradation of basic red 46. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 8(5): 327-333.
- Safa Y, Bhatti HN, 2011. Kinetic and thermodynamic modeling for the removal of Direct Red-31 and Direct Orange-26 dyes from aqueous solutions by rice husk. *Desalination*, 272: 313–322.
- Shanmugaprakash M, Sivakumar V, Manimaran M, Aravind J, 2014. Batch and dynamics modeling of the biosorption of Cr (VI) from aqueous solutions by solid biomass waste from the biodiesel production. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 33(2), 342-352.
- Shoukat S, Bhatti HN, Iqbal M, Noreen S, 2017. Mango stone biocomposite preparation and application for crystal violet adsorption: A mechanistic study. *Microporous and Mesoporous Materials*, 239: 180-189.
- Silva CEF, Gama BMV, Gonçalves AHS, Medeiros JA, Abud AKS, 2020. Basic-dye adsorption in albedo residue: Effect of pH, contact time, temperature, dye concentration, biomass dosage, rotation. *Journal of King Saud University-Engineering Sciences*, 32(6): 351-359.
- Stavrinou A, Aggelopoulos CA, Tsakiroglou CD, 2018. Exploring the adsorption mechanisms of cationic and anionic dyes onto agricultural waste peels of banana, cucumber and potato: Adsorption kinetics and equilibrium isotherms as a tool. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(6): 6958-6970.
- Tang J, Li Y, Wang X, Daroch M, 2017. Effective adsorption of aqueous Pb²⁺ by dried biomass of *Landoltia punctata* and *Spirodela polyrhiza*. *Journal of Cleaner Production*, 145: 25-34.
- Yang X, You F, Zhao Y, Bai Y, Shao L, 2018. Confinedly assembling surface nanocoating to manipulate nanofiltration membranes for highly-efficient dye removal. *ES Energy & Environment*, 1: 106-113.
- Yu Z, Hu C, Dichiara AB, Jiang W, Gu J, 2020. Cellulose nanofibril/carbon nanomaterial hybrid aerogels for adsorption removal of cationic and anionic organic dyes. *Nanomaterials*, 10(1): 169.
- Zhao X, Wang X, Song G, Lou T, 2020. Microwave assisted copolymerization of sodium alginate and dimethyl diallyl ammonium chloride as flocculant for dye removal. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156(1): 585-590.
- Zuorro A, Lavecchia R, 2010. Adsorption of Pb(II) on spent leaves of green and black tea. *American Journal of Applied Sciences*, 7(2):153-159.

Atf İçin: Gündoğdu S, 2021. Osteoporozla Bağlı Kifozlu Hastalara Uygulanan Egzersizlerin Oluşturduğu Denge Değişikliklerine İlişkin Veriler Kullanılarak Yapay Sinir Ağlarının Diğer Sınıflandırma Algoritmalarıyla Karşılaştırılması. İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2660-2672.

To Cite: Gündoğdu S, 2021. Comparison of artificial neural networks with other classification algorithms using data on balance changes caused by exercises applied to patients with kyphosis due to osteoporosis. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2660-2672.

Osteoporozla Bağlı Kifozlu Hastalara Uygulanan Egzersizlerin Oluşturduğu Denge Değişikliklerine İlişkin Veriler Kullanılarak Yapay Sinir Ağlarının Diğer Sınıflandırma Algoritmalarıyla Karşılaştırılması

Serdar GÜNDOĞDU^{1*}

ÖZET: Osteoporoz, sırt kas gücünde azalma, ağrı, şekil bozuklukları, esneklik kaybı, vertebral veya non-vertebral kırık oluşturması gibi nedenlerden dolayı hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir hastalıktır. Osteoporozla bağlı kifoz olan hastalarda egzersizlerin denge üzerine olumlu etkisi vardır. Bu çalışmada egzersiz etkisinin araştırılması için yapılan bir çalışmadaki veriler kullanılmıştır. Hastalara uygulanan egzersizlerin öncesi (EÖ) ve sonrası (ES) iki farklı durumu karakterize edebilecek en uygun sınıflandırıcıyı bulmak amaçlanmıştır. Sınıflandırıcılar için ihtiyaç duyulan öznitelikler, statik denge performans değerlendirme skorları (öznitelik I) ve fonksiyonel mobilite değerlendirme skorları (öznitelik II) olmuştur. 26 sınıflandırıcı performansı karşılaştırıldığında, %91.4'lik en yüksek başarı oranı öznitelik I ve öznitelik II'nin giriş olarak kullanıldığı yapay sinir ağı; %36.4'lük en düşük başarı oranı ile sadece öznitelik I nin giriş yapıldığı Kuadratik (Quadratic) destek vektör makinası (DVM) ve sadece öznitelik II'nin giriş yapıldığı Kübik (Cubic) DVM algoritmaları ile elde edilmiştir. Doğruluk oranı açısından en başarılı olan yapay sinir ağı yönteminin eğitim için harcadığı zaman diğer başarılı algoritmalara göre daha fazla olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Denge, egzersiz, makine öğrenme, yapay sinir ağı.

Comparison of artificial neural networks with other classification algorithms using data on balance changes caused by exercises applied to patients with kyphosis due to osteoporosis

ABSTRACT: Osteoporosis is a disease that negatively affects the quality of life of patients due to reasons such as decreased back muscle strength, pain, deformities, loss of flexibility, and vertebral or non-vertebral fractures. Exercises have a positive effect on balance in patients with osteoporotic kyphosis. In this study, data from a study conducted to investigate the effect of exercise were used. It is aimed to find the most appropriate classifier that can characterize two different situations before and after exercises applied to patients. The attributes needed for the classifiers were static balance performance evaluation scores (attribute I) and functional mobility evaluation scores (attribute II). When the classifier performances are compared, the highest success rate of 91.4% is artificial neural networks where attribute I and attribute II are used as inputs; with the lowest success rate of 36.4%, it was obtained with Quadratic SVM where only attribute I was logged in and Cubic SVM algorithms where only attribute II was logged in. Artificial neural network method was more time spent on education than other successful algorithms.

Keywords: Balance, exercise, machine learning, artificial neural network

¹Serdar GÜNDOĞDU ([Orcid ID: 0000-0003-2549-5284](https://orcid.org/0000-0003-2549-5284)), Dokuz Eylül Üniversitesi, Bergama Meslek Yüksekokulu, Bilgisayar Teknolojileri Bölümü, İzmir, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Serdar GÜNDOĞDU, e-mail: serdar.gundogdu@deu.edu.tr

GİRİŞ

Osteoporoz, kemik kırılabilirliğinin ve kırık olasılığının artışı, düşük kemik kütlesi, kemik mikro yapısının bozulması ile karakterize sistemik bir iskelet hastalığıdır (Alkan ve ark., 2011; Gündoğdu ve ark., 2013). Osteoporoz genellikle 45 yaşından sonra başlar ve yaş ilerledikçe görülme sıklığı artar. Çalışmalarda bölgesel farklılıklar gözlenmekte olup 50-60 yaş arası kadınlarda görülme sıklığı %40-55, 60- 70 yaş arası %75, 70 yaş üzeri ise %85-90 olarak bildirilmektedir (Walker-Bone ve ark., 2001). Osteoporoz, sırt kas gücünde azalma, ağrı, şekil bozuklukları, esneklik kaybı, vertebral veya non-vertebral kırık oluşturması gibi nedenlerden dolayı hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir (Sindel, 2002; Yılmaz ve ark., 2012). Osteoporozun yaşam kalitesine etkisi ilgi ilgili klinik çalışmalar son yıllarda yoğunlaşmıştır. Yapılan bir çalışmada osteoporoz ile ilişkili kifozu olan hastalar sağlıklı kişilerle karşılaştırıldığında denge sorunlarının daha fazla olduğu ve kas güçlerinin daha zayıf olduğu saptanmıştır (Sinaki ve ark., 2005). Denge kontrolü, duyuşal girdilerin bütünleşmesi yanında esnek hareket şekillerinin planlanması ve uygulanmasını içeren karmaşık bir motor yetenektir (Erkmen ve ark., 2007).

Osteoporoz teşhisi konulmuş hastaların rehabilitasyonunda etkili olan egzersiz temel unsurdur ve uygulanacak programın hastanın durumuna göre düzenlenmesi gerekmektedir (Bonner ve ark., 2005). Doruk kemik kütlesini maksimuma çıkarmak osteoporozun önlenmesinde ana amaçtır. Egzersiz yapmak, kemik mineral yoğunluğunun oluşmasında belirleyici faktörlerden biridir. Fiziksel olarak aktif kişilerin sedanter yaşam sürenlere göre daha yüksek kemik kütlesine sahip oldukları gözlemlenmiş olup egzersiz faaliyetlerin osteoporozda koruyucu rol oynadıkları anlaşılmıştır (Tosun ve Bölükbaşı, 2004). Osteoporoz için kuvvetlendirme egzersizleri germe egzersizleri, yüksek güçlü egzersizler, vücut ağırlığı ile yapılan egzersizler ve denge egzersizleri olmak üzere beş ayrı tipte program önerilmektedir (Eskiyurt, 2005).

Makine öğrenmesinin temel uygulama alanlarından biri olan sınıflandırma, bilinmeyen bir veri grubunu bilinen bir gruba yerleştirmekte kullanılmaktadır (Harrington, 2012). Makine öğrenmesi ile çok farklı alanlarda elde edilen veriler gruplandırılarak, sınıflandırılarak veya veriler arasındaki ilişkiler ortaya çıkarılarak yeni modeller oluşturulup geleceğe yön verilmeye çalışılmaktadır. Sınıflandırma, hayatımızın her alanında var olan çeşitli veri türlerini sınıflandırmak için kullanılan önemli bir veri madenciliği tekniğidir.

Onan'ın (2015) yaptığı çalışmada, 240 farklı şirketin finansal özellikleri içeren bir veri seti kullanarak şirket iflaslarının tahmin edilmesini ele almıştır. Elindeki verilere, tahmin etmede ve sınıflandırmada kullanılan yöntemlerden olan karar ağacına ilişkin 7 farklı algoritma uygulamıştır. Değerlendirmesine göre karar ağacının şirket iflaslarının tahmin etmede uygun bir yöntem olduğunu gözlemlemiştir (Onan, 2015). Tsangaratos ve Ilia (2016), heyelan duyarlılık değerlendirmelerinde Lojistik Regresyonu ve Naive Bayes algoritma sınıflandırıcıların performanslarını karşılaştırdılar. İki sınıflandırıcının karşılaştırmasını, ciddi heyelan olaylarıyla karşılaşılan Yunanistan'ın Epirus dağlarında bulunan 116 alan içeren bir veritabanının değerlendirilmesine dayandırdılar. Siteler heyelan olan ve heyelan olmayan alanlar olmak üzere iki kategoride sınıflandırdılar. Naive Bayes sınıflandırıcı için sonuçlar Lojistik Regresyon ile karşılaştırıldığında %87.50 doğrulukla Naive Bayes sınıflandırıcı, %82.61 hassasiyetle Lojistik Regresyon sınıflandırıcısı geride bırakmıştır (Tsangaratos ve Ilia, 2016). Pabuçcu (2019), 2009-2018 yılları aralığını kapsayan günlük kapanış fiyatlarını içeren BIST 100 veri seti kullanarak borsa endeksinin pozitif ve negatif yönlü hareketlerinin tahmin edilmesini araştırmıştır. Araştırmada destek vektör makinesi, Naive Bayes ve yapay sinir ağı algoritması olmak üzere üç makine öğrenme algoritması kullanılmış ve tahmin performansları karşılaştırılmıştır. En iyi sınıflandırıcı

algoritmasının destek vektör makineleri olduğu sonucuna ulaşmıştır (Pabuççu, 2019). Altuntaş ve Kocamaz (2019), haploid ve diploid mısır tohumlarını sınıflandırmak için renk momenti özneliklerine dayalı bir bilgisayar destekli yöntem önermiş ve RGB, HSV ve Lab 3 farklı renk uzayı karşılaştırmalı olarak test edilmiştir. 3000 mısır tohumundan oluşan veri seti üzerinde yürüttükleri çalışmada, elde ettikleri öznelikler destek vektör makinesi ile sınıflandırılmıştır. Sonuçlara göre en iyi performansı Lab renk uzayında %87.03 doğruluk, %80.15 duyarlılık ve %93.00 özgünlük değerleriyle elde etmişlerdir (Altuntaş ve Kocamaz, 2019).

Küçük ve ark. (2019), nöromusküler hastalıklardan olan ALS ve Myopati hastalıklarının teşhisi için bir sınıflandırma yapısı düzenlenmişlerdir. Bu çalışmada Destek Vektör Makinesi, K-En Yakın Komşu algoritması ve Diskiriminant Analiz algoritmaları ile verileri sınıflandırmışlardır. Doğrulama ölçütü olarak çapraz geçerlilik yöntemi kullanmışlardır. ALS için buldukları doğruluk %97.39 iken myopati olanlar için %86.74 değerini bulmuşlardır (Küçük ve ark., 2019). Mostafa ve ark. (2018), Parkinson hastalığının tanısı için Karar Ağacı, Naive Bayes ve Sinir Ağı (NN) sınıflandırma yöntemlerini uygulamışlar ve üç yöntemin performanslarını değerlendirmişlerdir. Karar Ağacı % 91.63 ile en yüksek doğruluk oranını, Sinir Ağı için % 91.01 ve Naive Bayes'in ise en düşük doğruluk oranı olan % 89.46'lık degeri ürettiğini göstermişlerdir (Mostafa ve ark., 2018). Parkinson hastalığının son tanı yöntemi, ses bozuklukları analizine dayanmaktadır. Bu metodoloji, kayıtlı bir kişinin sesinin özellik kümelerinin çıkarılmasını ve ardından sağlıklı ve Parkinson vakalarını sesden tanımlamak için bir makine öğrenme tekniği kullanılmasını içerir. Mostafa ve ark. (2019), ses bozuklukları analizine dayalı çoklu özellik değerlendirme ve sınıflandırma makinesi öğrenme yöntemlerini test ederek Parkinson hastalığı tanısını iyileştirmeye çalışmışlardır. Çalışmanın amacı, çok etmenli bir sistemin yeni bir çoklu özellikli değerlendirme yaklaşımını önererek soruna en uygun çözümü bulmak olmuştur. Çok özellikli değerlendirme yaklaşımını kullanımdan sonra özneliklere Karar Ağacı, Nave Bayes, Sinir Ağı, Rastgele Ormanlar ve Destek Vektör Makinesi olan beş bağımsız sınıflandırma şemasını uygulamışlar ve sonuçların teşhis doğruluğunu değerlendirmişlerdir. Test sonuçları, çok etmenli sistemin çoklu özellikli değerlendirme yaklaşımının en iyi özellikleri bulunduğu ve sınıflandırıcıların performansını artırdığını göstermiştir. Sınıflandırıcıların teşhis doğruluğunda ortalama iyileşme oranları Karar Ağacı %10.51, Naive Bayes %15.22, Sinir Ağı %9.19, Rastgele Ormanlar %12.75 ve Destek Vektör Makinesi % 9.13' olmuştur (Mostafa ve ark., 2019). Vo ve ark., (2019), meme kanseri sınıflandırmasında en yararlı görsel özellikleri elde etmek için derin öğrenme modellerini kullanan bir yaklaşım önermişlerdir. Hekler ve ark. (2019), insan ve yapay zekayı cilt kanseri sınıflandırması için birleştirmenin potansiyel faydasını araştırmışlardır. 11444 dermoskopik görüntüyü beş tanı kategorisine sınıflandırmak için Konvolüsyonel Sinir Ağlarını (CNN) kullanmışlardır. İnsan ve makine kombinasyonu ile %82.95'lik bir doğruluk elde etmişlerdir (Hekler ve ark., 2019). Zaychenko ve Nafas (2019), tıbbi görüntülerden yararlanılarak ekspres teşhis için gerekli "sütunlu epitel (normal durum); skuamöz epitel (normal durum); serviks uterus epitelyumun metaplazi-benign değişiklikleri; CIN1-hafif dereceli displazi, CIN 2-orta dereceli displazi ve yüksek derecede epitelyal kanserde CIN 3-displazi" şeklindeki altı farklı sınıflandırmanın çözümü için bulanık sinir ağının (NEFClass M) uygulamasını önermişlerdir. NN Geri Yayılımı, RBF NN ve kaskad RBF NN ile karşılaştırmış ve önerilen yaklaşımın etkinlik tahminini yapmışlardır. Bulanık sinir ağının (NEFClass) %90 doğruluk sınıflandırma oranı ile alternatif NN ile karşılaştırıldığında en yüksek doğruluğa sahip olduğunu belirtmişlerdir (Zaychenko ve Nafas, 2019). Gündoğdu ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, bir bulmaca video oyunu sırasında ve oyun öncesinde elde edilen farklı elektrot bölgelerine ait EEG sinyallerini, dalgacık paket dönüşümü kullanarak ayırtmışlar ve güç değerlerini hesaplamışlardır. Sonra K. en yakın komşu algoritması ve farklı yapıdaki ileri beslemeli yapay sinir ağı

sınıflandırıcıları ile baskın olan elektrot bölgesi ve frekans alt bantların belirlenmesini amaçlamışlardır. %83.3 doğru sınıflandırma oranı ile en yüksek başarıyı yapay sinir ağları ile elde etmişlerdir (Gündoğdu ve ark. 2019). Talo ve ark. (2019), normal ve anormal beyin MR görüntülerini otomatik olarak sınıflandırmak için önceden eğitilmiş derin öğrenme CNN mimarisi (ResNet34) kullanan bir yaklaşım önermişlerdir. Önerdikleri modelle, 613 MR görüntüsünde %100 sınıflandırma doğruluğu elde etmişlerdir (Talo ve ark., 2019). Literatürlerde de görüldüğü üzere sınıflandırıcılar son yıllarda da birçok medikal alanda sıkça kullanılmış, popülerliğini hiç kaybetmemiştir.

Çalışılan veri setini oluşturan bu alanda algoritmalarla sınıflandırma işlemi yapan ve çok sayıda sınıflandırıcı kullanarak modellerin doğruluğunu ve performansını karşılaştıran herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, osteoporozla bağlı kifoza olan hastalara uygulanan egzersiz öncesi ve sonrası iki farklı durumu karakterize edebilecek veri sınıflandırıcılarını yakaladıkları doğruluk oranları, tahmin hızları ve eğitim zamanları açısından karşılaştırmak ve bu alanda birçok sınıflandırma yöntemlerinin uygulanmasına ilişkin derinlemesine bir kavrayış sağlamaktır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada kullanılan veriler, osteoporozla bağlı kifoza olan hastalarda omuz retraksiyon ortezinin (kifoortez) denge üzerine olan etkisinin araştırılması için yapılan bir çalışmadan alınmıştır (Gündoğdu ve ark., 2013). Araştırmacılar, hastaların statik denge performans değerlendirme (SDPD) için Kinesthetic Ability Trainer (KAT 1700 model) cihazı, fonksiyonel mobilite değerlendirme (FMD) için Zamanla Ayağa Kalkma ve Yürüme Testi (Timed Up ve Go testi) kullanmışlardır. Yirmi dokuz hastaya üç ay boyunca osteoporoz (postür, germe ve güçlendirme egzersizleri, eklem hareket açıklığı) egzersizleri ve konvansiyonel denge egzersizleri uygulamışlardır. Değerlendirmeler, egzersiz öncesi (EÖ) ve egzersiz sonrası (ES) üçüncü ayı kapsamaktadır.

Sınıflandırma girişleri için kullanılan öznelik I ve öznelik II değişkenleri sırasıyla SDPD ve FMD skorlarını yansıtmaktadırlar. Karşılaştırma işlemleri, egzersiz öncesi ve egzersiz sonrası 29 hastadan alınan denge skorları kullanılarak yapılmıştır. SDPD ve FMD'lerin öznelik olarak kullanıldığı çalışmada, EÖ ve ES durumları sırasıyla grup I ve grup II olmak üzere iki grupta bir sınıflandırma çalışması yapılmıştır.

Karar ağaçları (decision tree), diskriminant analiz (discriminant analysis), destek vektör makineleri (support vector machines), lojistik regresyon (logistic regression), naive bayes, en yakın komşuluklar (nearest neighbor classifiers), topluluk sınıflandırmaları (ensemble classifiers) ve yapay sinir ağları gibi algoritmalar kullanılarak en iyi sınıflandırma modeli bulunmaya çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan veri madenciliği algoritmaları ve Şekil 2-3-4'deki yatay ekseninde verilen rakamlara karşılık gelen sınıflandırıcı türleri Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan veri madenciliği algoritmaları (Sınıflandırıcılar)

Algoritmalar	Alt Türleri
Karar ağaçları	1. Hassas 2. Orta ölçekli 3. Kaba
Diskriminant Analiz	4. Doğrusal 5. Kuadratik
Regresyon	6. Lojistik
Naive Bayes	7. Gauss 8. Kernel
Destek Vektör Makineleri	9. Doğrusal 10. Kuadratik 11. Kübik 12. Hassas Gauss 13. Orta ölçekli Gauss 14. Kaba Gauss
En yakın komşuluk Sınıflandırıcı	15. Hassas 16. Orta ölçekli 17. Kaba 18. Kosinüs 19. Kübik 20. Ağırlıklı
Topluluk Sınıflandırıcı	21. Geliştirilmiş 22. Bağlı 23. Altuzay Diskriminant 24. Altuzay KNN 25. RUS Geliştirilmiş Ağaçlar
Yapay Sinir Ağları	26. İleri beslemeli ağ

Karar Ağaçları

Karar ağaçları, birden fazla ortak değişkene dayalı sınıflandırma sistemleri oluşturmak veya bir hedef değişken için tahmin algoritmaları geliştirmede yaygın kullanılan bir veri madenciliği yöntemidir. Bu yöntem bir popülasyonu kök düğümü, iç düğümleri ve yaprak düğümleri ile ters çevrilmiş bir ağaç oluşturan dal benzeri segmentlere ayırır. Algoritma parametrik değildir ve karmaşık bir parametrik yapı oluşturmadan büyük, karmaşık veri kümeleriyle etkili bir şekilde ilgilenebilir (Song ve Lu, 2015). Karar ağacında bulunan iç düğümler öznitelikler üzerinde gerçekleştirilen testleri, dallar test sonuçları ve her bir yaprak düğüm sınıf etiketini temsil etmektedir (Onan, 2015). Otomatik olarak karar ağaç yapısını oluşturmak için geliştirilmiş birçok algoritma bulunmaktadır. Bu algoritmalar, çoğunlukla genelleştirme hatasını en aza indirgeyen en uygun karar ağaç yapısını oluşturmayı hedeflemektedir (Maimon ve Rokach, 2010).

Diskriminant Analizi

Diskriminant analizi, veri kümesindeki değişkenlerin iki veya daha fazla gerçek gruplara ayrılmasına imkan verecek şekilde, birimlerin ya da gözlemlerin p tane özelliği ele alınarak bu birimlerin gerçek gruplarına optimal düzeyde atanmalarını sağlayacak fonksiyonlar oluşturan bir yöntemdir (Sevindik ve Şiray, 2018). Diskriminant analizi (DA), bir Mahalanobis uzaklık hesaplamasına dayalı sınıfları ayırt etmek için kullanılan bir teknik (Dixon ve Brereton, 2009; Morais ve Lima, 2018) olup lineer diskriminant analizi (LDA) veya kuadratik diskriminant analizi (KDA) olmak üzere ikiye ayrılabilir. LDA'da, analiz edilen sınıfların varyans yapıları benzer olarak kabul edildiğinden dolayı diskriminant fonksiyonu sınıflar arasında toplanmış varyans-kovaryans matrisi kullanılarak hesaplanır. Bununla birlikte, KDA'da, her sınıfın farklı bir varyans yapısı olduğu düşünülmektedir; bu nedenle, diskriminant fonksiyonu her sınıf için ayrı ayrı varyans-kovaryans matrisi kullanılarak hesaplanır (Morais ve Lima, 2018). KDA'nın bu özelliği büyük kategori içi varyanslar sergileyen sınıflar analiz edilirken sınıflandırma performansını artırır (Morais ve ark., 2019).

Lojistik Regresyon

Lojistik regresyon bağımlı değişken ikili olduğunda uygundur. Burada bağımsız değişkenler bağımlı değişkenin yordayıcıları olarak kabul edilir. Verileri tanımlamak ve ikili değişken bir bağımlı ile bir veya daha fazla (nominal, sıralı, aralık veya oran ölçeğinde ölçülebilir) bağımsız değişken arasındaki ilişkiyi açıklamak için kullanılır (Kasthuriarachchi ve ark., 2018). Bağımlı değişken ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki doğrusal değildir (Yesilnacar ve Topal, 2005). Lojistik regresyon, genelleştirilmiş doğrusal modelin özel bir durumu olarak düşünülür; bununla birlikte, bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki, lineer regresyon modellerinden oldukça farklı varsayımlara dayanmaktadır. Koşullu dağılım Gauss dağılımı yerine Bernoulli dağılımıdır, çünkü bağımlı değişken ikili değişken biçimindedir (Tsangaratos ve Ilia, 2016).

Naive Bayes

Naive Bayes sınıflandırıcı, Bayes teorisine göre tanımlanan bir olasılık modeli kullanarak önceden tanımlanmış bir kategoriye ait yeni bir gözlem olasılığını tahmin eden bir süreçtir (Cheeseman ve Stutz, 1996). Bu model sadeliği ve hızlı çözümler sunması nedeniyle farklı sınıflandırma uygulamalarında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Algoritma diğer makine öğrenme algoritmalarına benzer şekilde eğitim için ayrılan zaman serisi veya yatay kesit veriler üzerinden gözlemlerin hangi sınıflara ait olduğunu öğrenir ve yeni gözlemleri genelleştirme yeteneği ile ilgili sınıflara atar (Pabuçcu, 2019).

Destek Vektör Makinesi

Destek vektör makinesi (DVM), sınıfların bir karar sınırına bölündüğü bir sınıflandırma yöntemidir. Sınır tipi özellik sayısına bağlıdır. İki özellikli bir sınıf DVM sınıflandırıcısında karar sınırı bir çizgi olacaktır (Venkata ve Rao, 2019). DVM, bir sınıfın tüm veri noktalarını diğer sınıflardan ayıran en iyi hiper düzlemi bularak verileri sınıflandırır (Vapnik, 2000). DVM için en iyi hiper düzlem, iki sınıf arasında en büyük aralığa sahip olan doğrusal ayırıcı olarak ele alınmaktadır. Aralık, iç veri noktaları bulunmayan hiper düzleme paralel doğrusal ayırıcının maksimum genişliğini ifade eder (Altuntaş ve Kocamaz, 2019).

K-En Yakın Komşu

K-En Yakın Komşu, belirli özelliklere (X) ve ilişkinin değerine (Y) sahip veriler varsa bilinmeyen bir varlığı sınıflandırabilen algoritmalar sınıfındadır (Mitchell, 1997). Parametrik olmayan bir öğrenme algoritmasıdır. Sınıflandırılması istenen bir verinin en yakın k komşuluktaki verileri temel alarak sınıflandırıldığı bir yöntemdir. Bu algorithmada sınıfı bilinmeyen bir verinin, k en yakın komşulara olan benzerlikleri hesaplanır ve sınıflara ataması gerçekleştirilir. Bu algorithmada eğitim aşaması çok hızlı olmasına rağmen test kısmı hem bellek hem de zaman açısından maliyetlidir (Saini ve ark., 2013).

Topluluk Sınıflandırıcı

Topluluk sınıflandırıcı algoritmaları, veri kümesinin farklı alt kümeleri üzerinde eğitilmiş temel sınıflandırıcılar tarafından üretilen çıktılarının kombinasyonuna izin verir. Bir sınıflandırma topluluğu, birden çok sınıflandırma modelin ağırlığı ile oluşan bir kombinasyondur. Ayrıca, makine öğrenme algoritma toplulukları mevcut veri kaynaklarını güncelleyebileceğinden, bunları yeni veya güncellenmiş veriler üzerinde kullanma olasılığı vardır. Böylece, tüm topluluğu yeniden eğitmeye gerek yoktur. Topluluk yöntemleri, yanlış alarmların azaltılması ve doğruluk artışına yüksek etkisi ile çok verimli olabilir. Sınıflandırıcıları birleştirme kavramı, ayrı sınıflandırıcı performanslarının iyileştirilmesi için yeni bir yön belirlemiştir. Genel olarak çoklu sınıflandırma modellerinin birleştirilmesi öngörücü performansı artırır (Timcenko ve Gajin, 2017).

Yapay Sinir Ağları

Yapay sinir ağları (YSA), insan beyninin bilgi işleme tekniğinden esinlenerek ortaya çıkan ve çok sayıda sinir hücresinin ağ içerisinde çeşitli şekillerde birbirine bağlanarak oluşturduğu öğrenme şeklini referans alan yapay zeka yöntemlerinden birisidir. YSA tahmin yapma, kestirim, sınıflandırma gibi birçok problemde yaygın olarak kullanılan etkili bir öğrenme metodudur. Günümüzde YSA kullanan sistemler, genellikle çok katmanlı ileri beslemeli ağ modelini ve ağın eğitilmesi için ise geriye yayılım algoritmasını kullanmaktadırlar (Kou ve ark., 2013; Dandil ve Gürgen, 2019).

Yukarıda anlatılan ve çalışmada uygulanan sınıflandırıcıların ilgili parametre ayarları için varsayılan (default) değerler kullanılmış ve Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Verilerin sınıflandırılmasında modellerin eğitimi ve tüm testler MATLAB programı vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. Model doğrulaması için doğrulaması olmayan, Holdout ve K Katlamalı Çapraz Doğrulama (K-KÇD) şeklinde üç seçenek mevcuttur. K- KÇD'de, veri kümesi eşit olarak K bölümlerine ayrılarak bunların bir bölümü doğrulama diğer kalan kısmı ise ön eğitim olarak kullanılmaktadır. Eğitim seti modelin eğitildiği veriler iken; test seti ise modelin eğitilmeyen veriler üzerinde ne kadar iyi performans gösterdiğini görmek için kullanılmaktadır. Hold-Out yöntemi, veri kümesinin rastgele iki ayrı veri kümesine bölündüğü, sınıflandırıcının bilgi çıkarmaya çalıştığı ilk küme ve ikinci kümenin test edilen çıkarılan bilgiler için kullanıldığı yüzde bölme yöntemidir (Verma vd, 2020). Hold-out, veri setini eğitim ve test kümesi olarak ikiye ayırma yöntemidir. Bu çalışmada eğitim için Hold-out yaklaşımı

kullanılmış olup verilerin %80'i eğitim %20'si de test için ayrılmıştır. Modeller eğitildikten sonra elde edilen test sonuçları doğruluk oranları, tahmin hızı ve eğitim zamanı kullanılarak değerlendirilmiştir. Sınıflandırıcı performans karşılaştırılmasında kullanılan doğruluk oranının matematiksel ifadesi Denklem 1'de gösterilmiştir (Zeng ve ark., 2010).

$$\text{Doğruluk oranı} = \frac{\text{Doğru sınıflandırılan örnek sayısı}}{\text{Toplam örnek sayısı}} \quad (1)$$

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan sınıflandırıcılara ait parametre ayarları

Algoritmalar	Alt türleri	Parametre ayarları
Karar ağaçları	Hassas	Maksimum bölme sayısı: 100, Bölünmüş kriter: Gini'nin çeşitlilik indeksi, Vekil karar bölmeleri: Off
	Orta ölçekli	Maksimum bölme sayısı: 20, Bölünmüş kriter: Gini'nin çeşitlilik indeksi, Vekil karar bölmeleri: Off
	Kaba	Maksimum bölme sayısı: 20, Bölünmüş kriter: Gini'nin çeşitlilik indeksi, Vekil karar bölmeleri: Off
Diskriminant analiz	Doğrusal	Kovaryans yapısı: Tam
	Kuadratik	Kovaryans yapısı: Tam
Regresyon	Lojistik	
Naive Bayes	Gauss	Sayısal tahminciler için dağıtım adı: Gaussian
	Kernel	Sayısal tahminciler için dağıtım adı: Kernel, Çekirdek tipi: Gauss Destek: Sınırsız
Destek vektör makineleri	Doğrusal	Çekirdek işlevi: Doğrusal, Çekirdek ölçeği: Otomatik, Kutu kısıtlama seviyesi: 1
	Kuadratik	Çekirdek işlevi: Kuadratik, Çekirdek ölçeği: Otomatik, Kutu kısıtlama seviyesi: 1
	Kübik	Çekirdek işlevi: Kübik, Çekirdek ölçeği: Otomatik, Kutu kısıtlama seviyesi: 1
	Hassas Gauss	Çekirdek işlevi: Hassas Gauss, Çekirdek ölçeği: 0.25, Kutu kısıtlama seviyesi: 1
	Orta ölçekli Gauss	Çekirdek işlevi: Orta ölçekli Gauss, Çekirdek ölçeği: 1, Kutu kısıtlama seviyesi: 1
K-en yakın komşu	Kaba Gauss	Çekirdek işlevi: Kaba Gauss, Çekirdek ölçeği: 4, Kutu kısıtlama seviyesi: 1
	Hassas	Komşu sayısı: 1, Mesafe metriği: Öklid, Mesafe ağırlığı: Eşit
	Orta ölçekli	Komşu sayısı: 10, Mesafe metriği: Öklid, Mesafe ağırlığı: Eşit
	Kaba	Komşu sayısı: 100, Mesafe metriği: Öklid, Mesafe ağırlığı: Eşit
	Kosinüs	Komşu sayısı: 10, Mesafe metriği: Kosinüs, Mesafe ağırlığı: Eşit
	Kübik	Komşu sayısı: 10, Mesafe metriği: Minkowski (kübik), Mesafe ağırlığı: Eşit
Topluluk sınıflandırıcı	Ağırlıklı	Komşu sayısı: 10, Mesafe metriği: Öklid, Mesafe ağırlığı: Kare ters
	Geliştirilmiş	Topluluk yöntemi: AdaBoost, Öğrenci tipi: Karar ağacı, Maksimum bölme sayısı: 20, Öğrenci sayısı: 30, Öğrenme oranı: 0.1
	Bağlı	Topluluk yöntemi: Bag, Öğrenme tipi: Karar ağacı, Maksimum bölme sayısı: 57, Öğrenci sayısı: 30
	Altuzay Diskriminant	Topluluk yöntemi: Altuzay, Öğrenci tipi: Ayrımcı, Öğrenci sayısı: 30, Altuzay boyutu: 1
Yapay Sinir ağları	Altuzay KNN	Topluluk yöntemi: Altuzay, Öğrenci tipi: En yakın komşular, Öğrenci sayısı: 30
	RUS Geliştirilmiş Ağaçlar	Topluluk yöntemi: RUSBoost, Öğrenci tipi: Karar ağacı, Maksimum bölme sayısı: 20, Öğrenci sayısı: 30, Öğrenme oranı: 0.1
	İleri beslemeli ağ	Ağ eğitimi: Levenberg-Marquardt, Gizli katman sayısı:2, Gizli katmanlardaki nöron sayısı:15

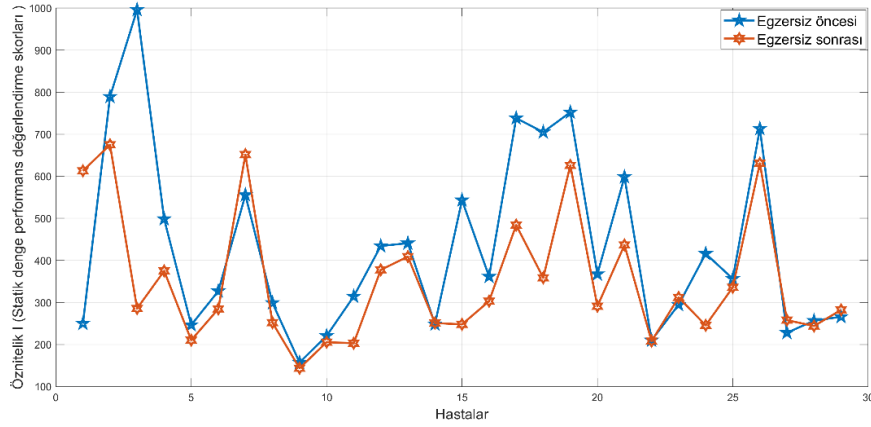
BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmaya katılan gönüllülerin yaş ortalaması 69.86±5.38 yıl, boy uzunluğu ortalaması 151.76±7.56 cm'dir. 29 gönüllünün egzersiz öncesi ve sonrasına ait SDPD ve FMD skorları (öznitelikleri), Şekil 1'de gösterilmiştir. Gönüllülerin statik denge ve fonksiyonel mobilite değerlendirilmesi için kullanılan denge skorlarına ait istatistiksel değerler ise Çizelge 3'de gösterilmiştir.

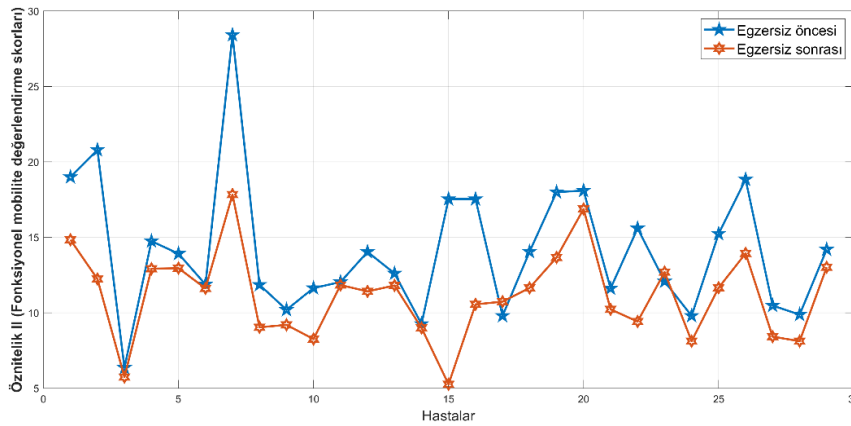
Çizelge 3. Denge skorlarına ait ortalama ve standart sapma değerleri

	Grup I (EÖ)		Grup II (ES)	
	SDPD	FMD	SDPD	FMD
Ortalama	433.97	14.12	351.76	11.14
Standart Sapma	215.71	4.45	153.14	2.90

Osteoporozla Bağlı Kifozlu Hastalara Uygulanan Egzersizlerin Oluşturduğu Denge Değişikliklerine İlişkin Veriler Kullanılarak Yapay Sinir Ağlarının Diğer Sınıflandırma Algoritmalarıyla Karşılaştırılması



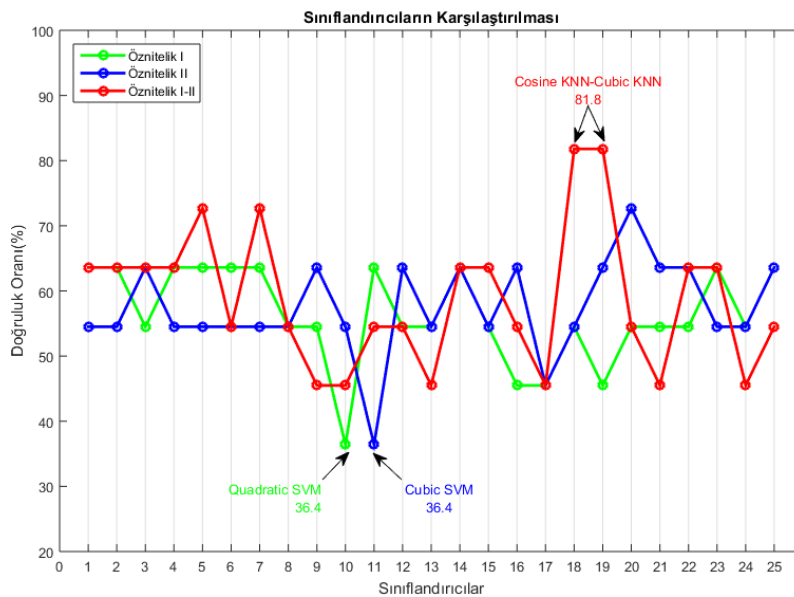
(a)



(b)

Şekil 1. 29 hastanın egzersiz öncesi ve sonrasına ait (a) SDPD ve (b) FMD skorları (öznitelikleri)

Öznitelik I, öznitelik II ve öznitelik I+öznitelik II (öznitelik I+II) tüm öznitelik varyasyonları, 25 farklı sınıflandırma algoritmasına giriş olarak uygulanmış ve sonuçlara göre algoritma karşılaştırmaları yapılmıştır. Öznitelik seçimlerine göre sınıflandırıcıların başarı oranlarını gösteren grafik Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2: 25 farklı algoritmanın doğruluk oranlarına göre sınıflandırma sonuçları

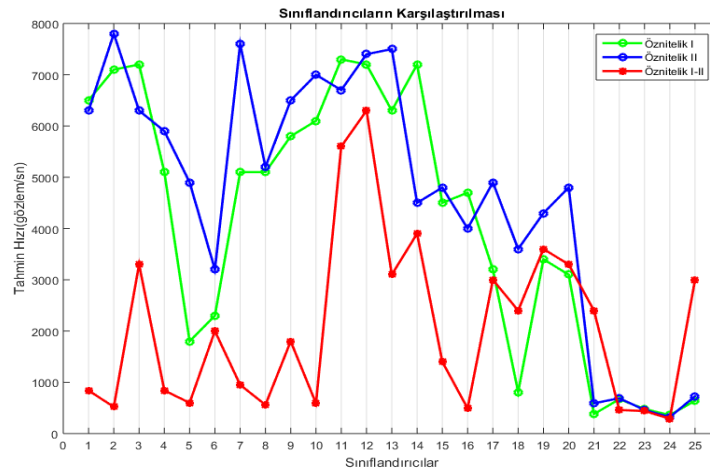
Ayrıca öznitelik seçimlerine göre sınıflandırıcıların başarı oranlarıyla ilgili istatistiksel hesaplamalar, Çizelge 4’de sunulmuştur. Tablodaki istatistiksel değerler incelendiğinde; en başarılı sınıflandırma tahminlerin özniteliklerin ikisinin beraber kullanıldığı durumlarda ortaya çıktığı görülmüştür.

Çizelge 4. Sınıflandırıcıların öznitelik seçimine göre doğruluk oranlarına ilişkin istatistikler

	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma
Öznitelik I	36.4	63.6	56.3	7.4
Öznitelik II	36.4	72.7	57.4	7.3
Öznitelik I+II	45.5	81.8	58.9	10.8

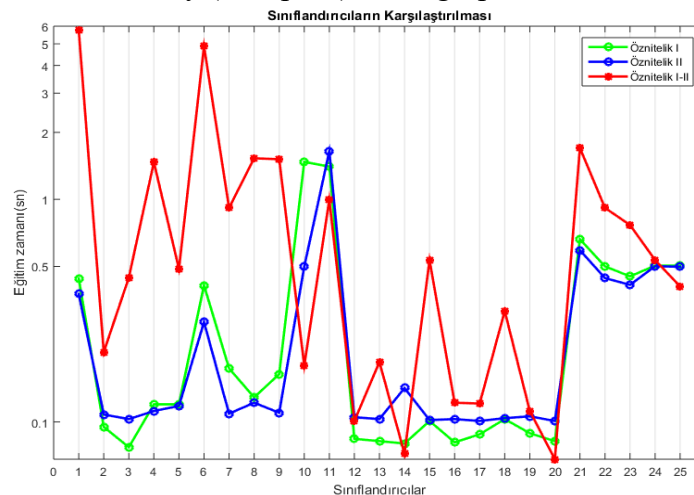
Sınıflandırıcılar karşılaştırıldığında; %81.8 ile en yüksek başarı oranı öznitelik I +II’nin giriş yapıldığı Kosinüs (Cosine) KNN ve Kübik (Cubic) KNN algoritmaları; en düşük başarı oran ise % 36.4 ile öznitelik I’nin giriş yapıldığı Kuadratik (Quadratic) DVM ve öznitelik II’nin giriş yapıldığı Kübik (Cubic) DVM algoritması ile elde edilmiştir.

Şekil 3 ve Şekil 4’de, öznitelik seçimlerine göre sınıflandırıcıların sırasıyla tahmin hızı ve eğitim zamanı ile ilgili karşılaştırmaları gösteren grafikler verilmiştir.



Şekil 3: Tahmin hızlarına göre 25 algoritmanın sınıflandırma sonuçları

Sınıflandırıcılar tahmin hızına göre karşılaştırıldığında (giriş olarak öznitelik I+II seçildiğinde); en hızlı tahmin 6300 gözlem/sn ile Hassas Gauss (Fine Gaussian) DVM algoritması olurken en düşük hızlı tahminin ise 290 gözlem/sn ile Altuzay (Subspace) KNN grup sınıflandırıcısı olduğu görülmüştür.



Şekil 4: Eğitim zamanına göre 25 algoritmanın sınıflandırma sonuçları

Tüm öznitelik varyasyonları için ortak olan durum; topluluk sınıflandırıcıların eğitimi için daha fazla zamana ihtiyaç duyulduğunun ortaya çıkmasıdır (Şekil 4).

Ayrıca, 6 sınıflandırıcı algoritmasında kendi içlerinde farklı parametreler ile oluşturulmuş modellerin performansları kıyaslanmış ve Çizelge 5’de sunulmuştur.

Çizelge 5. Farklı parametreler ile oluşturulmuş modellerin performansları

Algoritma (model sayısı)	Öznitelik I		Öznitelik II		Öznitelik I+II	
	En düşük	En yüksek	En düşük	En yüksek	En düşük	En yüksek
Karar ağaçları (3)	Kaba	Orta ölçekli	Hassas	Kaba	Hassas	Orta ölçekli
Diskriminant analiz (2)	Doğrusal	Kuadratik	Doğrusal	Kuadratik	Doğrusal	Kuadratik
Naive Bayes (2)	Kernel	Gauss	Kernel	Gauss	Kernel	Gauss
Destek vektör makineleri (6)	Kuadratik	Kaba Gauss	Küçük	Kaba Gauss	Doğrusal	Kaba Gauss
K-en yakın komşu (6)	Kaba	Ağırlıklı	Kaba	Ağırlıklı	Kaba	Küçük
Topluluk sınıflandırıcı (5)	Geliştirilmiş	Altuzay	Altuzay KNN	RUS Geliştirilmiş iş Ağaçlar	Geliştirilmiş	Altuzay
		Diskriminant				Diskriminant

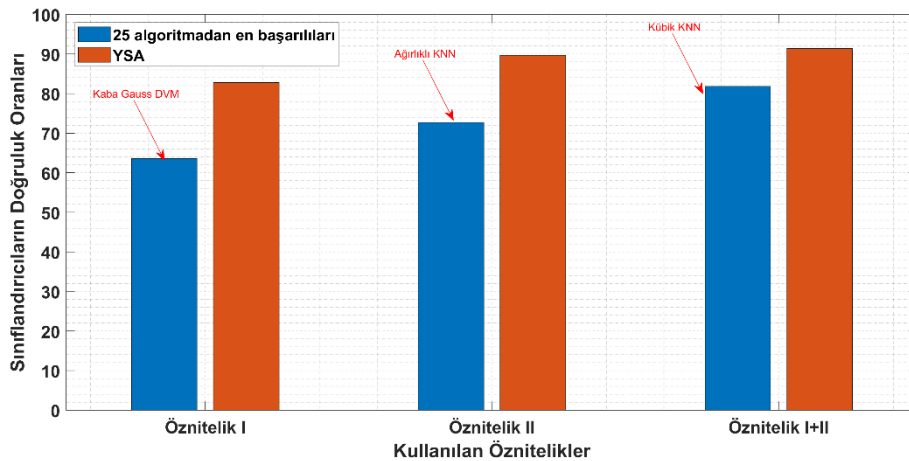
Sınıflandırma işlemi yukarıda belirtilen 25 algoritma ile yapılan çalışmalara ek olarak aynı şartlarda ileri beslemeli yapay sinir ağları kullanılarak da gerçekleştirilmiştir. Tüm veri randomize bir şekilde %80 eğitim ve %20 test verisi olarak kendi içinde ayrılmıştır. Oluşturulan YSA’nın sahip olduğu her iki gizli katmanda 15 nöron vardır. Ağ eğitimi için Levenberg-Marquardt algoritması kullanılmıştır.

Sınıflandırma başarısını gösteren doğruluk oranı ve eğitim zamanını kullanılarak yapay sinir ağının diğer 25 algoritma içinde en başarılıları ile karşılaştırma işlemi, Çizelge 6 ve Şekil 5’de sunulmuştur.

Çizelge 6. Sınıflandırıcının doğruluk oranları ve eğitim sürelerine göre karşılaştırılması

	25 algoritma içinde en başarılı sınıflandırıcılar			Yapay Sinir Ağları Sınıflandırıcısı	
	Sınıflandırıcı Türü	Doğruluk Oranı	Eğitim Zamanı(s)	Doğruluk Oranı	Eğitim Zamanı(s)
Öznitelik I	Kaba Gauss DVM	63.6	0.080	82.8	14.524
Öznitelik II	Ağırlıklı KNN	72.7	0.101	89.7	5.085
Öznitelik I+II	Küçük KNN	81.8	0.112	91.4	2.372

**DVM: Destek vektör makinesi, KNN: K en yakın komşuluk



Şekil 5: Önerilen YSA yönteminin 25 algoritmadan en başarılıları ile kıyaslanması

Önerilen yapay sinir ağları modeli, doğruluk başarı oranına göre, diğer 25 algoritmanın en başarılıları ile kıyaslandığında; Kaba Gauss DVM modeline göre %30 (giriş olarak öznitelik I), ağırlıklı KNN modeline göre %23 (öznitelik II) ve Küçük KNN modeline göre %12 (öznitelik I+II) daha iyi sonuçlar vermiştir. Sınıflandırıcı olarak önerilen yönteminin, diğer 25 algoritmaya göre daha fazla tatmin ettiği görülmüştür.

Yapılan bu çalışmada önerilen ve iyi bir sınıflandırma yöntemi olan (Karadağ ve ark., 2020) YSA sınıflandırma modeli, literatürdeki kullanılan diğer modellerle kıyaslandığında yüksek sınıflandırma

oranına sahip olduğu görülmektedir. Yapay sinir ağları yöntemi, doğruluk başarı oranı açısından en iyi sonuçlar vermesi ile birlikte eğitim için diğer başarılı algoritmalara göre daha fazla zaman harcadığı görülmüştür.

SONUÇ

Bu çalışma, osteoporozla bağlı kifozlu olan hastalara uygulanan egzersizlerden kaynaklanan denge skorları kullanılarak egzersiz öncesi ve sonrası iki farklı durumun sınıflandırılmasında farklı algoritma yaklaşımlarını sunmaktadır. Statik denge ve fonksiyonel mobilite performans skorları kullanılarak sınıflandırma tahmini için karşılaştırmalı bir çalışma yapılmıştır. Eğitim için Hold-out yaklaşımı kullanılmış olup verilerin %80'i eğitim %20'si de test için ayrılmıştır. Sınıflandırmada doğruluk başarı oranı en yüksek olan ve eğitim için en fazla zaman harcayan (iki özelliğin aynı anda giriş olarak kullanıldığı) yapay sinir ağları tekniği olduğu görülmüştür. Bu teknik denge değerlerine bakarak %91.4 doğruluk oranı ile katılımcıların egzersiz yaptıklarını anlayabilmiştir. Yapay sinir ağları ile oluşturulacak sınıflandırıcılar, fiziksel tedavi ve rehabilitasyon amaçlı uygulanan egzersizlerin denge üzerine etkisini görmek için kullanılabilir. İleriki çalışmalarda, yapay sinir ağı parametreleri üzerinde daha detaylı denemeler yapılarak sınıflandırma doğruluğunun artırılması hedeflenmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada kullanılan veri setini oluşturmada emeği geçen ve benimle paylaşan Gündoğdu ve diğer çalışma arkadaşlarına çok teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması

Herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim.

Yazar Katkısı

Makalenin planlama, yürütme ve yazımının tarafımdan yapıldığını beyan ederim.

KAYNAKLAR

- Alkan BM, Fidan F, Tosun A, Ardiçoğlu Ö, 2011. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Polikliniğimize Başvuran Hastalarda Osteoporoz İnsidansı. *Türk Osteoporoz Dergisi*, 17: 10-13.
- Altuntaş Y, Kocamaz AF, 2019. Renk Momentleri ve Destek Vektör Makineleri Kullanarak Haploid Mısır Tohumlarının Tanımlanmasında Renk Uzaylarının Sınıflandırma Performansına Etkisinin Karşılaştırılması. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 31 (2): 551-560.
- Bonner FJ, Chesnut CH, Lindsay R, 2005. Osteoporosis. In: *Delisa's Physical Medicine and Rehabilitation*. Lippincott Williams and Wilkins No: 4, pp. 699-719, Philadelphia-USA.
- Cheeseman P, Stutz J, 1996. Bayesian Classification (Autoclass): Theory and Results. In: *Advances in Knowledge Discovery and Data Mining*. American Association for Artificial Intelligence Press, pp. 153-180, California-USA.
- Dandıl E, Gürgen E, 2019. Yapay Sinir Ağları Kullanılarak Fotovoltaik Panel Güç Çıkışlarının Tahmini ve Sezgisel Algoritmalar ile Karşılaştırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16: 146-158.
- Dixon SJ, Breerton RG, 2009. Comparison of Performance of Five Common Classifiers Represented as Boundary Methods: Euclidean Distance to Centroids, Linear Discriminant Analysis, Quadratic Discriminant Analysis, Learning Vector Quantization and Support Vector Machines, as Dependent on Data Structure. *Chemometrics Intelligent Laboratory Systems*, 95 (1): 1-17.
- Erkmen N, Suveren S, Göktepe AS, Yazıcıoğlu K, 2007. Farklı Branşlardaki Sporcuların Denge Performanslarının Karşılaştırılması. *Sporometre Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*, 5 (3): 115-122.
- Eskiyurt N, 2005. Osteoporoz Rehabilitasyonu. *Osteoporoz*, Güneş Kitabevi, s. 259-291, Ankara-Türkiye.

- Gündoğdu M, Öncel S, Şahin E, Baydar M, Dilek B, 2013. Osteoporozla Bağlı Kifozlu Olan Hastalarda Omuz Retraksiyon Ortezinin Denge, Kifoz Açısı ve Yaşam Kalitesi Üzerine Etkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 16 (3): 253-259.
- Gündoğdu S, Çolak ÖH, Doğan EA, Gülbetkin E, Polat Ö, 2019. Bir Bulmaca Video Oyunu Oynama Sürecinde Baskın EEG Frekans Alt Bandların Belirlenmesi. *Tıp Teknolojileri Kongresi (TIPTEKNO)*, 3-5 Ekim 2019, Kuşadası.
- Harrington P, 2012. *Machine Learning in Action*. Manning Publications No: 1, pp. 3-17, New York-USA.
- Hekler A, Utikal JS, Enk AH, Hauschild A, Weichenthal M, Maron RC, Berking C, Haferkamp S, Klode J, Schadendorf D, Schilling B, Holland-Letz T, Izar B, Kalle CV, Fröhling S, Brinker TJ, 2019. Superior Skin Cancer Classification by the Combination of Human and Artificial Intelligence. *European Journal of Cancer*, 120: 114-121.
- Karadağ K, Tenekeci ME, Gümüşçü A, 2020. Yapay Sinir Ağları Kullanılarak İmleç Yönü Tespiti. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 9 (1): 172-179.
- Kasthuriarachchi, KTS, Liyanage, SR, Bhatt CM, 2018. A Data Mining Approach to Identify the Factors Affecting the Academic Success of Tertiary Students in Sri Lanka. In: *Software Data Engineering for Network eLearning Environments*, Springer International Publishing No: 1, pp. 178-197, New York-USA.
- Kou J, Liu J, Li Q, Fang W, Chen Z, Liu L, Guan T, 2013. Photovoltaic Power Forecasting Based on Artificial Neural Network and Meteorological Data. *2013 IEEE International Conference of IEEE Region 10 (TENCON 2013)*, Xian, October 22-25, 2013, pp:1-4.
- Küçük H, Eminoğlu İ, Balcı K, 2019. Nöromusküler Hastalıkların Yapay Zeka Yöntemleri ile Sınıflandırılması. *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 34 (4): 1725-1741.
- Maimon O, Rokach L, 2010. *Classification Trees*. In: *Data Mining and Knowledge Discovery Handbook*, Springer No: 2, pp. 149-174, New York-USA.
- Mitchell TM, 1997. *Machine Learning*. McGraw-Hill, New York-USA.
- Morais CLM, Lima KMG, 2018. Principal Component Analysis with Linear and Quadratic Discriminant Analysis for Identification of Cancer Sample Based on Mass Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29 (3): 472-481.
- Morais CLM, Lima KMG, Martin FL, 2019. TTWD-DA: A MATLAB Toolbox for Discriminant Analysis Based on Trilinear Three-Way Data. *Chemometrics Intelligent Laboratory Systems*, 188: 46-53.
- Mostafa SA, Mustapha A, Khaleefah SH, Ahmad MS, Mohammed MA, 2018. Evaluating the Performance of Three Classification Methods in Diagnosis of Parkinson's Disease. *Proceedings of the Third International Conference on Soft Computing and Data Mining (SCDM 2018)*, Johor, February 06-07, 2018, pp:43-52.
- Mostafa SA, Mustapha A, Mohammed MA, Hamed RI, Arunkumar N, Ghani MKA, Jaber MM, Khaleefah SM, 2019. Examining Multiple Feature Evaluation and Classification Methods for Improving the Diagnosis of Parkinson's Disease. *Cognitive Systems Research*, 54: 90-99.
- Onan Y, 2015. Şirket İflaslarının Tahmin Edilmesinde Karar Ağacı Algoritmalarının Karşılaştırmalı Başarım Analizi. *Bilişim Teknolojileri Dergisi*, 8 (1): 9-19.
- Pabuççu H, 2019. Borsa Endeksi Hareketlerinin Tahmini: Trend Belirleyici Veri. *Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 22 (1): 246-256.
- Saini I, Singh D, Khosla A, 2013. QRS Detection Using K-Nearest Neighbor Algorithm (KNN) and Evaluation on Standard ECG Databases. *Journal of Advanced Research*, 4 (4): 331-344.
- Sevindik S, Şiray GÜ, 2018. Diskriminant Analizi ve Bazı Alternatif Regresyon Analizleri. *Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 35 (9):117-125.
- Sinaki M, Brey RH, Hughes CA, Larson DR, Kaufman KR, 2005. Balance disorder and Increased Risk of Falls in Osteoporosis and Kyphosis: Significance of Kyphotic Posture and Muscle Strength. *Osteoporosis International*, 16 (8):1004-1010.
- Sindel D, 2002. Tanı Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*, 2:17-29.

- Song Y-Y, Lu Y, 2015. Decision Tree Methods: Applications for Classification and Prediction. Shanghai Archives of Psychiatry, 27 (2):130-135.
- Talo M, Baloglu UB, Yıldırım Ö, Achary UR, 2019. Application of Deep Transfer Learning for Automated Brain Abnormality Classification Using MR Images. Cognitive Systems Research, 54: 176-188.
- Timcenko V, Gajin S, 2017. Ensemble Classifiers for Supervised Anomaly Based Network Intrusion Detection. 13th IEEE International Conference on Intelligent Computer Communication and Processing (ICCP), Cluj-Napoca, September 07-09, pp:13-19.
- Tosun A, Bölükbaşı N, 2004. Osteoporoz ve Egzersiz, Türkiye Klinikleri Fiziksel Tedavi Rehabilitasyon Dergisi, 4: 7-10.
- Tsangaratos P, Ilia I, 2016. Comparison of a Logistic Regression and Naïve Bayes Classifier in Landslide Susceptibility Assessments: The Influence of Models Complexity and Training Dataset Size. Catena, 145 (2016):164–179.
- Vapnik V, 2000. The Nature of Statistical Learning Theory. Springer-Verlag No: 2, New York-USA
- Venkata SK, Rao S, 2019. Fault Detection of a Flow Control Valve Using Vibration Analysis and Support Vector Machine, Electronics, 8 (1062): 1-15.
- Verma C, Stoffaova V, Illes Z, 2020. Prediction of Residence Country of Student Towards Information, Communication and Mobile Technology for Real-Time: Preliminary Results. Procedia Computer Science, 167: 224–234.
- Vo DM, Quang NQ, Lee SW, 2019. Classification of Breast Cancer Histology Images Using Incremental Boosting Convolution Networks. Information Sciences, 482:123-138.
- Walker-Bone K, Dennison E, Cooper C, 2001. Epidemiology of Osteoporosis. Rheumatic Disease Clinics of North America, 27 (1): 1-18.
- Yesilnacar E, Topal T, 2005. Landslide Susceptibility Mapping: a Comparison of Logistic Regression and Neural Networks Methods in a Medium Scale Study, Hendek Region (Turkey). Engineering Geology, 79 (3–4): 251–266.
- Yılmaz H, Erkin G, Polat HAD, Küçükşen S, Sallı A, Uğurlu H, 2012. Osteoporozda Yaşam Kalitesi: Bir Kontrollü Çalışma. Turkish Journal of Osteoporosis, 18 (2): 47-52.
- Zaychenko Y, Nafas AAGO, 2019. Medical Images Classification and Diagnostics Using Fuzzy Neural Networks. American Journal of Neural Networks and Applications, 5 (2): 45-50.
- Zeng XD, Chao S, Wong F, 2010. Optimization of Bagging Classifiers Based on SBCB algorithm. Proceedings of the Ninth International Conference on Machine Learning and Cybernetics, Qingdao, July 11-14, pp.262-267.

Atf İçin: Altun K, 2021. Kesir Dereceli Hiperkaotik Osilatörlerde Trigonometrik Fonksiyon ile Çoklu Çeker Üretimi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2673-2681.

To Cite: Altun K, 2021. Generation of Multi Scroll Attractor with Trigonometric Function in Fractional-Order Hyperchaotic Oscillators. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2673-2681.

Kesir Dereceli Hiperkaotik Osilatörlerde Trigonometrik Fonksiyon ile Çoklu Çeker Üretimi

Kenan ALTUN^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, Sprot G sistemine doğrusal olmayan trigonometrik fonksiyonlar dahil edilerek kesir dereceli hiperkaotik çoklu çeker üretimi sunulmaktadır. İlk olarak, Sprot G sisteminin orijinal dinamik yapısının bilgisayar benzetimi ve Lyapunov üstelleri hesaplanmıştır. Daha sonra dinamik sistem, hiperkaotik çekerler üretmek için kesir dereceli analiz yöntemleri ile yeniden yapılandırılmıştır. Hiperkaotik yapısına ait benzetim çalışması ve nümerik analizi yapılmıştır. Son olarak, çoklu çeker yapıları oluşturmak için kesir dereceli hiperkaotik sisteme doğrusal olmayan trigonometrik fonksiyon serileri eklenmiştir. Önerilen sistemin dinamik davranışlarına ait bilgisayar benzetimi, faz uzay gösterimi, Lyapunov üstelleri analizi sunularak güvenilir haberleşme sistemleri için önemi açıklanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Çoklu kaotik çeker, hiperkaos, kesir derecesi, Sprot G, trigonometrik fonksiyon

Generation of Multi Scroll Attractor with Trigonometric Function in Fractional-Order Hyperchaotic Oscillators

ABSTRACT: In this study, multi-scroll attractor generation by incorporating nonlinear trigonometric functions into the Sprot G system, which represents hyperchaotic behavior with fractional-order structure, is presented. First, the computer simulation of the original dynamic structure of the Sprot G system and the Lyapunov exponents are calculated. Then the dynamic system is reconstructed with fractional analysis methods to produce hyperchaotic attractors. A simulation study and numerical analysis of the hyperchaotic structure were made. Finally, nonlinear trigonometric function series are added to the fractional hyperchaotic system to create multi-scroll attractor structures. The computer simulation phase space representation of the dynamic behavior of the proposed system and the analysis of Lyapunov exponents are presented and its importance for reliable communication systems is explained.

Keywords: Multi-scroll chaotic attractor, hyperchaos, fractional-order, Sprot G, trigonometric function.

¹ Kenan ALTUN ([Orcid ID: 0000-0001-7419-1901](https://orcid.org/0000-0001-7419-1901)) Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas Teknik Bilimler MYO, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, Sivas, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Kenan ALTUN, e-mail: kaltun@cumhuriyet.edu.tr

GİRİŞ

Kaos temel olarak başlangıç koşullarına aşırı duyarlı doğrusal olmayan dinamik denklemlerle açıklanabilen sistemleri ifade etmektedir. Kaotik sistemler, hava durumu ve ekonomi gibi tahmin ve kestirim gerektiren alanlarda kullanılan matematiksel modellerin başlangıç değerlerine olan yüksek hassasiyetlerinin analizinde kullanılır (Lorenz, 1963). Meteoroloji ve ekonomi gibi konuların yanında, kaos teorisi daha birçok konuda karmaşık sistemlerin incelenmesi ve kontrol edilebilmesi için düzenli kurallar oluşturur. Son çeyrek yüzyılda, kaos teorisi, kriptografiden (Boccaletti ve ark., 2002; Alvarez ve ark., 2006; Caponetto ve ark., 2014), parmak izi sistemlerine (Han ve ark., 2007), güvenli haberleşme sistemlerine (Pecora ve Carroll, 1990) kadar geniş bir uygulama alanına sahiptir. Özellikle zengin dinamik özelliklere sahip kaotik sistemler, bilginin doğrulanmasında, saklanmasında ve iletilmesinde güvenilirliği artırdığından büyük dikkat çekmektedir. Bu nedenle kaotik sistemlerin karmaşıklığının artırılması ve dinamik yapının zenginleştirilmesine yönelik birçok çalışma gerçekleştirilmiştir (Lai ve ark., 2020; Yang ve ark., 2020; Yu ve ark., 2021).

Kaotik sistemler hiperkaotik olarak modellenerek dinamik yapı zenginleştirilebilir. Hiperkaotik sistemler, kaotik sistemin dinamik davranışını daha iyi temsil etmektedir. Bu nedenle hiperkaotik sistemler kaotik sistemin başlangıç değer hassasiyet analizinin yapılmasını kolaylaştırır. Başka bir deyişle, başlangıç parametrelerindeki küçük bir değişikliğin, sistemin son değerine etkisi belirlenebilir. Bu durum özellikle kontrol sistemleri için büyük önem arz etmektedir. Hiperkaotik sistemler yapay sinir ağları, doğrusal olmayan devreler, lazer, biyolojik sistemler ve güvenli iletişim gibi geniş uygulamalara sahiptir. Hiperkaotik sistemler ilk olarak 1979'da Rössler tarafından araştırılmıştır (Rössler, 1976). Doğrusal olmayan bir dinamik sistemin hiperkaotik davranış sergilemesi için birçok yöntem vardır. Bu yöntemlerden kesir dereceli integratörler kullanılarak modellemek en kolay olanıdır. Böylelikle kesir dereceli tasarım ile dinamik sistemler, kompleks dinamik özelliklere sahip alternatif bir yaklaşım sunar. Kesir dereceli sistemler, yakınsatılmış tam dereceli sistemlere göre sistem davranışları gerçeğe en yakın şekilde modellenebildiğinden, kaotik dinamik sistemlerde kompleks yapıyı artırmıştır (Petraš ve ark., 2009). Kesir dereceli sistem davranışları, kaotik tabanlı osilatörlerin hiperkaos davranış göstermesine neden olur (Cafagna ve ark., 2009). Kaotik dinamik sistemlerde hiperkaotik davranış, kaos tabanlı birçok uygulamada, kriptoloji, güvenli haberleşme, gibi önemli bir tercih sebebi olmaktadır (Caponetto ve ark., 2014). Geleneksel haberleşme sistemlerinde bilgi sinyalinin taşındığı yörünge periyodik, kanal sayısının ise az olması güvenilirliği azaltırken, kaotik sistemlerde yörünge rasgele olup birçok parametre hassasiyeti vardır. Buna ek olarak hiperkaotik davranış gösteren haberleşme sistemlerinde yörünge sayısı ile birlikte kanal sayısı da artırıldığından bilgi güvenliği de artırılmış olur.

Diğer taraftan çoklu çeker yapısına sahip kaotik dinamik sistemler de zengin dinamik yapıya sahiptir. Doğrusal olmayan sistemlerde kaotik çeker sayıları ile sistemin denge noktaları arasında bir ilişki olduğu Shilnikov tarafından incelenmiştir (Shilnikov, 1965). Buna göre, sistemin kaotik davranış sergileyebilmesi için en az bir kararsız denge noktası olması gerekmektedir. Bu kararsız denge noktasından da bir çeker üretilebilir. Dolayısıyla kararsız denge noktaları artırılarak çeker sayısı artırılabilir. Kaotik dinamik sistemlerde karmaşıklığın artırılması için çoklu çeker yapıları da bir diğer yoldur. Bu konuda yapılan birçok çalışmada da çoklu çekerler üretmek için bir dizi kararsız denge noktası oluşturulmaktadır. Bu denge noktalarının oluşturulmasında çoğu zaman anahtarlamalı fonksiyonlar kullanılmaktadır. Literatürde, polinom fonksiyonu, testere dişi fonksiyonu, hiperbolik fonksiyon ve basamak fonksiyonu eklenerek çoklu kaotik çeker üretebilir (Lü ve ark., 2004; Si-Min, 2005; Lü ve ark., 2006). Denge noktaları olmadan çoklu kaotik çeker yapılarını elde etmek ve pratik olarak uygulamak oldukça zordur. Ancak sinüs fonksiyonu kullanılarak çoklu çekerler üretmek mümkün

olmaktadır (Tang ve ark., 2001; Yalçın, 2007; Ma ve ark., 2014). Trigonometrik fonksiyon herhangi bir sistemin karmaşıklığını arttırdığından, kaotik sistemlerde trigonometrik fonksiyon kullanılmasının kaotik sistemlerde karmaşıklığı artırarak haberleşme güvenliğini artırabileceği gözlemlenmiştir (Kocarev, 2001). Çoklu çeker yapısına sahip kaotik sistemlerin, güvenli iletişim, kaotik kriptanaliz ve görüntü şifreleme için kaos tabanlı uygulamalarda, az sayıda kaotik çekerle sahip sistemlere göre çok daha fazla karmaşıklık taşıdığı doğrulanmıştır (Gámez-Guzmán ve ark., 2008; Gámez-Guzmán ve ark., 2009; Orue ve ark., 2010). Çok çekerli olarak kaotik sistemlerin üretilmesi, kontrol edilmesi ve senkronize edilmesi birçok araştırmada ilgi odağı olmuştur (Dadras ve ark., 2010; Ai ve ark., 2015).

Bu çalışmada; Sprott G kaotik sisteminin karmaşıklığının artırılması amaçlanmıştır. İlk olarak kaotik sistem kesir dereceli olarak modellenerek hiperkaotik özellik sergilemesi ve böylelikle gerçek dinamik davranışı göstermesi sağlanmıştır. Elde edilen hiperkaotik Sprott G kaotik sistemde tek çeker yapısı olduğundan, karmaşıklığı artırmak için çoklu çeker yapısına dönüştürülmüştür. Kaotik sistemin çoklu çeker yapısına dönüştürülmesi için trigonometrik 'cos' fonksiyonu eklenerek çoklu kaotik çeker elde edilmiştir. Çalışmanın materyal metot bölümünde Sprott G kaotik sisteminin orijinal yapısı için faz uzay gösterimleri ve Lyapunov üstelleri simülasyon sonuçları verilmiştir. Bulgular ve tartışma bölümünde ise hiperkaotik Sprott G sisteminin simülasyon analizi ve çoklu çeker yapısı için önerilen denklemler, Lyapunov hesaplamaları ve simülasyon sonuçları verilmektedir.

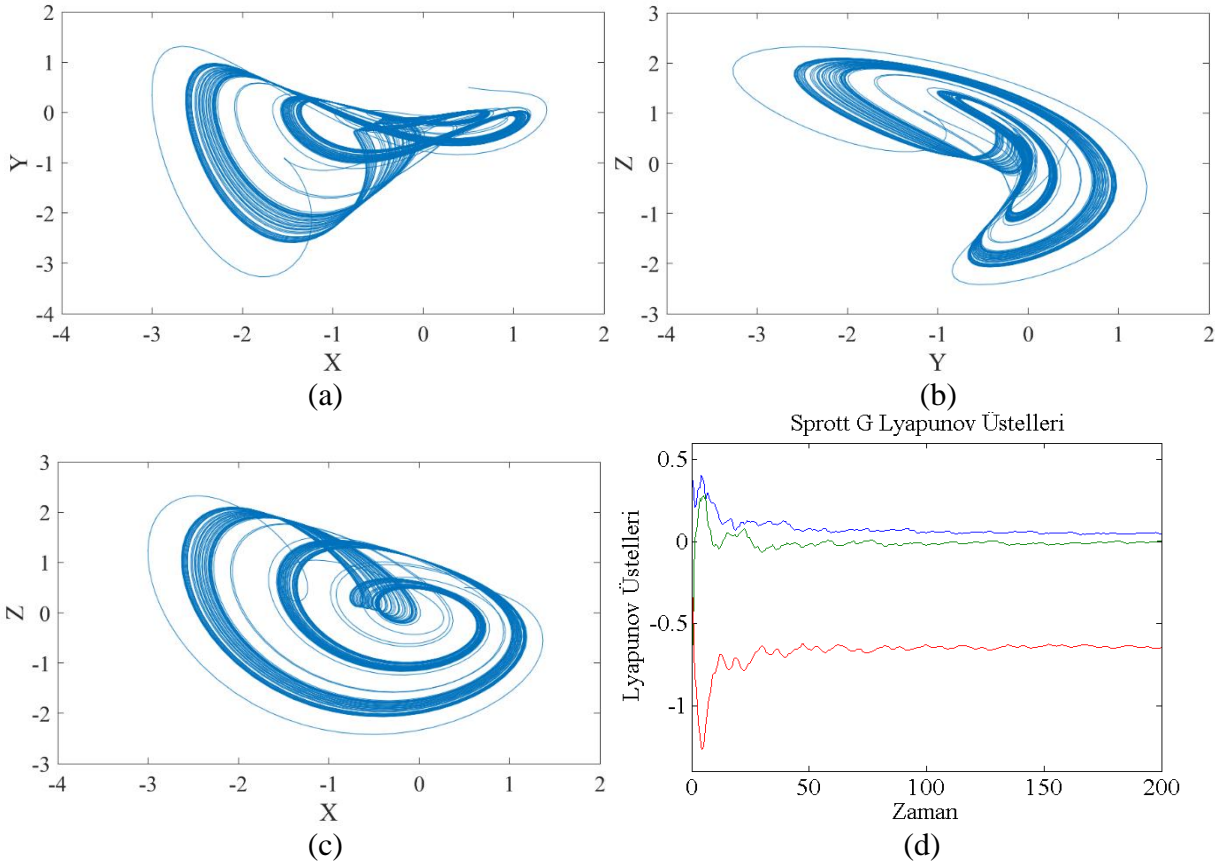
MATERYAL VE METOT

Sprott G Kaotik Dinamik Sistemi

1994 yılında Sprott, dinamik denklem takımında yediden daha az terim bulunduran üç boyutlu otonom kaotik dinamik sistem tasarımları geliştirdi. Bu kaotik dinamik denklemlerde doğrusal olmayan terim ikinci dereceden veya iki durum değişkeninin birbiriyle çarpımından elde edilmiştir. Üç boyutlu diferansiyel denklemlerle ifade edilebilen bir veya iki denge noktasına sahip 19 adet kaotik sistem tanımlanmıştır. Bu bölümde, bir adet denge noktasına sahip Sprott G kaotik sistemini dinamik denklemleri, faz uzay gösterimi ve Lyapunov üstelleri verilmektedir (Sprott, 1994).

$$\begin{aligned}\dot{x} &= 0.4x + z \\ \dot{y} &= xz - y \\ \dot{z} &= -x + y,\end{aligned}\tag{1}$$

Eşitlik 1. ile verilen Sprott G kaotik sisteminde x, y, z sistemin durum değişkenlerini, $x_0 = 0.5, y_0 = 0.5$ ve $z_0 = 0.5$ başlangıç değerleri için elde edilen Şekil 1'de gösterilen kaotik çekerler ve Lyapunov üstelleri incelendiğinde bir adet kaotik çeker ve denge noktası olduğu görülmektedir. Buna göre kaotik sistemin Lyapunov üstelleri $L_1 = 0.046904, L_2 = -0.001269$ ve $L_3 = -0.648173$ olarak hesaplanmıştır. Buna göre bir adet pozitif Lyapunov üstelinin olması sistemin kaotik davranışını doğrulamaktadır.



Şekil 1. Sprott G kaotik sisteminin: (a) x-y faz uzay gösterimi, (b) y-z faz uzay gösterimi, (c) x-z faz uzay gösterimi, (d) Lyapunov üstelleri.

Yukarıdaki sonuçlardan, sistemin tek çekerli kaotik yapıda olduğu görülmektedir. Ancak sistemin özellikle güvenilir haberleşme sistemlerinde kullanılabilmesi için karmaşıklığının artırılması gerekmektedir. Bunun için öncelikle hiperkaotik yapıya dönüştürülmesi sonrasında ise çoklu çeker yapıya dönüştürülmesi amaçlanmaktadır.

Kesir Dereceli Sprott G Kaotik Dinamik Sistemi

Kesir dereceli analiz, kontrol sistemleri başta olmak üzere birçok sistemi tanımlayan denklemlerdeki integratör derecelerinin gerçeğe en yakın olarak belirlenmesini sağlayan bilim dalıdır (Miller ve ark., 1993). Kesir dereceli analizin doğrusal olmayan sistemlerde kullanılması kaos tabanlı birçok sistemin tasarımını ve geliştirilmesini kolaylaştırmıştır (Caponetto ve ark., 2014). Kesir dereceli hesaplamalar, Leibniz ve L'Hopital, tarafından ilk olarak literatürde kullanılmış ve araştırılmıştır (Ross, 1977). Ancak kesir dereceli analiz yöntemlerinde hesaplamaların karmaşık olması kullanım alanlarını da kısıtlamaktadır. Bu nedenle birçok sistemin tasarımında hesap adımlarının kolaylaştırılması için integral operatörler tam dereceli değerlere yakınsatılmıştır. Kesir dereceli sistemlerin analizi için birçok metot kullanılmıştır (Charef ve ark., 1992). Bu metotlar kullanılarak kaos tabanlı sistemlerin yeniden modellenmesiyle dinamik yapıların karmaşıklığını artıracak yeni bir parametre eklenmiş olur. Ayrıca hassas dinamik denklemlere sahip kaotik sistemlerin gerçeğe en yakın modellenmesine katkı sağlamıştır.

Kesir dereceli analizi yapılan Sprott G kaotik dinamik sistem Eşitlik 2. ile verilmiştir (Sprott, 1994).

$$\begin{aligned}
 D_t^{q1} x(t) &= 0,4 \cdot x(t) + z(t) \\
 D_t^{q2} y(t) &= x(t) \cdot z(t) - y(t) \\
 D_t^{q3} z(t) &= -x(t) + y(t),
 \end{aligned}
 \tag{2}$$

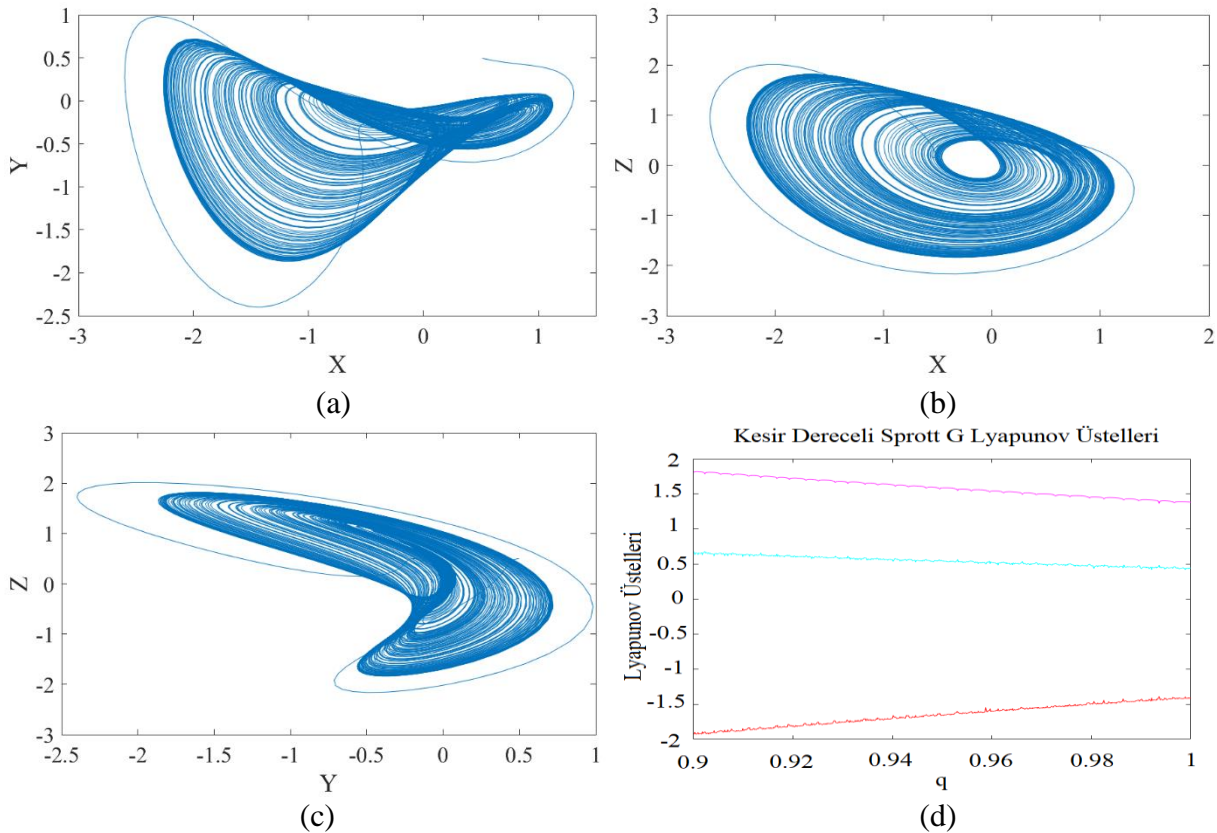
Burada q_1 , q_2 ve q_3 durum denklemlerinin kesir derecesini, $D_t^{q_1} x(t)$ x durum değişkeni için q_1 kesir dereceli integratörü, $D_t^{q_2} y(t)$; y durum değişkeni için q_2 kesir dereceli integratörü ve $D_t^{q_3} z(t)$; z durum değişkeni için q_3 kesir dereceli integratörü ifade etmektedir.

Kesir dereceli analizi yapılacak sistemin analog tabanlı, sayısal tabanlı veya simülasyon çalışmasının yapılabilmesi için transfer fonksiyonunun elde edilmesi gerekmektedir. Sistemin transfer fonksiyonu, integratör yapısının yerine hesaplamalarda kullanılacak kesir dereceli laplace dönüşümünü ifade etmektedir. Bu nedenle sistemi temsil edebilen minimum kesir derecesinin hesaplanması gerekir. Minimum kesir derecesi için sistemin öz değerleri hesaplanır. Eşitlik 3. kullanılarak sistemin hesaplanan öz değerlerinden kesir dereceleri bulunur. Bu kesir derecelerinin en büyüğü sistemin kesir derecesi olarak belirlenir (Matignon, 1996).

$$|\arg(\lambda_i)| > \alpha\pi/2$$

$$\alpha = \max(q_1, q_2, \dots, q_n) \quad (i = 1, 2, \dots, n). \quad (3)$$

Kesir dereceli analizi yapılan Sprot G kaotik sisteminin $x_0 = 0.5$, $y_0 = 0.5$, $z_0 = 0.5$ başlangıç değerleri için öz değerleri $\lambda_1 = -1.094$, $\lambda_2 = 0.247 - i0.761$ ve $\lambda_3 = 0.247 + i0.761$ olarak hesaplanmıştır. Buradan, $\arg(\lambda_1) = \pi$, $\arg(\lambda_2) = 1.25695$ ve $\arg(\lambda_3) = -1.25695$, sistemin kesir derecesi ise $\max(q_1, q_2, q_3)$ ifadesinden $\alpha = q_1 = q_2 = q_3 = 0,7998$ olarak bulunmuştur. Kesir derecesi 0,7998 alınarak hesaplanan Lyapunov üstelleri $L_1 = 1.3796$, $L_2 = 0.4422$ ve $L_3 = -1.4128$ olarak hesaplanmıştır. Lyapunov üstelleri incelendiğinde bunlardan ikisinin pozitif olması sistemin hiperkaotik olduğunu göstermektedir. Ayrıca Şekil 2 ile benzetimi yapılan sistemdeki hiperkaotik davranış ve Lyapunov üstel grafiği verilmektedir.



Şekil 2. Kesir Dereceli Sprot G kaotik sisteminin: (a) x-y faz uzay gösterimi, (b) y-z faz uzay gösterimi, (c) x-z faz uzay gösterimi, (d) Lyapunov üstelleri

Kesir dereceli modelleme ile Sprot G kaotik sistemi hiperkaotik davranış sergilemeye başlamıştır. Hiperkaotik davranışla yörünge sayısının artması, haberleşme sistemleri için kanal sayısı artırmaktadır.

Kanal sayısının artması sistemi daha güvenilir hale getirmektedir. Sonraki bölümde kesir dereceli Sprot G sistemine \cos fonksiyonu eklenerek sistemin denge noktası artırılacak ve çoklu kaotik çeker yapısı elde edilecektir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Trigonometrik Fonksiyon ile Kesir Dereceli Çoklu Çeker Sistemi

Çoklu kaotik çeker oluşturma, kaos çalışmaları arasında her zaman dikkate değer konulardan biri olmuştur. PWL, testere dişi fonksiyonu, adım dalga fonksiyonu, histerezis serisi, anahtarlama fonksiyonu, sinüs fonksiyonu ve hiperbolik tanjant fonksiyonu kullanılarak birçok çoklu kaotik çeker yapıları oluşturulabilir. Önerilen çalışmada \cos fonksiyonu kullanılarak denge nokta sayısının ve çeker sayısının artırılması amaçlanmıştır. Çoklu çeker kaotik sistemlerin elde edilmesiyle kaos sistemlerinde karmaşık yapının artırılması amaçlanır. Önerilen çalışmada kesir dereceli olarak modellenen Sprot G kaotik sistemi Eşitlik 4. ile yeniden düzenlenmiştir. Eşitlik 4. ile önerilen sistemde A, B ve C ifadeleri sırasıyla Eşitlik 5., Eşitlik 6. ve Eşitlik 7. ile açıklanmıştır. Eşitlik 5.'te A parametresi olarak açıklanan denklem f_{s1} frekansı ile anahtarlanarak x_1 durum değişkenini kullanarak $D_t^{q1}x(t)$ ve $D_t^{q2}x(t)$ denklemlerine trigonometrik fonksiyon olarak eklemiştir. Eşitlik 6.'da B parametresi olarak verilen ve f_{s2} frekansı ile anahtarlanarak x_3 durum değişkeni ile $D_t^{q2}x(t)$ denkleminde trigonometrik fonksiyon olarak eklenmiştir. Eşitlik 7.'de C parametresi olarak verilen ifade ise f_{s3} frekansı ile anahtarlanarak x_2 durum değişkenini $D_t^{q2}x(t)$ ve $D_t^{q3}x(t)$ denklemlerine \cos fonksiyonu kullanarak geri beslemeli olarak eklenmiştir.

$$D_t^{q1}x_1(t) = 0,4 \cdot x_1(t) + A$$

$$D_t^{q2}x_2(t) = A \cdot B - C \quad (4)$$

$$D_t^{q3}x_3(t) = -x_1(t) + C,$$

$$A = \begin{cases} 0,01\cos(x_1) - 0,9; & f_{s1} > 0 \\ 0,01\cos(x_1) + 0,9; & f_{s1} < 0 \end{cases} \quad (5)$$

$$B = \begin{cases} -0,01\cos(x_3) + 1,1; & f_{s2} > 0 \\ 0,01\cos(x_3) + 1,1; & f_{s2} < 0 \end{cases} \quad (6)$$

$$C = \begin{cases} -0,01\cos(x_2) + 1,1; & f_{s3} > 0 \\ 0,01\cos(x_2) + 1,1; & f_{s3} < 0 \end{cases} \quad (7)$$

$D_t^{q1}x_1(t)$, $D_t^{q2}x_2(t)$ ve $D_t^{q3}x_3(t)$ durum denklemleri $f_{s1} = f$, $f_{s2} = 2f$ ve $f_{s3} = 4f$, olan anahtar frekanslarında sıfır eşik geriliminde anahtarlama yaparak durum değişkenlerini ikili olarak kontrol etmiştir. Buna göre;

f_{s1} anahtarlama frekansında üretilen anahtarlama sinyali ile $D_t^{q1}x_1(t)$ durum denklemi Eşitlik 8. ile ifade edilmektedir.

$$\begin{aligned} D_t^{q1}x_1+ &= 0,4 \cdot x_1(t) + 0,01\cos(x_1) - 0,9, & f_{s1} > 0 \\ D_t^{q1}x_1- &= 0,4 \cdot x_1(t) + 0,01\cos(x_1) + 0,9, & f_{s1} < 0 \end{aligned} \quad (8)$$

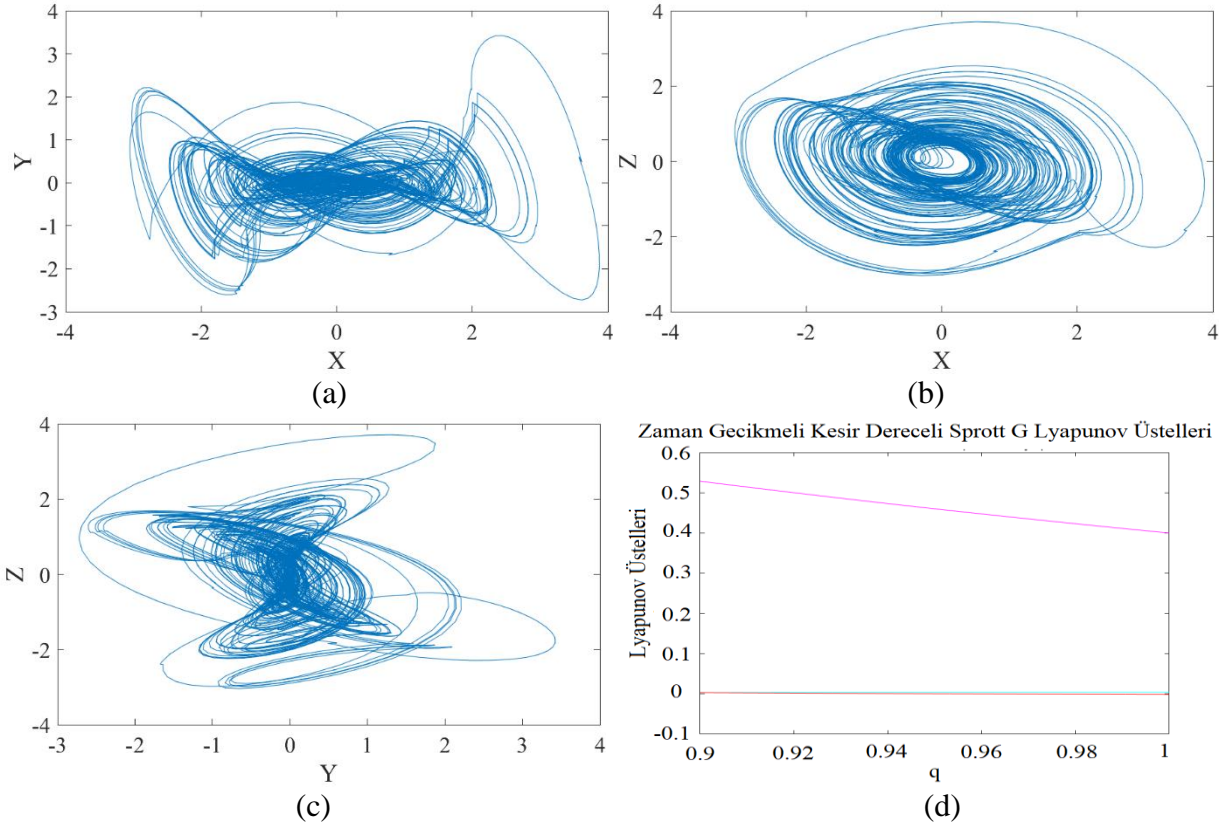
f_{s2} anahtarlama frekansında üretilen anahtarlama sinyali ile $D_t^{q2}x_2(t)$ durum denklemi Eşitlik 9. ile ifade edilmektedir.

$$\begin{aligned} D_t^{q2}x_2+ &= (0,01\cos(x_1) \pm 0,9)(-0,01\cos(x_3) + 1,1) - (\pm 0,01\cos(x_2) + 1,1), & f_{s2} > 0 \\ D_t^{q2}x_2- &= (0,01\cos(x_1) \pm 0,9)(+0,01\cos(x_3) + 1,1) - (\pm 0,01\cos(x_2) + 1,1), & f_{s2} < 0 \end{aligned} \quad (9)$$

f_{s3} anahtarlama frekansında üretilen anahtarlama sinyali ile $D_t^{q3}x_3(t)$ durum denklemi Eşitlik 10. ile ifade edilmektedir.

$$\begin{aligned} D_t^{q3} x_3(t) &= -x_1(t) - 0,01\cos(x_2) + 1,1, & f_{s3} > 0 \\ D_t^{q3} x_3(t) &= -x_1(t) + 0,01\cos(x_2) + 1,1, & f_{s3} < 0 \end{aligned} \quad (10)$$

Yukarıdaki Eşitlikler için $q = 0.8$ kesir derecesindeki sistemin Lyapunov üstelleri $L_1 = 0.3997$, $L_2 = 0.0045$ ve $L_3 = -0.0013$ olarak hesaplanmıştır. Sistemin bilgisayar benzetimi Eşitlik 4., Eşitlik 5., Eşitlik 6. ve Eşitlik 7. kullanılarak gerçekleştirilmiş, sonuçları ve Lyapunov üstel grafiği Şekil 3 ile verilmiştir.



Şekil 3. Trigonometrik Fonksiyon Kullanılarak Elde Edilen Kesir Dereceli Sprott G kaotik sisteminin: (a) x-y faz uzay gösterimi, (b) y-z faz uzay gösterimi, (c) x-z faz uzay gösterimi, (d) Lyapunov üstelleri.

Yapılan çalışmalar sonucunda çoklu çeker hiperkaotik yapı trigonometrik parametreler eklenerek elde edilmiştir. Çeker yapılarından da gözlemlendiği gibi haberleşme sistemlerinde bilgi sinyalini taşıyacak olan kanalların yörüngeleri ve izledikleri yolların karmaşıklığı artırılmıştır. Ayrıca Lyapunov üstellerinin ikisinin pozitif olması hiperkaotik davranışın devam ettiğinin bir göstergesidir. Kesir dereceli tasarım, sistemde yörünge sayısını artırmakla beraber haberleşme sistemleri için yeni bir parametre olmuştur. Kaotik sistem dinamik olarak ne kadar zenginse, güvenli iletişim için daha uygun olacaktır. Sistemin çoklu çeker hiperkaotik davranışı kriptoloji, güvenli haberleşme gibi birçok uygulama için önemli bir tercih sebebi olmaktadır.

SONUÇ

Çalışmada, trigonometrik fonksiyon ile kesir dereceli çoklu kaotik çekerler oluşturularak, denge noktası, Lyapunov üsteli gibi teorik analizlerin simülasyonu yapılarak sunulmuştur. Bu çalışma ile geri beslemeli trigonometrik \cos fonksiyonunun eklenmesiyle bir sistemin aynı zamanda çoklu çeker oluşturmak için de kullanılabileceği Sprott G sistemi dinamik denklemleri kullanılarak gösterilmiştir. Orijinal kaotik sistemle karşılaştırıldığında trigonometrik fonksiyon ile elde edilen kaotik yapının birden fazla pozitif Lyapunov üssü ve dolayısıyla daha karmaşık davranışı vardır. Bu bileşik çoklu kaydırma

çekicilerini kullanan şifreleme şemasının performansı, gelecekteki çalışmalarda daha fazla ele alınacaktır.

Çıkar Çatışması

Makaleye ait çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve makalenin yazılması aşamalarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim.

Yazar Katkısı

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması makale tek yazarı olarak tarafımda yapıldığını beyan ederim.

KAYNAKLAR

- Ai X, Sun K, He S, Wang H, 2015. Design of grid multiscroll chaotic attractors via transformations. *International Journal of Bifurcation and Chaos*, 25(10): 1530027.
- Alvarez G, Li S, 2006. Some basic cryptographic requirements for chaos-based cryptosystems. *International journal of bifurcation and chaos*, 16(08): 2129-2151.
- Boccaletti S, Kurths J, Osipov G, Valladares DL, Zhou CS, 2002. The synchronization of chaotic systems. *Physics reports*, 366(1-2): 1-101.
- Cafagna D, Grassi G, 2009. Hyperchaos in the fractional-order Rössler system with lowest-order. *International Journal of Bifurcation and Chaos*, 19(01): 339-347.
- Caponetto R, Dongola G, Maione G, Pisano A, 2014. Integrated technology fractional order proportional-integral-derivative design. *Journal of Vibration and Control*, 20(7): 1066-1075.
- Charef A, Sun HH, Tsao YY, Onaral B, 1992. Fractal system as represented by singularity function. *IEEE Transactions on automatic Control*, 37(9): 1465-1470.
- Dadras S, Momeni HR, 2010. Four-scroll hyperchaos and four-scroll chaos evolved from a novel 4D nonlinear smooth autonomous system. *Physics Letters A*, 374(11-12): 1368-1373.
- Gámez-Guzmán L, Cruz-Hernández C, López-Gutiérrez RM, García-Guerrero EE, 2008. Synchronization of multi-scroll chaos generators: application to private communication. *Revista Mexicana de Física*, 54(4): 299-305.
- Gámez-Guzmán L, Cruz-Hernández C, López-Gutiérrez RM, García-Guerrero EE, 2009. Synchronization of Chua's circuits with multi-scroll attractors: application to communication. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 14(6): 2765-2775.
- Han F, Hu J, Yu X, Wang Y, 2007. Fingerprint images encryption via multi-scroll chaotic attractors. *Applied Mathematics and Computation*, 185(2): 931-939.
- Kocarev L, 2001. Chaos-based cryptography: a brief overview. *IEEE Circuits and Systems Magazine*, 1(3): 6-21.
- Lai Q, Wan Z, Kengne LK, Kuate PDK, Chen C, 2020. Two-memristor-based chaotic system with infinite coexisting attractors. *IEEE Transactions on Circuits and Systems II: Express Briefs*, 68(6): 2197-2201.
- Lorenz EN, 1963. Deterministic nonperiodic flow. *Journal of atmospheric sciences*, 20(2), 130-141.
- Lü J, Chen G, 2006. Generating multiscroll chaotic attractors: theories, methods and applications. *International Journal of Bifurcation and Chaos*, 16(04): 775-858.
- Lü J, Han F, Yu X, Chen G, 2004. Generating 3-D multi-scroll chaotic attractors: A hysteresis series switching method. *Automatica*, 40(10): 1677-1687.
- Ma J, Wu X, Chu R, Zhang L, 2014. Selection of multi-scroll attractors in Jerk circuits and their verification using Pspice. *Nonlinear Dynamics*, 76(4): 1951-1962.

- Matignon D, 1996. Stability results for fractional differential equations with applications to control processing. In *Computational Engineering in Systems Applications*, 2: 963-968.
- Miller KS, Ross B, 1993. *An introduction to the fractional calculus and fractional differential equations*. Wiley.
- Orue AB, Alvarez G, Pastor G, Romera M, Montoya F, Li S, 2010. A new parameter determination method for some double-scroll chaotic systems and its applications to chaotic cryptanalysis. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 15(11): 3471-3483.
- Pecora LM, Carroll TL, 1990. Synchronization in chaotic systems. *Physical Review Letters*, 64(8): 821.
- Petráš I, Bednářová D, "Fractional - order chaotic systems", *Emerging Technologies & Factory Automation 2009. ETFA 2009. IEEE Conference on*, pp. 1-8, 2009.
- Ross B, 1977. The development of fractional calculus 1695–1900. *Historia Mathematica*, 4(1): 75-89.
- Rössler OE, 1976. An equation for continuous chaos. *Physics Letters A*, 57(5): 397-398.
- Shilnikov LP, 1965. A case of the existence of a denumerable set of periodic motions. In *Doklady Akademii Nauk, Russian Academy of Sciences*, 160: 558-561.
- Si-Min Y, 2005. Circuit implementation for generating three-dimensional multi-scroll chaotic attractors via triangular wave series [J]. *Acta Physica Sinica*, 4.
- Tang WK, Zhong GQ, Chen G, Man KF, 2001. Generation of n-scroll attractors via sine function. *IEEE Transactions on Circuits and Systems I: Fundamental Theory and Applications*, 48(11):1369-72.
- Yalçın ME, 2007. Multi-scroll and hypercube attractors from a general jerk circuit using Josephson junctions. *Chaos, Solitons & Fractals*, 34(5): 1659-1666.
- Yang F, Mou J, Liu J, Ma C, Yan H, 2020. Characteristic analysis of the fractional-order hyperchaotic complex system and its image encryption application. *Signal Processing*, 169, 107373.
- Yu F, Shen H, Zhang Z, Huang Y, Cai S, Du S, 2021. A new multi-scroll Chua's circuit with composite hyperbolic tangent-cubic nonlinearity: Complex dynamics, Hardware implementation and Image encryption application. *Integration*.

Atf İçin: Cangi H, Adak S, Yılmaz AS, 2021. Fotovoltaik Hücre I-V ve P-V Eğrileri Üzerine Sıcaklığın Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2682-2694.

To Cite: Cangi H, Adak S, Yılmaz AS, 2021. Effect of Temperature on The I-V and P-V Curves of The Photovoltaic Cell. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2682-2694.

Fotovoltaik Hücre I-V ve P-V Eğrileri Üzerine Sıcaklığın Etkisi

Hasan CANGI, Süleyman ADAK, Ahmet Serdar YILMAZ

ÖZET: Fotovoltaik (FV) hücreler, yüzeylerinden gelen güneş ışığını doğrudan elektrik enerjisine dönüştüren yarı iletken malzemelerdir. Güneş panelleri, güneş pillerinin yapısına bağlı olarak %5 ile %20 arasında verimlilikle elektrik enerjisine dönüştürülebilir. FV hücrelerinin elektrik enerjisi üretimini etkileyen birçok faktör vardır. Bu faktörler güneş pillerinin verimi, güneşlenme süresi, nem, toz, güneş ışınımı ve sıcaklık gibi faktörlerdir. Bu makalede, sıcaklığın FV hücre Akım-Gerilimi (I-V) ve Güç-Akım (P-V) eğrileri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Düşük sıcaklıklar, güneş pili verimini olumsuz etkilemezken, yüksek sıcaklıklar üretkenliği önemli ölçüde azaltır. Bu çalışma 10 (°C), 30 (°C) ve 50 (°C) ortam sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığın FV güneş pilinin P-V ve I-V üzerindeki etkisi Matlab / Simulink yazılım programı ile analiz edilmiş ve çizilmiştir. Bir fotovoltaik hücrenin verimliliği, esas olarak ortam sıcaklığına, FV hücre sıcaklığına, güneş ışınlama yoğunluğuna ve FV hücrenin ürettiği yarı iletken malzemenin türüne bağlıdır. Bu çalışmada, FV hücre kataloğu verileri kullanılarak, panelin eşdeğer devresi Matlab yazılım programında modellenmiş ve sıcaklık değişimlerinin FV hücre gücü üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: FV hücre tek diyot eşdeğer devre modellemesi, PV hücre I-V ve V-P özellikleri, FV hücre sıcaklığı, FV hücre tek diyot eşdeğer devresi, Ortam sıcaklığı.

Effect of Temperature on The I-V and P-V Curves of The Photovoltaic Cell

ABSTRACT: Photovoltaic (PV) cells are semiconductor materials that convert sunlight coming on their surfaces directly into electrical energy. Solar panels can be converted into electrical energy with efficiency between 5% and 20% depending on the structure of the solar cells. There are many factors which affect the PV cells' generation of electrical energy. These factors are such as efficiency of the solar cells, sunshine duration, humidity, dust, solar radiation and temperature. In this article, the effect of temperature on the PV cell current-voltage (I-V) and power-current (P-V) curves were investigated. Low temperatures do not adversely effect on solar cell efficiency, while high temperatures reduce productivity significantly. This study was carried out for 10 (°C), 30 (°C) and 50 (°C) of ambient temperature. The effect of temperature on the P-V and I-V of the PV solar cell analyzed and plotted by Matlab/Simulink software program. The efficiency of a photovoltaic PV cell mainly depends on the ambient temperature, PV cell temperature, solar irradiation intensity and the type of semiconductor materiel which the PV cell is produced. In this study, using the PV cell catalog data, the equivalent circuit of the panel is modeled in Matlab software program and the effects of temperature changes on the PV cell power have been investigated.

Keywords: PV cell single diode equivalent circuit modeling, PV cell I-V and V-P features, PV cell temperature, PV cell single diode equivalent circuit, Ambient temperature.

¹Hasan CANGI ([Orcid ID: 0000-0001-6954-7299](https://orcid.org/0000-0001-6954-7299)), HasCan Mühendislik, Elektrik-Elektronik Teknolojileri Bölümü, Mardin, Türkiye

² Süleyman ADAK ([Orcid ID: 0000-0003-1436-2830](https://orcid.org/0000-0003-1436-2830)), Mardin Artuklu Üniversitesi, Mardin MYO, Elektrik ve Enerji Bölümü, Mardin, Türkiye

³ Ahmet Serdar YILMAZ ([Orcid ID: 0000-0001-8082-5448](https://orcid.org/0000-0001-8082-5448)), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Hasan CANGI, hasancangi@yahoo.com

INTRODUCTION

Solar energy is a powerful source of energy obtained from solar photons. Its important advantages that solar energy is a renewable energy source and it can be always used anywhere in the world. The solar photons are converted into electrical energy through solar panels. This energy is an alternative to fossil fuels. Fossil resources such as coal, oil and natural gas, which are not renewable energy. As the reserves of these resources decrease, their prices increase. Fossil resources have great damage to the environment. They reduce the amount of oxygen in the atmosphere and cause air pollution. Solar energy is the most important among the renewable energy sources. This energy does not have a negative effect on the environment. The simulink scheme for plotting I-V and P-V curves at different temperature values is given in Figure 1.

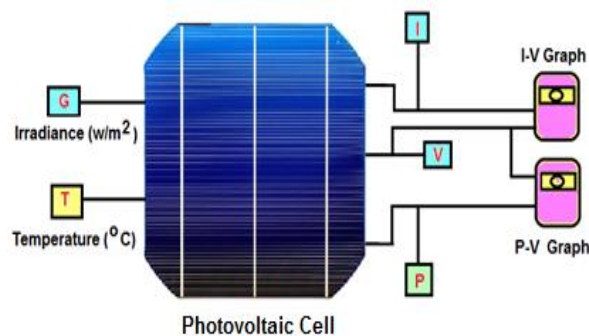


Figure 1. Schematic Diagram of PV Cell for Plotting the I-V and P-V Curves

The design of the simulink equivalent of the photovoltaic system is very important for analyzing the performance and efficiency of photovoltaic systems. PV solar panels are used while generating electricity from solar energy. These solar panels have no harmful effects on the environment during the generation and use of electricity. PV cells are manufactured semiconductor materials converting sunlight into electrical energy. Solar panels are created by combining photovoltaic cells in series and parallel (Villalva et al., 2009; Farivar et al., 2010). The values on the PV panel label are the values determined under standard conditions. In cases where the test results of the PV panel are less or more than the standard test conditions, the output power value of the PV panel may be less or more than the standard test conditions. The PV module consists of a solar cell connected in series, as given in Figure 2.

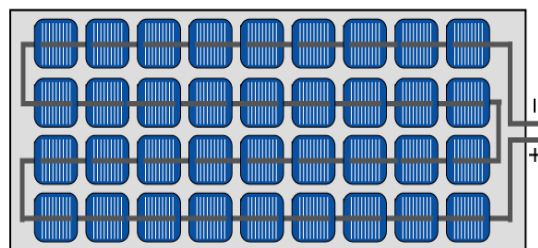


Figure 2. A typical Module with 36 Cells, Series Connected

Solar cells are made up of photovoltaic semiconductor materials. A silicon cell generates approximately 0,5 Volts of voltage. The desired PV module voltage and current value is achieved by connecting the cells in series. A small portion of the solar irradiation energy is absorbed on the PV panel surfaces and converted into electrical energy by the PV cells. The other part of the radiation is reflected back by PV cells. The type of material covering the panel surface is important in order to minimize this reflected part. Various PV cells are used to increase the absorption of the sun's radiation. PV cells made of mono-crystal have higher yields than those made of poly-crystal in environments

where the temperature is too high (Özcelik., 2018; İzgi et al., 2013). When photovoltaic cells are connected in series with each other, the voltage increases and the current remains the same. In parallel combinations of cells, the voltage remains the same and the current increases. Solar panels are created by combining photovoltaic cells in series and parallel. In this way, both voltage and current magnitude increase. Solar panels get their energy from the sun, which is an endless source of energy. Another important reason why PV systems are preferred in energy production is that they are renewable energy systems and have not a negative effect on the environment. The efficiency of monocrystalline solar cells is higher than polycrystalline solar cells. While the efficiency of polycrystalline solar panels is around 15 percent, this value reaches 20 percent in monocrystalline solar panels.

MATERIALS AND METHODS

Material

The PV cells used for analysis of temperature effects on I-V and P-V have been measured in Mardin Artuklu University.

Solar Cell Single Diode Model

The maximum amount of power that the PV cells can give varies depending on the radiation, temperature and other environmental effects. Based on the values of these factors, the voltage, current and power values that can be produced by the PV cells change and the operating characteristics appear according to the conditions. In order to determine these characteristics, PV cells should be modeled. Single diode and double diode models are generally used in PV cell modeling. The PV cell equivalent circuit model consists of a photo-current source, diode connected in parallel to it, and resistors in series and parallel. The practical model of equivalent circuit single diode solar cell model is shown in Figure 3.

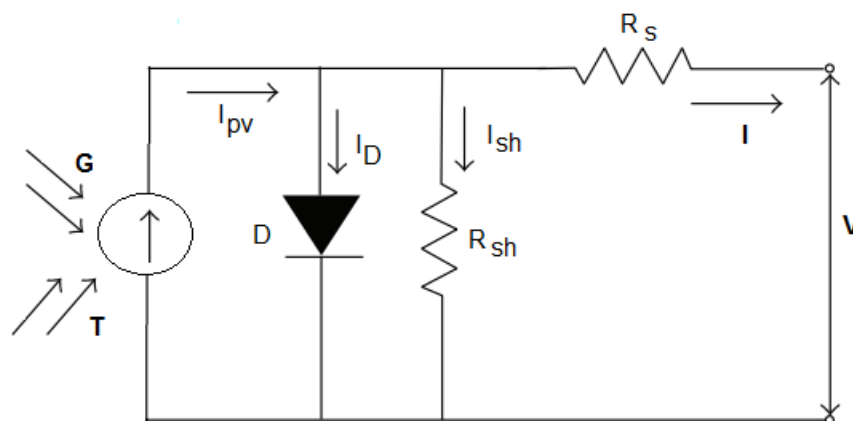


Figure 3. PV Cell Equivalent Circuit

Where, I_{ph} is the photo-current, R_s represents series resistance of PN junction PV cell, n ideality factor of diode and R_{sh} is shunt resistance (Saleem et al., 2009; Mishra et al., 2016). Series resistor has great impact on the I-V characteristic of PV cell. Output current of the PV cell is given below.

$$I = I_{ph} - I_0 \left(e^{\frac{q(V+IR_s)}{nkT_c}} - 1 \right) - \frac{V + R_s}{R_s} \quad (1)$$

Where, V is PV cell output voltage, I is current flowing through the load resistor, q is electron charge, I_{ph} is photo-current, n diode ideality coefficient and k is the Boltzmann constant. PV cells, which are the most basic building blocks of PV systems are semiconductor elements. Solar Irradiation intensity and temperature, which are significantly effective on PV cell equivalent circuit parameters. In

addition, parameters such as series circuit resistance (R_s), parallel circuit resistance (R_p), short circuit current temperature coefficient (μI_{sc}) and open circuit voltage temperature coefficient (μV_{oc}) have a significant effect on PV cell equivalent electrical circuit parameters. Therefore I-V characteristics are not linear. The most suitable semiconductor materials are materials such as silicon, gallium arsenide, cadmium. The power of the produced PV cells varies in proportion to the current passing through the circuit. In order to increase this current, it is necessary to increase the number of electrons and spaces in the photovoltaic structure. It is achieved by increasing the PV cell surface area. The PV cell equivalent circuit ideal model of is presented in Figure 4. It consists of a photo-current source and a diode (Prakash et al., 2016; Hassan., et al., 2017; Joga., et al., 2020). The configuration of ideal solar PV cell as given below.

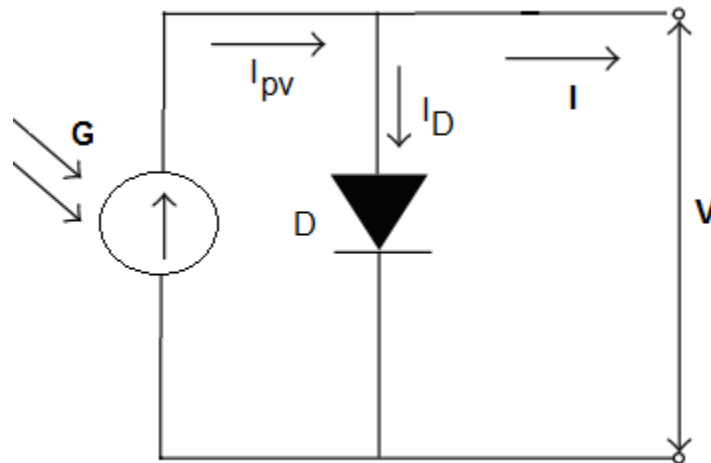


Figure 4. PV Cell Ideal Equivalent Circuit Model

Ideally, the equivalent circuit of a solar cell consists of a diode and a current source parallel to it. In Figure 4, G is the solar irradiance, I_{ph} is the photo-current, I_D is the diode current, n is diode ideality factor, I is output current of PV cell. R_{sh} is greater than the series resistor R_s (Nema et al., 2010; Malla et al., 2012). When we take $R_{sh} = \infty$, the value of I_{sh} can be neglected because it is value very small. The output current of the PV cell as given below.

$$I = I_{ph} - I_0 \left(e^{\frac{q(V+IR_s)}{nkT_c}} - 1 \right) \tag{2}$$

The voltage induced in the PV cell is proportional to the light intensity incident on the cell surface (Özdemir et al., 2017; Rustemli et al., 2011). The open circuit voltage (V_{oc}) of a PV cell is the voltage measured at the cell end terminals when the current flowing through the cell is zero. The main effect of the increase in solar cell temperature is on the open circuit voltage. Open circuit voltage decreases with cell temperature. The voltage value with the highest power determined by using the current-voltage curve of the cell or panel. It is found by the following equation.

$$V_{oc} = \frac{nkT}{q} \ln \left(\frac{I_{ph}}{I_0} + 1 \right) \tag{3}$$

Open circuit voltage in the solar cell is the voltage value measured at both ends when no load is connected to the solar cell. It is the voltage value we see when we measure the plus and minus ends of the cell with an avometer at maximum irradiance intensity of $1000 \text{ (W/m}^2\text{)}$. This value is a criterion for the efficiency, quality, of the panel's cells. The open circuit voltage value decreases as temperature increases. If a load is connected to the output terminals of the PV cell, a current flows through the load. PV cell diode current is as given in equation (4).

$$I_d = I_0(e^{\frac{qV}{nkT}} - 1) \tag{4}$$

When the photovoltaic cell is not excited by light energy, it behaves like a standard diode. Any PV cell model is based on diode behavior, which gives to PV cell its exponential characteristic. The PV cell acts as a current source and the photo-current (I_{ph}) it produces is proportional to the irradiation it receives from the sun. PV cell I_{ph} equation is given below:

$$I_{ph} = [I_{sc} + K_i(T - 298)] \frac{G}{1000} \tag{5}$$

In this equation, I_{sc} is current flowing in case of direct short circuit of the positive and negative power outputs of the cell or panel with no load. G is the irradiance value and I_{sc} is the short circuit current, This current occurs when the ends of the panel are short-circuited. and is theoretically the highest current a solar panel can produce. The photovoltaic cell is made of semiconductor materials that absorb the rays emitted by the sun and convert it into electric current. Photo-current depends on temperature, solar irradiation and short circuit current. The simulink circuit of the photo-current is as given in Figure 5.

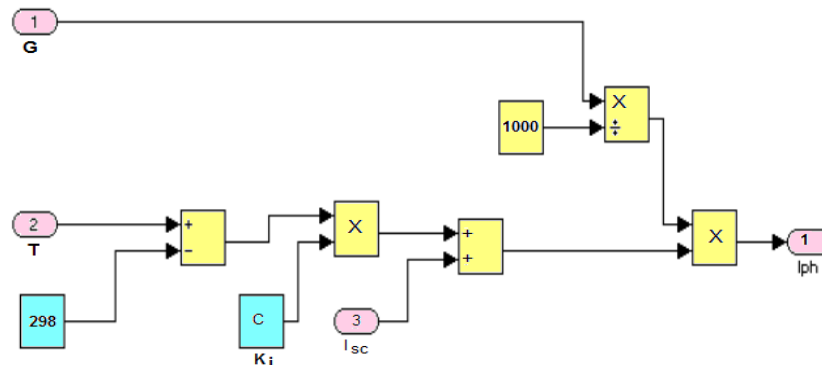


Figure 5. Simulink Model of PV Cell Photo-Current

The photo-current source is directly proportional to photon falling on the to cell surface. The current at maximum point as defined by Eq. (6).

$$I_{mp} = I_{ph} - I_0(e^{\frac{q(V_{mp} + I_{mp}R_s)}{nkT_c}} - 1) - \frac{V_{mp} + I_{mp}R_s}{R_{sh}} \tag{6}$$

The current value with the highest power, which is determined by using the current-voltage curve of the PV cell or panel. Mathematical models of PV cells are to relate the relationship between the current and voltage values of the PV cell with the irradiation intensity falling on the cell and the surface temperature of the cell. In some cases, analytical expressions are used for open circuit temperature coefficient and short circuit temperature coefficient to calculate parameters instantaneously. To use PV models, the values of the circuit parameters should be determined. Reverse saturation current of diode can be defined by the following equation (7).

$$I_o = I_{o_{ref}} \left(\frac{T}{T_{nom}}\right)^3 \exp\left[\left(\frac{T}{T_{nom}} - 1\right) \frac{E_g}{nV_t}\right] \tag{7}$$

Where I_{o, ref} is diode saturation reverse current in the referred cell temperature condition. E_g is the band gap energy of the diode and V_t is the thermal voltage (Rustemli et al., 2011; Çelik et al., 2020). The diode reverse saturation current is as given in Figure 6.

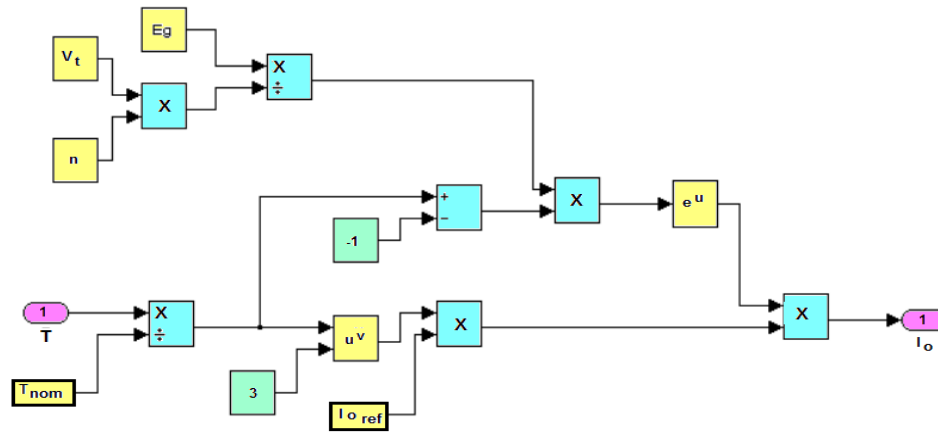


Figure 6. Simulink Model of Diode Reverse Saturation Current

The diode reverse saturation current is a parameter that changes depending on the temperature and short circuit current. Since the diode reverse saturation current changes with temperature, the changes in monthly temperature averages cause this current to change as well. Voltage and current values of PV panels vary according to atmospheric weather conditions (Md Tofael, 2013). As the amount of solar radiation coming to the photovoltaic panel surface increases, the current at the panel output increases. As the ambient temperature increases, the open circuit voltage at the panel terminals decreases, so the maximum power value that can be obtained from a photovoltaic system depending on operational conditions varies.

Simulation of The PV Cell's Single Diode Equivalent Model

In the PV cell, the photon current is highest in sunny and full open air, whereas in cloudy or overcast weather, the photon current decreases depending on the amount of irradiation from the sun (Yilmaz et al., 2014; Savitha et al., 2014). In addition, decreases in short circuit current (Isc) are observed in cloudy weather. Generally, solar cells are exposed to inhomogeneous solar irradiation all day long. Even if the solar panel is subjected to a small shading effect, the output power of the PV panel is considerably reduced. In the case of shadowing in PV panels, many maximum power points occur in the P-V curve. Only one of these power points are general and the others are local points. One effective way to increase the efficiency of the PV module is to reduce the operating temperature of the PV module surface. Solar cell P-V characteristic curve is given in Figure 7.

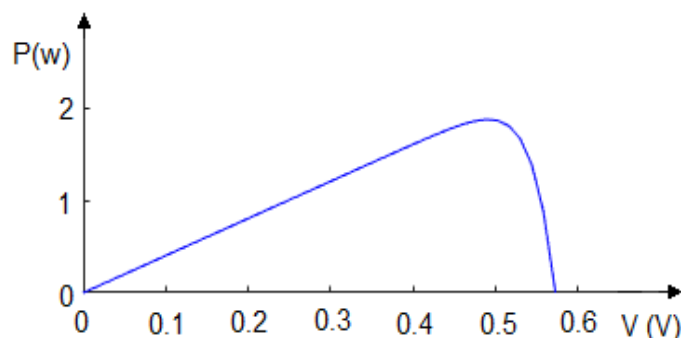


Figure 7. P-V Characteristic Curve of the PV Cell (at T=25 °C and G=1000 W/m²)

The highest power (Pmp) value that can be obtained by determining the I-V curve of a solar cell. The electricity energy produced by the PV cell increases depending on the sunshine duration of the region. Shading in any PV cell also affects the performance parameters of another PV cell (Gumus et al., 2018; Motahhir et al., 2017). The shading on the PV cell surface causes the efficiency of the system to decrease. In order to reduce the reflection on the panel surface, which causes low efficiency

in the PV panel, the type of material that the panel surface is covered should be reflects the radiation at the least amount. The efficiency of PV solar panels is very low, in order to benefit from them in the most efficient way, PV systems must be operated at the maximum power point [Hussein, 2017]. The I-V characteristic curve of the PV cell as given in Figure 8.

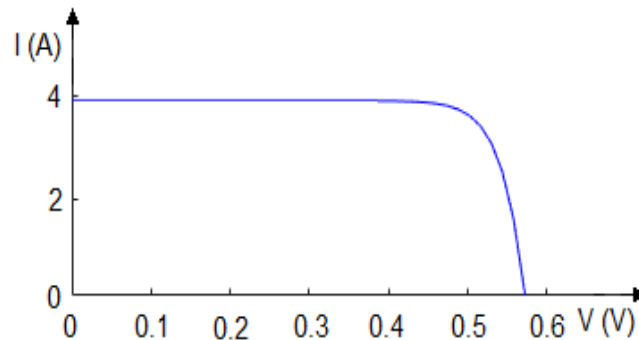


Figure 8. I-V Characteristic Curve of the PV Cell (at $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $G=1000\text{ W/m}^2$)

Solar panel efficiency depends on the cell type used, cell design and quality, and the quality of glass and other components. Since the amount of light is minimal in rainy weather, the amount of electricity generated will not be enough to fill the batteries in off grid systems. Therefore, when designing the system, attention should be paid to the number of rainy days in the region. PV cells give maximum efficiency when they are directed to the south facade. Output power tolerance of PV panels is between $\pm 2,5\%$ and $\pm 5\%$. The P-V and I-V characteristic of PV module is shown in Figure 9.

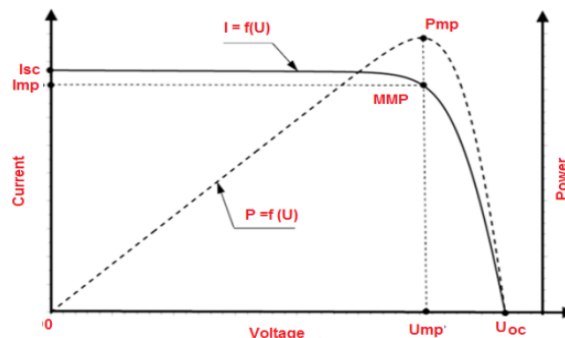


Figure 9. The Power- Voltage P-V And Current–Voltage I–V Characteristic of the PV Module

PV cells provide different output power values depending on the change of solar irradiation and temperature value. PV solar panels are tested in an ideal $25\text{ }(^{\circ}\text{C})$ temperature, $1000\text{ (W/m}^2)$ solar irradiation and 1,5 AM (Air Mass) environment. According to this environment, the efficiency and the effects of the panels are calculated. As the panel receives the sun's rays, electricity generation starts, but due to the fact that the efficiency is not 100%, some of the energy from the sun turns into electrical energy and some of it is transferred to the environment as heat energy. This event causes the PV panels to heat up, while the current increases with the heating of the solar cells, the voltage value decreases more than the current. Due to the high drop in voltage, the output power decreases and this causes a decrease in efficiency (Salmi et al., 2012; Utma et al., 2017). The maximum power expression is as follows calculated:

$$P_{mp} = I_{mp} * V_{mp} \quad (8)$$

The purpose of this research was not only to perform the next implementation of the mathematical model of the PV cell, but also to investigate the effects of ambient temperature on PV cell I-V and P-V characteristics. If the PV cell power tolerance of a 280 W panel is 4%, the actual output power varies between 291,2 W and 268,8 W. This tolerance value increases the mismatch

losses in the PV system. PV panels with low tolerance should be chosen in practice. The power value generated by the PV cell varies depending on the pollution rate of the cell surfaces and the cloudiness of the air. Increasing the temperature decreases the efficiency significantly. The principle scheme of PV panel, PV module and PV cell is as given in Figure 10.

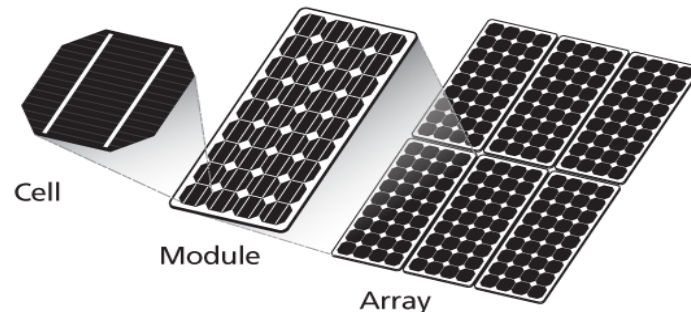


Figure 10. Schematic Representation of PV Cell, Module and Array

Considering their 25-30 years of service life, they should be resistant to weather conditions, heat-cooling, corrosion, physical impact and sunlight, and have a waterproof feature. PV panels should be produced in accordance with international quality standards. The PV solar cell generates a voltage between 0,5 and 0,7 volts depending on the type of semiconductor. Therefore, the cells should be connected in series configuration to increase the voltage of the PV module. To create a PV array when PV modules are connected to each other in series and parallel configurations. Hence, the total power of the PV solar system increases.

Effects of Different Ambient Temperature on I-V and P-V Curves of Pv Cell

PV cell temperature changes in proportion to the change of ambient temperature and irradiation from the sun. Since the amount of decrease in voltage is greater than the amount of decrease in current the output power of the PV cell decreases. Whereas low temperatures do not affect the efficiency of PV panels, high temperatures adversely affect the output power. PV cell temperature at different ambient temperatures is calculated from eq. (9).

$$T_c = I_{amb} + \left(\frac{NOCT - 20}{0.8} \right) G \quad (9)$$

Here, T_c represents PV cell temperature ($^{\circ}C$), T_{amb} is ambient temperature ($^{\circ}C$), G is solar irradiation (W/m^2) at the Nominal Operating Cell Temperature (NOCT). It is not true that the efficiency of PV cells is high at high temperatures. In this paper complete model of the PV system containing solar PV cell is simulated in simulink program. The I-V and P-V characteristics are obtained from different values of temperature. Monocrystalline solar panel features are composed of single-cell crystals, high efficiency and providing more electricity in small sizes are some of the reasons why these panels are in demand. There are many factors that affect the PV panel efficiency. These; panel inclination angle, shading, dusting, solar radiation intensity, temperature and wiring losses. Solar irradiation intensity and panel temperature are the most important parameters affecting panel efficiency. The decrease in solar irradiation intensity also decreases the power of the PV cell. The relationship between cell temperature and PV cell power is inversely proportional. So; the power of the cell decreases as the ambient temperature increases. Table 1 shows PV Cell's Single Diode Equivalent Circuit Parameters.

Table 1. PV Cell's Single Diode Equivalent Circuit Parameters

Parameters	Value
Boltzmann's Constant (k)	$1.3806488 \times 10^{-23}$
Electron Charge (q)	1.6×10^{-19} (C)
Saturation Current (I ₀)	1×10^{-10} (A)
Diode Ideality Factor (n)	1.3
Short Circuit Current of PV cell (I _{sc})	3.885(A)
Series Resistance of PVcell (R _s)	0.001 (Ω)
Shunt Resistance of PV cell (R _{sh})	1000 (Ω)
Band Gap Energy (E _g)	1.11
Temperature Coefficient (K _i)	0.0017 (A/ $^{\circ}$ C)
Solar Irradiation (G)	1000 (W/m ²)

In this study, the effect of temperature on the PV cell I-V and P-V characteristic curves were analyzed. Effective use of photovoltaic solar cells is capable of being an important factor in reducing greenhouse gas emissions and preventing environmental pollution. The temperature effects on I-V and P-V have been measured in Mardin Artuklu University, in Figure 11.

**Figure 11.** Measurement of solar panel temperature and other parameters

There are many factors that affect the efficiency of PV cells. Temperature change is a very effective variable that needs to be analyzed for efficiency. While low temperatures do not cause any problems for the efficiency of the PV cell, high temperatures significantly affect the output power negatively. Table 2 shows values of solar cell current and voltage at different ambient temperatures.

Table 2. Values of solar cell current and voltage at different ambient temperatures

Solar Cell voltage (at 50 $^{\circ}$ C)	Solar Cell current (at 50 $^{\circ}$ C)	Solar Cell voltage (at 30 $^{\circ}$ C)	Solar Cell current (at 30 $^{\circ}$ C)	Solar Cell voltage (at 10 $^{\circ}$ C)	Solar Cell current (at 10 $^{\circ}$ C)
0.08682	4.00	0.09262231	3.98082	0.0811127	3.93569
0.18328	4.02286	0.1852668	3.93863	0.191012	3.92101
0.281672	3.95425	0.268113	3.91021	0.314566	3.92197
0.399357	3.88571	0.387833	3.90635	0.43034	3.90383
0.441801	3.88572	0.45939	3.76622	0.505925	3.54711
0.472669	2.85714	0.494644	3.21899	0.535513	2.87406
0.484244	2.33143	0.512602	2.60253	0.549841	2.02066
0.4996678	1.37143	0.528719	1.89457	0.559942	1.54913
0.535466	0.594285	0.537164	1.14065	0.562478	0.920014
0.511254	0.0457143	0.547868	0.043875	0.574899	0.044075

When the number of serial cells increases, the open circuit increases and the short circuit current value remains constant. Likewise, when the number of parallel cells increases, the current increases and the open circuit voltage does not change. The I-V characteristic curves of the PV solar cell I-V characteristic curves at different ambient temperatures are as shown in Figure 12.

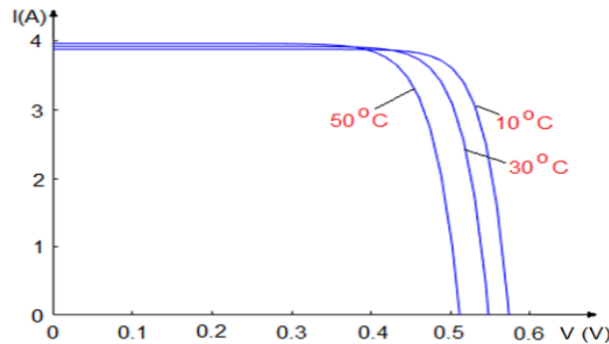


Figure 12. PV Cell I-V Characteristic at Different Ambient Temperatures

The effect of temperature on the PV cell is due to the cells being semi-conductive. Temperature has a direct effect on current transitions in semiconductors. Low temperatures do not adversely affect efficiency, high temperatures reduce productivity significantly.

Table 3. Values of solar cell power and voltage at different ambient temperatures

Solar Cell voltage (at 50 °C)	Solar Cell power (at 50 °C)	Solar Cell voltage (at 30 °C)	Solar Cell power (at 30 °C)	Solar Cell voltage (at 10 °C)	Solar Cell power (at 10 °C)
0.0979753	0.390318	0.0942254	0.390381	0.091700	0.370323
0.195976	0.790687	0.195963	0.780637	0.182151	0.730617
0.298976	1.19097	0.295201	1.17093	0.287664	1.14091
0.395664	1.54111	0.374339	1.48117	0.363026	1.43110
0.446925	1.55030	0.447126	1.71110	0.437101	1.69117
0.474111	1.29859	0.48710	1.69033	0.505976	1.79052
0.489896	0.926467	0.506874	1.50910	0.550296	1.24706
0.500706	0.574527	0.526245	1.00626	0.563355	0.694081
0.506566	0.262871	0.539354	0.493478	0.567890	0.322146
0.511272	0.0316367	0.547514	0.0209795	0.572526	0.0306107

PV cells made of mono-crystal have higher efficiency than those made of polycrystal in environments where the temperature is very high. There is an inverse proportion between the power output of the PV cells and the cell temperature. As the cell temperature increases, PV cell output power decreases. PV cell P-V curves of different ambient temperatures are as given in Figure 13.

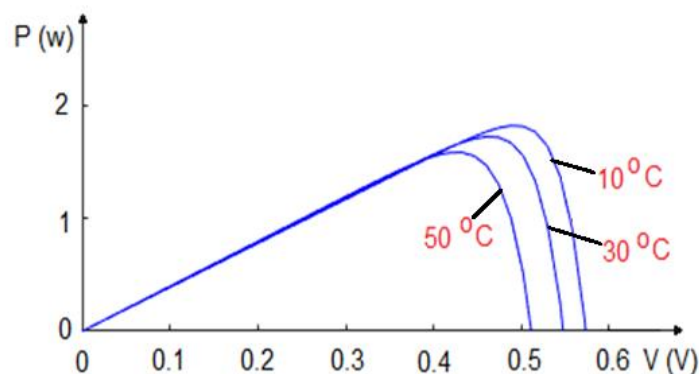


Figure 13. PV Cell P-V Characteristic Curves at Different Ambient Temperatures

Temperature affects some parameters in the circuit and changes the characteristics of the panel. In this study, PV cell was modeled and the effects of different ambient temperature values on I-V and P-V were analyzed. These two characteristics give important clues about the conditions under which the power taken from the PV cell reaches its highest value. It is an important research subject to get maximum power from solar cell at the highest efficiency at all times. Contrary to what is known, it was observed that the power value produced by the PV cell decreased at high temperature values. In PV cells, some of the irradiation from the sun is absorbed and converted into electrical energy. The other part is reflected back from the module surface without being absorbed by the PV cells. The other part of the radiation is reflected back by the PV cells. In order to minimize this reflected part, the type of material covering the surface of the cell is important. Various PV cells are used to increase the absorption of the sun's irradiation.

CONCLUSION

As a result of this study, it shows that the idea of more energy production in hot weather is not correct. Energy production and efficiency are increased when the panel temperature decreases due to air circulation in hot places. On the other hand, energy production and efficiency are decreased in hot regions where there is no air circulation. The I-V and P-V curves are obtained from generalized PV cell model by simulation and effects of ambient temperature on the I-V and P-V curves were analyzed with the simulation program. Hence, when the ambient temperature is increased I-V and P-V curves which results decreasing in output power and voltage. While the ambient temperature 50oC and voltage 0,18328 V then the PV cell output current is 4.02286 A. However, the PV cell output current drops to 3.92101 A while the ambient temperature 10oC and voltage 0.191012 V. When temperature of enviroment is increased, the cell temperature rises accordingly. This situation leads the losses to occur in the PV panels so that these PV panels are being cooled to minimize such these losses. Before positioning the PV panels in the area where the solar facility will be installed, annual temperature values and sunshine duration in the region are investigated and positioning should be done accordingly. As the panel temperature increases, PV panel output power decreases. While the ambient temperature 50oC and voltage 0,446925 V then the PV cell output power is 1,55030 W. However, the PV cell output power rises to 1,69117 W while the ambient temperature 10oC and voltage 0,437101 V. The losses caused by temperature are proportional to the PV solar cell temperature. When the temperature of the environment increases, the PV solar cell losses increases. For this reason, it has been determined that the output power and temperature of the PV panels are inversely proportional to each other. PV variables such as open circuit voltage, short circuit current, peak output power, filling factor and efficiency are generally affected by cell temperature, while the highest level of exposure occurs at open circuit voltage. Therefore, the open circuit voltage of the PV cell is very sensitive to the cell temperature. Open circuit voltage, high giving filling factor short circuit current increases with temperature while output power decreases with temperature. Therefore, the temperature coefficient is negative for open circuit voltage, filling factor and highest output and positive for short circuit current.

ACKNOWLEDGEMENTS

“MAU. BAP.20.MYO.015” numbered this Project; supported by Mardin Artuklu University-Scientific Research Projects Coordinator ship. The authors thank for the support.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally for the manuscript.

REFERENCES

- Çelik AN, Koça F, 2020. Polikristal Tür bir Fotovoltaik Panelin I-V Karakteristiğinin Analitik Modellenmesi ve Deneysel Doğrulanması. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8: 2491-2515.
- Farivar GB, Asaei B, 2010. Photovoltaic module single diode model parameters extraction based on manufacturer datasheet parameters. In *Proc. International Conference IEEE Power Energy*, 929–934.
- Gumus B, Kılıc H, 2018. Time dependent prediction of monthly global solar radiation and sunshine duration using exponentially weighted moving average in southeastern of Turkey. *Thermal Science*, 22(2): 943-951.
- Hassan ZS, Li H, Kamal T, Arifoğlu U, Mumtaz S, Khan L, 2017. Neuro-Fuzzy Wavelet Based Adaptive MPPT Algorithm for Photovoltaic Systems. *MDPI energies*, 10(3): 1-16.
- Hussein A, 2017. A simple approach to extract the unknown parameters of PV modules. *Turkish Journal of Electrical Engineering Computer Sciences*, 25: 4431 – 4444.
- İzgi E, Akkaya YE, 2013. Exergoeconomic analysis of a solar photovoltaic system in. Istanbul, Turkey. *Turkish Journal Of Electrical Engineering And Computer Sciences*, 21: 350-359.
- Joga G, Rao G, Lokesh HG, Mounika G, Navya Sai Kuma DP, 2020. Modelling and Design of Solar PV Cell Using Matlab/Simulink. *International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology*, 7(2): 50-55.
- Malla SG, 2012. Novel Control of Photovoltaic based Water Pumping System without Energy Storage. *International Journal of Emerging Electric Power Systems*, 4(13): 2.
- Md Tofael A, 2017. Modelization and Characterization of Photovoltaic Panels. *Masters in solar Energy Engineering*, Universidade De Évora.
- Mishra S, Manish Kumar Madhav K, 2016. Design and simulation study of solar photovoltaic array using simulink model. *International Journal of Research and Development in Applied Science and Engineering (IJRDASE)*, 11(1): 1-4.
- Motahhir S, El Ghzizal A, Sebti S, Derouich A, 2017. MIL and SIL and PIL tests for MPPT algorithm. *Cogent Engineering*, 4: 1-17.
- Nema S, Nema RK, Agnihotri G, 2010. MATLAB/Simulink based study of photovoltaic cells/modules/array and their experimental verification. *International journal of Energy and Environment*, 1(3): 487-500.
- Özçelik MA, 2018. Increasing energy efficiency for integrating small scale pv power generation to grid system. *The International Journal of Materials and Engineering Technology* 1(1): 1-7.
- Özdemir A, Erdem Z, 2017. Double-loop PI controller design of the DC-DC boost converter with a proposed approach for calculation of the controller parameters. *Journal of Systems and Control Engineering*, 232(2).
- Prakash R, Sandeep Singh S, 2016. Designing and Modelling of Solar Photovoltaic Cell and Array. *Journal of Electrical and Electronics Engineering (IOSR-JEEE)*, 11(2): 35-40.
- Rustemli S, Dincer F, 2011. Modeling of Photovoltaic Panel and Examining Effects of Temperature in Matlab/Simulink. *Electronics and Electrical Engineering*, 3(109): 35-40.
- Saleem H, Karmalkar S, 2009. An analytical method to extract the physical parameters of a solar cell from four points on the illuminated J-V curve. *IEEE Electron Device Letters*, 30: 349 – 352.

- Salmi T, Bouzguenda M, Gastli A, Ahmed Masmoudi A. 2012. Matlab/Simulink Based Modelling of Solar Photovoltaic Cell. *International Journal of Renewable Energy Research*, 2(2).
- Savitha PB, Shashikala MS, Puttabuddhi KL, 2014. Modelling of Photovoltaic Cell/Module under Environmental Disturbances using Matlab/Simulink. *International Journal of Engineering Trends and Technology (IJETT)*, 9(1): 48-55.
- Utma A, Özçelik MA, Yılmaz AS, 2017. The Design Of A Smart Energy Management System For Microgrids. *International Journal of Energy and Smart Grid (IJESG)*, 2(2): 34-42.
- Villalva MG, Gazoli JR, Filho ER, 2009. Comprehensive Approach to Modeling and Simulation of Photovoltaic Arrays. *IEEE Transactions on Power Electronics*, 24(5): 1198-1208.
- Yılmaz AS, Kececioglu OF, Tekin M, Ozalp A, Sekkeli M, 2014. A Field work for Power Quality in City Centers: A casestudy of Kahramanmaras City. *Academic Platform Journal of Engineering and Science (APJES)*, 2(3): 22-34.

Comparison of the Mobile and Fixed Nano/Micro-Scale Systems by Using Monte Carlo Simulation for Different Viscosity Values

Ibrahim ISIK¹, Esme ISIK^{2*}

ABSTRACT: Nano networks that are defined as a communication of nano-sized devices (Nano Machines) are a new nano/micro-scale system subject. In this study, on the contrary to the literature, a mobile nano network model has been used to analyze the proposed system in a different viscosity environment by using some Physics law. Because it is known that besides the molecules, which transport information between transmitter and receiver, the transmitter and receiver parts of the biological cells can be mobile in the blood or any other fluid media. In addition, the effect of viscosity which is an important part of the environment of the nano-device systems and distance between transmitter and receiver are analyzed detailed in Matlab with analytical and simulation results by comparing the fixed and mobile nano scale systems. It is concluded that when the receiver and transmitter are mobile, distance between them changes and finally this affects the probability of the received molecules at the receiver. As is expected, the fraction of received molecules is obtained the highest when the viscosity of the environment and distance are the lowest for both fixed and mobile system models. Also positions of receiver and transmitter show that when the distance of transmitter and receiver increases from the origin, fraction of received molecules decreases.

Keywords: Nano networks, viscosity, fraction of received molecules, Fick's law.

¹Ibrahim ISIK ([Orcid ID: 0000-0003-1355-9420](https://orcid.org/0000-0003-1355-9420)), İnönü University, Engineering Faculty, Department of Electrical Electronics Engineering, Malatya, Turkey

² Esme ISIK ([Orcid ID: 0000-0002-6179-5746](https://orcid.org/0000-0002-6179-5746)), Malatya Turgut Özal University, Department of Optician, Malatya, Turkey

*Corresponding Author: Esme ISIK, e-mail: esme.isik@inonu.edu.tr

INTRODUCTION

A lot of studies have been carried out about the communication of nano-devices in recent years (Bi et al. 2021; Koca et al. 2021; Lin et al. 2019; Rusinque and Brenner 2019). The transmitter (Tx) and receiver (Rx) parts are investigated to analyze transmitted and received molecules in a fluid media. However, the Rx part and the received signal are generally considered to analyze Molecular Communication (MC) systems.

For instance, channel transfer function and the number of received molecules with a point transmitter and fully and half fully absorbing spherical receiver formulation for Molecular Communication via Diffusion (MCvD) are analyzed in (Yilmaz et al., 2014). Pulse peak time and pulse amplitude concerning for the distance between transmitter and receiver, and attenuation, propagation delay is analyzed for MCvD channel in a 3-dimensional (3-D) environment. Finally, it is obtained that when the distance between Tx and Rx increases pulse peak time also increases and pulse amplitude decreases for both analytical and simulation studies.

In addition to the receiver, some receptor models which are placed on the receiver randomly are considered as antenna using graphene and carbon nanotubes due to their prominent sensing capabilities in the literature. In (Felicetti et al. 2018; Singh and Singh 2016), a novel architecture of molecular antenna model which can be used for receiving part of MC system and some coding techniques are introduced. Different shapes of a shell such as a sphere and cylinder which is placed on the receiver is considered as antenna and number of absorbed molecules are increased with these shells.

In addition to fixed MC models, there are also mobile MC models in the literature. Because some projected applications of MC models such as human body monitoring and drug delivery need mobile nanomachines in the vessel (Okaie et al. 2018). In (Wu et al. 2017), the closed form expression of unbounded communication channel for expected hitting rate is derived using a mobile spherical receiver and fixed point transmitter. In (Lin et al. 2019), an adaptive threshold mechanism, signal to interference, and bit alignment scheme are investigated for a simple and effective demodulation scheme for a mobile receiver with a speed of drift $V = 7.9 \times 10^{-4} \text{ m/s}$ and diffusion coefficient of $D = 2.42 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$. The parameters such as the ratio of flow and receiver velocity and symbol interval are analyzed in terms of Bit Error Rate (BER) using a fixed transmitter and mobile receiver. BER with or without Inter Symbol Interference (ISI) mitigation for different transmitting intervals is calculated and analyzed in this study (Lin et al. 2019).

In (Chang et al. 2018), correct signal detection systems with an ISI mobile MC mitigation approach are suggested. Due to the randomly varying Channel Impulse Response (CIR) in mobile MC systems, current detection schemes for static MC systems are not suitable for the mobile MC.

In (Kumar 2020), an iterative maximum probability prediction of the position of the nanomachine is calculated. Particularly, for nanomachine localization, both signal-dependent noise and ISI effects are taken into account using Hammersley–Chapman–Robinson Lower Bound (HCRLB) to get insight into the performance of the suggested estimator. The receiver can predict CIR and set an effective detection threshold in advance with knowledge of distance. The distance calculation and developing a mechanism between nanomachines should therefore be a primary justification for the design of MC systems using a neural networks or deep neural networks (Niitsoo et al. 2018; Farsad and Goldsmith 2018.; Huang et al. 2020; Wu and Tseng 2021).

In (Okaie et al. 2019), a systematic study of the new field of mobile Molecular Communication science is being discussed. Finally, a mobile model of bionanomachines is introduced to discuss how groups of such bionanomachines working in an agreement can provide useful features. Furthermore,

some features relating to mobile Molecular Communication to the principle of cooperative drug delivery are illustrated to outline and address unresolved research challenges in this field (Walsh, 2013).

In addition to theoretical and simulation studies there are also some industrial application of MC systems. MC systems are a perfect example of innovation from technology. From a technical point of view, MC is not a single technology, but a systematic approach in which devices, networks, computing infrastructure, and software used to extract information. Real-world objects and places are equipped with devices containing sensors and actuators to capture and control physical properties. Different types of networks are required, depending on the type of object of interest, to collect data from devices and enable remote control. In order to analyze and discuss data and automate processes involving various physical objects, special software is required to process the data, depending on the needs and goals of those interested (Chouhan and Sharma 2020; Koca et al. 2021; Schurwanz et al. 2021).

The use of MC in the medical field is generally made for the diagnosis and treatment of diseases that have no cure today. In this context, there are many studies in the literature in which nano-robots and cell models (Barros et al. 2018) and electronic circuits generally designed on a chip are proposed (Farsad et al. 2012). For example, in the study on nano-scale neuro-spike communication systems, a new model has been proposed for the development of diagnosis and treatment methods in nerve diseases, inspired by digital communication systems (Balevi et al. 2013). As a result, it was concluded that there is a potential to treat some incurable or difficult nervous diseases with biologically inspired artificial Molecular Communication systems, but this is not possible with current technology. It is thought that by creating artificial immune systems and injecting them into the body, a significant contribution can be made to the treatment of many diseases in the future. These injected systems can be trained in advance, some of them can be used to find a pathogen in the body, and some of them can be used to destroy a pathogen, just like in a real immune system (Balevi et al. 2013; Okaie et al. 2018).

In this present study, the effect of viscosity which is an important part of the environment of the nano-device systems and distance between transmitter and receiver are analyzed detailed in Matlab with analytical and simulation results for fixed and mobile nano-scale systems. In literature, generally hitting probability of the transmitted molecules is analyzed at the receiver part using fixed viscosity of environment and fixed system models (Akkaya et al. 2015; Isik et al. 2020). In addition to viscosity, position of transmitter and receiver is also given with respect to time step by comparing the fraction of received molecules.

The rest of the paper is as follows. In Section 2, the proposed system model is explained for simulation and analytic results. In Section 3, the proposed system model is analyzed and results are given for both mobile and fixed models. Finally, Section 4 concludes the paper.

MATERIALS AND METHODS

In nano networks, chemical transceiver systems may be more favorable for implementation issues in transmitting information from transmitter to receiver or vice versa. In several fields, such as dentistry, bio-medical, environmental monitoring, industrial and defense purposes, these models can be used (Akkaya et al., 2015). Messenger molecules (MM) that transmit signals to mobile and fixed MCvD systems between Tx and Rx. At this size, Brownian motion is modeled on the spontaneous movement/diffusion of MM that is governed by the combined forces applied to the MM by the liquid molecules due to thermal energy within a fluid (Moore et al., 2009; Yilmaz and Chae, 2014). There are two current mechanisms which are drift and diffusion that cause the charges moving. Charge moves under the influence of an electric field since the applied field exerts a force,

$$F=qE, \tag{1}$$

on the charge carriers where E and F represent applied field and force respectively. This movement results a current which is known as drift current,

$$I_d = nqV_dA, \quad (2)$$

where I_d , V_d , A , n and q are drift current, drift velocity of charge carrier, area of the medium, number of charge carriers per unit volume, charge of electron respectively. The mobility carrier, μ can be measured how easily charge carriers move under the influence of an applied field or μ determines how mobile the charge carriers are (Walter and Vreeburg, 1989),

$$\mu = V_d/E. \quad (3)$$

If the medium is at thermodynamic equilibrium (there is no applied field) the carrier have thermal energy of $\frac{k_B T}{2}$ for 1-D (one dimensional) and the thermal energy and velocity of the electron for 3-D (three dimensional) environments are given below,

$$E = \frac{3k_B T}{2} \quad \text{and} \quad V_{th} = \sqrt{\frac{3k_B T}{m^*}}, \quad (4)$$

where V_{th} , k_B , m^* and T refer to thermal velocity of electron, Boltzman Constant ($1.38 * 10^{-23}$ J/K), the effective mass and temperature of the medium (Kelvin), respectively. If there is no applied field, the movement of the molecules will be completely random and this randomness causes no net current flow. Molecules move in the system due to its thermal energy or applied field but they collide with each other. The average time taken between collisions is called relaxation time or mean free time, τ . So we can define the mobility as,

$$\mu = \frac{q\tau}{m^*}. \quad (5)$$

A concentration gradient produces a pressure gradient that also generates the force on the molecules causing to move them (Walter and Vreeburg, 1989). According to the electrical mobility equation, the diffusion constant (D) for charged particles is defined as follow,

$$D = \frac{\mu k_B T}{q} \quad (6)$$

The diffusion process causes the substance concentrations in a system to equalize or occurs by the distribution of an equilibrium concentration resulting from the random movement of the system elements (Guidoni and Aldao, 2002; Peskir, 2003). Einstein showed that the diffusion coefficient D in an infinitely dilute solution is given by the equation,

$$D = \frac{k_B T}{f} \quad (7)$$

where f is the frictional coefficients of the particle. While the value of f , in general is unknown, G. Stokes (Charbonneau et al., 2018) showed that for the special case of a spherical particle of radius R_B which is moving with an uniform velocity in a continuous fluid of viscosity η , the frictional coefficient f is given by

$$f = 6\pi\eta R_B \quad (8)$$

It is known that the transfer of information generally takes place in the form of free diffusion movement of molecules in the environment. The feature of the transmission medium is determined with diffusion coefficient; D for the diffusion of spherical uncharged particles through a liquid is given below (Walter and Vreeburg, 1989). Einstein (Breki and Nosonovsky, 2018) pointed out that if one can assume that this equation also applies to spherical molecules, then their diffusion coefficient and viscosity should be given by the equation,

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \quad \text{and} \quad \eta = \frac{k_B T}{6D\pi r}. \quad (9)$$

The Molecular Communication channels are primarily divided into two groups, the first being pure diffusive channels where the molecules only pass between the two regions due to the concentration gradient it is known as the Brownian motion, the movement of information molecules within the pure diffusive medium (Iwasaki et al., 2017). Flow-based diffusion channels are the second type of channel, where the location of molecules depends on the fluid flow along with the diffusion. Communicating of NMs is required to pass information molecules into the channel during Molecular Communication and the mobility of NMs affects the hitting rate of information molecules at the receiver nanomachine. The mobility of NMs and their effect on the end-to-end efficiency of diffusive Molecular Communication is therefore worth investigating (Walsh, 2013; Wu et al., 2017). Hitting probability of a transmitted molecule in 1-D and 3-D environments is as follows:

$$Fhit_h^{1D}(d, t) = \frac{d}{\sqrt{4\pi Dt^3}} e^{-\frac{d}{4Dt}} \quad (10)$$

and in a 3-D environment obtained as

$$Fhit_h^{3D}(d, t) = \left(\frac{r_r}{r_r+d}\right) \frac{d}{\sqrt{4\pi Dt^3}} e^{-\frac{d}{4Dt}} \quad (11)$$

where D , r_r , and d show the diffusion constant, the radius of the receiver, and distance from the transmitter to the receiver, respectively.

The proposed MC system model consists of point transmitter, receiver and carrying molecules. The shape of the receiver is chosen as a sphere in this study. The transmitter is assumed to be a single point in the space. MMs are used as the information carriers between transmitter and receiver. Firstly, the receiver is placed at the origin (0, 0, 0) and the transmitter is placed randomly at a distance d from the receiver in 3-D environment as shown in Fig. 1. The position of the transmitter is chosen randomly at every time step to do a more realistic analysis. The transmitter and receiver both reside in a fluid propagation medium. The medium is believed to be unconfined, thereby expanding in all directions to infinity. They possibly arrive at the receiver after the molecules are released to the medium where they propagate according to Brownian motion. System parameters used in the proposed models are also given in Table 1.

Table 1. System parameters

Radius of receiver, r_r	3.101 μm
Distance between receiver and transmitter, d	5, 10 μm
Radius of receptor, r_s	0.01 μm
Number of receptor	7200
Number of transmitted molecules	20000
Number of simulation	100
Viscosity, η	54, 34, 27, 13, 4 $\mu kg/ms$

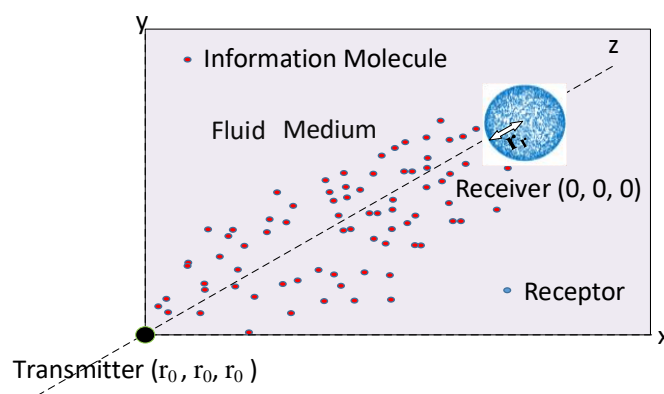


Figure 1. The proposed MC model

RESULTS AND DISCUSSION

Fixed System Model

Molecules are emitted from transmitter with Brownian motion principle and at each time step of the simulation, number of received molecules is calculated. Then fraction of received molecules is analysed for different system or environment parameters as given below. In this model firstly, the viscosity of the medium, position of the receiver and transmitter kept constant. Fixed MC model is analyzed for two different d values as shown in Fig. 2. When the distance between transmitter and surface of the receiver is chosen as $5 \mu\text{m}$ the fraction of received molecules is obtained as almost 1 however when this distance is chosen as $10 \mu\text{m}$ then the fraction of received molecules is obtained almost 0 for 1 second simulation time. Fraction of received molecules cannot be seen fully for $d=10 \mu\text{m}$ when simulation time is chosen 1 second because molecules reach to receiver very late. Analytical and simulation results of the proposed model are also obtained same as shown in Fig. 2. Secondly, the proposed fixed MC model is analyzed for different viscosity values of the environment as shown in Fig. 3. In this model, position of the receiver and transmitter kept constant. When the viscosity of environment decreased, the fraction of the received molecules also increased as expected. Because viscosity has a reverse relationship with Diffusion constant as given in Eq 9. When the viscosity decreased the force against to molecules in the fluid environment decreased and then molecules move faster and they reach to receiver with a higher probability.

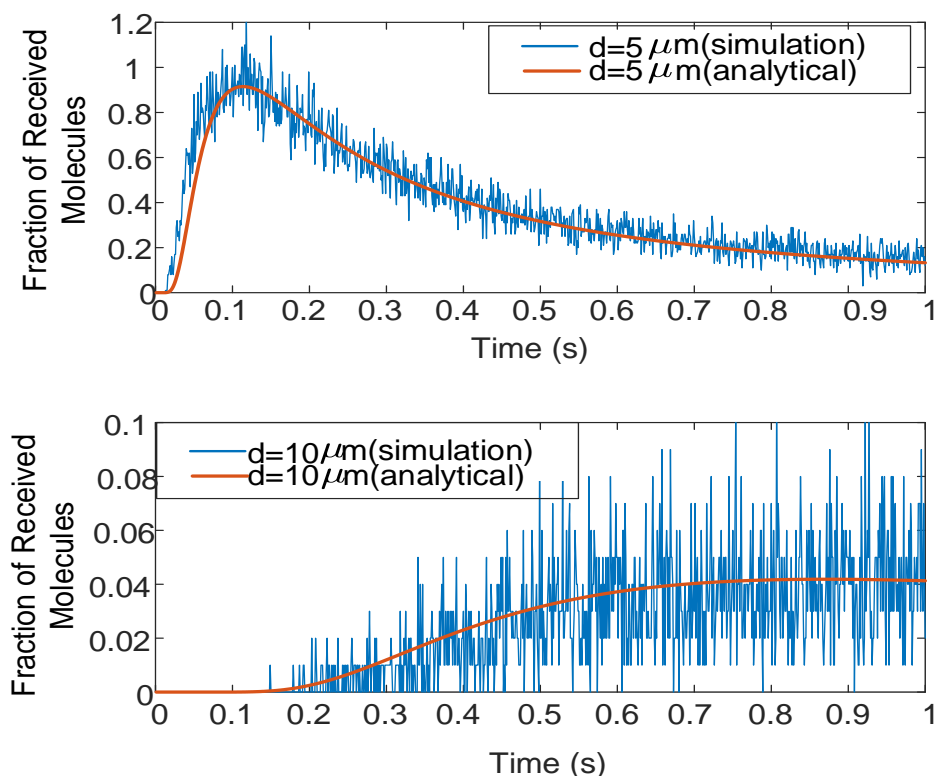


Figure 2. Analytical and simulation results of the fraction of received molecules for the fixed system model with different d values of 5 and $10 \mu\text{m}$

Mobile System Model

Secondly, the proposed model is analyzed for a mobile MC model for $d=5$ and $10 \mu\text{m}$. These distances show first position of transmitter and receiver because the proposed model is mobile in this part so position of transmitter and receiver changes at each time step and also distance between them

changes. In a mobile MC model, both transmitter and receiver are chosen as mobile for analytical and simulation analysis. As shown from the Fig. 4, when the distance increases number of the fraction decrease as expected. However, fraction of received molecules is obtained more for mobile system because of the mean distance between transmitter and receiver in the model. On the other hand, the general shape of fraction of received molecules are same for fixed and mobile system models. However number of fraction molecules are seen clearer for mobile system model because of mobility of transmitter and receiver.

In Fig. 5, η_{Rx} and η_{Tx} show viscosity values of transmitter and receiver in other words mobility of them. In this system model, viscosity of environment is chosen as fixed on the other hand viscosity of the transmitter and receiver are chosen as mobile. When the mobility of transmitter and receiver is analyzed for different viscosity values of 34 and 4 $\mu\text{kg}/\text{ms}$, the fraction of received molecules is obtained higher for the highest viscosity values of transmitter and receiver as expected as shown in Fig. 5.a. Because when the viscosity increases, both the transmitter and receiver move less and this will causes a less mean distance between transmitter and receiver. It is known that when the distance increases between transmitter and receiver the communication performance decreases. To show that, the position of the receiver is also shown in Fig. 5.b and c for the viscosity of 27 and 4 $\mu\text{kg}/\text{ms}$. The position values of transmitter and receiver is obtained between 1 and -1 for viscosity value of 4 and -0.2 and 0.2 for viscosity value of 34. Simulation run time is chosen as 1 second with 1000 time steps and 1000 different position values are used for this analysis.

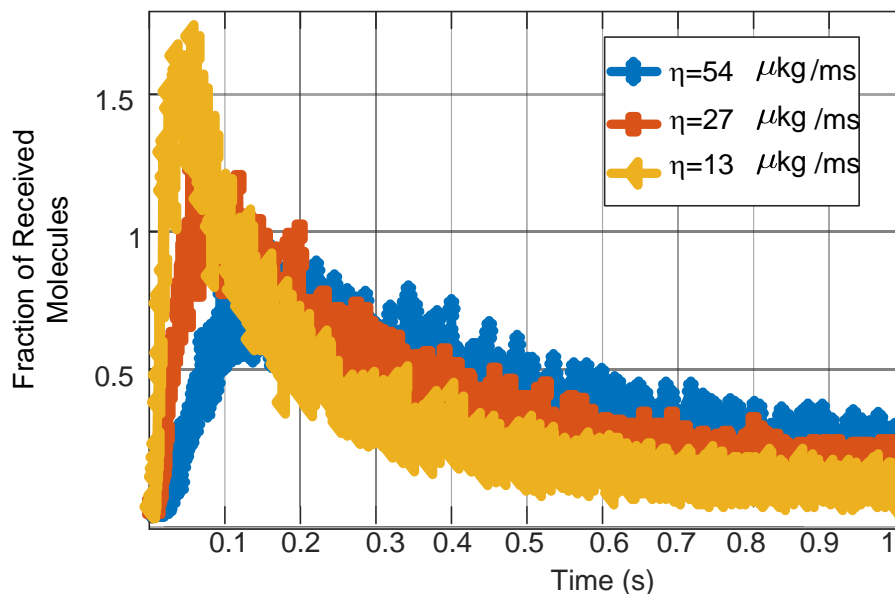


Figure 3. The fraction of received molecules with a different value of viscosity for simulation results of the fixed receiver model

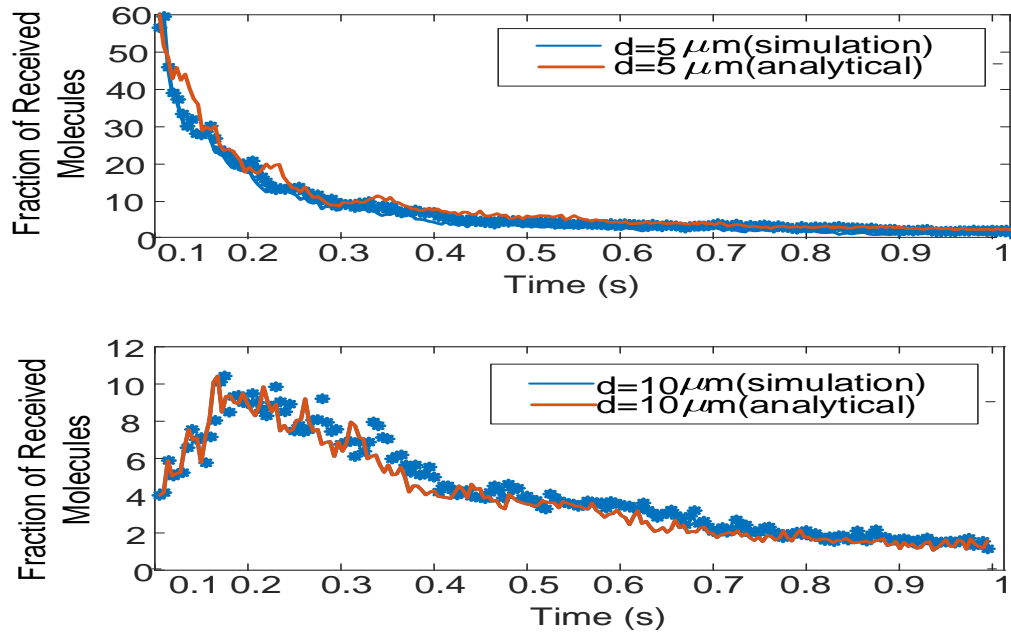


Figure 4. Analytical and simulation results of the fraction of received molecules for the mobile system model with different d values of 5 and 10 μm

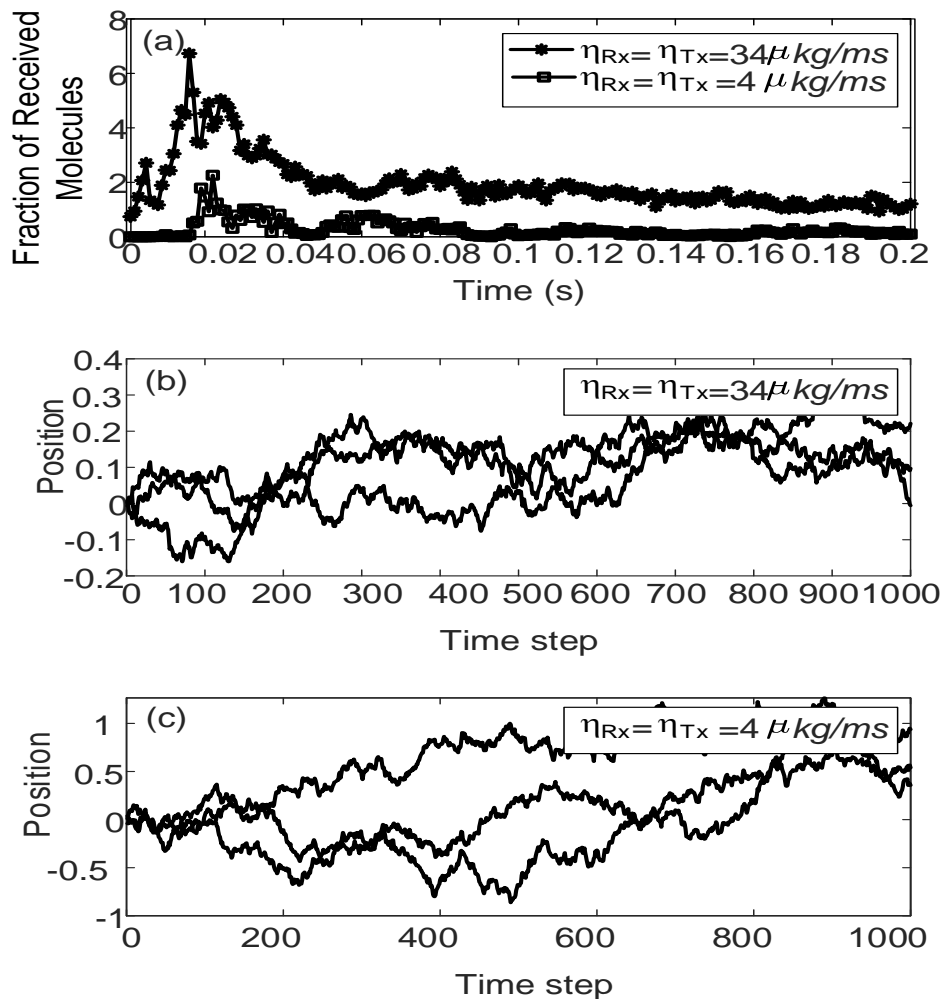


Figure 5. The fraction of received molecules with different values of viscosity for the mobile receiver

CONCLUSION

In this paper, a new mobile MC model is proposed to increase the hitting probability of MMs. In contradistinction to literature, both the transmitter and receiver are chosen as mobile and the mobility of them can be adjusted for different values of viscosity separately by using some Physics laws. The position of the receiver and transmitter are changed for every time step of the simulation. The fraction of received molecules is obtained higher for the mobile MC model. In addition, the effect of viscosity and distance between transmitter and receiver are analyzed by comparing the fixed and mobile nano scale systems. It is concluded that when the receiver and transmitter are mobile, distance between them changes and finally this affects the fraction of received molecules at the receiver. As is expected, the fraction of received molecules is obtained the highest when the viscosity of the environment and distance are the lowest for both fixed and mobile system models. Also positions of receiver and transmitter show that when the distance of transmitter and receiver increase from the origin, fraction of received molecules decrease.

In the future, more dynamic and biological systems can be developed by taking more practical conditions such as accurate drift velocity, vascular branching, the influence of blood molecules by developing a proposed mobile MC model. Also, estimation of the position of Tx and Rx in the environment can be considered to design a more dynamic model that has less signal to interference rate and high reception probability at the receiver using deep neural network (Niitsoo et al., 2018; Er, 2020; Wu and Tseng, 2021).

Conflict of Interest

The authors declare that they have contributed equally to the article.

Author's Contributions

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

REFERENCES

- Arne NA. Niitsoo, T. Edelhäuser, E. Eberlein, N. Hadaschik, C. Mutschler. 2018. "A Deep Learning Approach to Position Estimation from Channel Impulse Responses." *Sensors* 1(D):1–23. doi: 10.3390/s19051064.
- Akkaya, Ali, H. Birkan Yilmaz, Chan Byoung Chae, and Tuna Tugcu. 2015. "Effect of Receptor Density and Size on Signal Reception in Molecular Communication via Diffusion with an Absorbing Receiver." *IEEE Communications Letters* 19(2):155–58. doi: 10.1109/LCOMM.2014.2375214.
- Balevi, Eren, Student Member, Ozgur B. Akan, and Senior Member. 2013. "A Physical Channel Model for Nanoscale Neuro-Spike Communications." 61(3):1178–87.
- Barros, Michael Taynnan, Walisson Silva, and Carlos Danilo Miranda Regis. 2018. "The Multi-Scale Impact of the Alzheimer's Disease in the Topology Diversity of Astrocytes Molecular Communications Nanonetworks." (October):1–16.
- Bi, Dadi, Apostolos Almpanis, Adam Noel, Yansha Deng, and Robert Schober. 2021. "A Survey of Molecular Communication in Cell Biology: Establishing a New Hierarchy for Interdisciplinary Applications." *IEEE Communications Surveys and Tutorials* 1–51. doi: 10.1109/COMST.2021.3066117.
- Breki, Alexander, and Michael Nosonovsky. 2018. "Einstein's Viscosity Equation for Nanolubricated Friction." *Langmuir* 34(43):12968–73. doi: 10.1021/acs.langmuir.8b02861.
- Chang, Ge, Lin Lin, and Hao Yan. 2018. "Adaptive Detection and ISI Mitigation for Mobile Molecular Communication." *IEEE Transactions on Nanobioscience* 17(1):21–35. doi: 10.1109/TNB.2017.2786229.
- Charbonneau, Benoit, Patrick Charbonneau, and Grzegorz Szamel. 2018. "A Microscopic Model of the Stokes-Einstein Relation in Arbitrary Dimension." *Journal of Chemical Physics* 148(22). doi: 10.1063/1.5029464.

- Chouhan, Lokendra, and Prabhat K. Sharma. 2020. "Molecular Communication in Three-Dimensional Diffusive Channel with Mobile Nanomachines." *Nano Communication Networks* 24:100296. doi: 10.1016/j.nancom.2020.100296.
- Er, M. B. 2020. "A Novel Approach for Classification of Speech Emotions Based on Deep and Acoustic Features." *IEEE Access* 8.
- Farsad, Nariman, Andrew W. Eckford, Satoshi Hiyama, and Yuki Moritani. 2012. "On-Chip Molecular Communication: Analysis and Design." *IEEE Transactions on Nanobioscience* 11(3):304–14. doi: 10.1109/TNB.2012.2186460.
- Farsad, Nariman, and Andrea Goldsmith. 2018. "Neural Network Detectors for Sequence Detection in Communication Systems." *Electrical Engineering and Systems Science*, 1–15.
- Felicetti, L., M. Femminella, and G. Reali. 2018. "Directional Receivers for Diffusion-Based Molecular Communications." *IEEE Access* PP(c):1. doi: 10.1109/ACCESS.2018.2889031.
- Guidoni, S. E., and C. M. Aldao. 2002. "On Diffusion, Drift and the Einstein Relation." *European Journal of Physics* 23(4):395–402. doi: 10.1088/0143-0807/23/4/302.
- Huang, Shuai, Lin Lin, Weisi Guo, Hao Yan, Juan Xu, and Fuqiang Liu. 2020. "Initial Distance Estimation and Signal Detection for Diffusive Mobile Molecular Communication." *IEEE Transactions on Nanobioscience* 19(3):422–33. doi: 10.1109/TNB.2020.2986314.
- Isik, I., Yilmaz, H. B., Demirkol, I., & Tagluk, M. E. 2020. "Effect of Receiver Shape and Volume on the Alzheimer Disease for Molecular Communication via Diffusion." *IET Nanobiotechnology* 14(7):602–8.
- Isik, Ibrahim, Mehmet Bilal Er, and Mehmet Emin Tagluk. 2020. "Analysis of Half Sphere Receiver Model in Molecular Communication Through Diffusion." *Journal of Physical Chemistry and Functional Materials* 3(2):63–67.
- Iwasaki, Satoru, Jian Yang, and Tadashi Nakano. 2017. "A Mathematical Model of Non-Diffusion-Based Mobile Molecular Communication Networks." *IEEE Communications Letters* 21(9):1969–72. doi: 10.1109/LCOMM.2017.2681061.
- Koca, Caglar, Meltem Civas, Selin M. Sahin, Onder Ergonul, and Ozgur B. Akan. 2021. "Molecular Communication Theoretical Modeling and Analysis of SARS-CoV2 Transmission in Human Respiratory System." *IEEE Transactions on Molecular, Biological, and Multi-Scale Communications* 1–11. doi: 10.1109/TMBMC.2021.3071748.
- Kumar, Sudhir. 2020. "Nanomachine Localization in a Diffusive Molecular Communication System." *IEEE Systems Journal* 14(2):3011–14. doi: 10.1109/JSYST.2019.2963790.
- Lin, Lin, Qian Wu, Maode Ma, and Hao Yan. 2019. "Concentration-Based Demodulation Scheme for Mobile Receiver in Molecular Communication." *Nano Communication Networks* 20:11–19. doi: 10.1016/j.nancom.2019.01.003.
- Moore, Michael John, Tatsuya Suda, and Kazuhiro Oiwa. 2009. "Molecular Communication : Modeling Noise Effects on Information Rate." 8(2):169–80.
- Okaie, Yutaka, Shinya Ishiyama, and Takahiro Hara. 2018. "Leader-Follower-Amplifier Based Mobile Molecular Communication Systems for Cooperative Drug Delivery." 2018 IEEE Global Communications Conference, GLOBECOM 2018 - Proceedings 1–6. doi: 10.1109/GLOCOM.2018.8647185.
- Peskir, Goran. 2003. "On the Diffusion Coefficient: The Einstein Relation and Beyond." *Stochastic Models* 19(3):383–405. doi: 10.1081/STM-120023566.
- Rusique, Hector, and Gunther Brenner. 2019. "Mass Transport in Porous Media at the Micro- and Nanoscale: A Novel Method to Model Hindered Diffusion." *Microporous and Mesoporous Materials* 280(November 2018):157–65. doi: 10.1016/j.micromeso.2019.01.037.
- Schurwanz, Max, Peter Adam Hoehner, Sunasheer Bhattacharjee, Martin Damrath, Lukas Stratmann, and Falko Dressler. 2021. "Duality between Coronavirus Transmission and Air-Based Macroscopic Molecular Communication." *IEEE Transactions on Molecular, Biological, and Multi-Scale Communications* 1–9. doi: 10.1109/TMBMC.2021.3071747.

- Singh, Satbir, and Hemant Rajveer Singh. 2016. "Molecular Receptor Antennas for Nano Communication : An Overview." 9028:13–16.
- Walsh, Frank. 2013. "Protocols for Molecular Communication." Waterford Institute of Technology.
- Walter, H., and J. Vreeburg. 1989. Fluid Sciences and Materials Science in Space - a European Perspective. 50.
- Wu, Guan-sian, and Po-hsuan Tseng. 2021. "A Deep Neural Network-Based Indoor Positioning Method Using Channel State Information." 290–94.
- Wu, Qian, Lin Lin, Zhan Luo, and Hao Yan. 2017. "Bit Alignment Scheme for Mobile Receiver in Molecular Communication." International Conference on Ubiquitous and Future Networks, ICUFN 750–52. doi: 10.1109/ICUFN.2017.7993892.
- Yilmaz, H. Birkan, and Chan-byoung Chae. 2014. "Simulation Modelling Practice and Theory Simulation Study of Molecular Communication Systems with an Absorbing Receiver." Simulation Modelling Practice and Theory 49:136–50. doi: 10.1016/j.simpat.2014.09.002.
- Yilmaz, H. Birkan, Akif Cem Heren, and Tuna Tugcu. 2014. "3-D Channel Characteristics for Molecular Communications with an Absorbing Receiver." IEEE COMMUNICATIONS LETTERS 3-D 1–4.
- Yutaka O, Shouhei K, Tadashi N., Yasushi H, Tokuko H, Takahiro H, 2019. "Methods and Applications of Mobile Molecular Communication." Proceedings of the IEEE 107(7).

Atf İçin: Kayacı Çodur M, 2021. Ulaştırma Enerji Talebinin Yapay Sinir Ağları ile Modellenmesi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2706-2715.

To Cite: Kayacı Çodur M, 2021. Transportation Energy Demand Modeling with Artificial Neural Networks. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2706-2715.

Ulaştırma Enerji Talebinin Yapay Sinir Ağları ile Modellenmesi

Merve KAYACI ÇODUR^{1*}

ÖZET: Ülkelerin enerji talepleri teknolojinin gelişmesi, şehirleşme arzusu, sanayileşme ve sürekli nüfus artışına paralel olarak hızla değişmektedir. Türkiye'de son birkaç yılda ulaştırma sektöründe enerji kullanımı önemli derecede artış göstermiştir. Bu nedenle, enerji yönetimi ve tahmini, çevre güvenliği ve yaklaşan ekonomik refah için kritik önem taşımaktadır. Son yıllarda enerji taleplerinin belirlenmesi çalışmaları hız kazanmıştır. Bununla birlikte talep seviyelerini en doğru şekilde tahmin edebilmek için en uygun modelin seçilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, Yapay Sinir Ağları kullanılarak Türkiye'nin ulaştırma enerji talebini tahmin etmek için farklı modeller kurulmuştur. Yıl, nüfus, yakıt fiyatı, gayri safi yurt içi hasıla, ton-km, araç-km ve yolcu-km olarak belirlenen girdi parametreleri 1975 ve 2019 yılları arasındaki veriler dikkate alınarak seçilmiştir. Parametrelerin farklı kombinasyonlarının kullanıldığı modeller arasından en iyi model elde edilmeye çalışılmıştır. Yakıt fiyatı, nüfus ve ton-km verileri ile en iyi model kurulmuş olup bu modelin en düşük hata ve en yüksek R^2 değerlerine sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Enerji Talebi, Modelleme, Ulaştırma Sektörü, Yapay Sinir Ağları

Transportation Energy Demand Modeling with Artificial Neural Networks

ABSTRACT: Energy demands of countries are changing rapidly in parallel with development, industrialization, urbanization, the spread of technology, prosperity, and population growth. Energy use in the transport sector in the last few years, Turkey has shown a significant increase. Therefore, energy management and predicting are critically important to environmental safety and the upcoming economic well-being. In recent years, studies to determine the energy demand have accelerated. In Addition, in order to estimate the demand levels in the most accurate way, the most appropriate model should be selected. In this study, different models for predicting Turkey's transport energy demand by using artificial neural networks have been established. Population, oil prices, gross domestic product, ton-km, vehicle-km, and passenger-km are selected as parameters by considering 1975 and 2016 data. The best model is tried to be obtained with the models in which different parameters are used together. The best model was established with the oil price, population, ton-km and it was determined that this model had the lowest error and highest R^2 values.

Keywords: Energy Demand, Modelling, Transportation Sector, Artificial Neural Network

¹Merve KAYACI ÇODUR ([Orcid ID: 0000-0003-1459-9678](https://orcid.org/0000-0003-1459-9678)), Erzurum Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Endüstri Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Merve KAYACI ÇODUR, e-mail: merve.codur@erzurum.edu.tr

GİRİŞ

Tüm Dünyada enerji talebi çeşitli sosyal ve ekonomik gelişmeler nedeniyle gittikçe artmaktadır. Benzer şekilde, Türkiye'de artan nüfus, kentleşme ve sosyo-ekonomik gelişmeler, ülkenin birçok sektörü için enerji talebinde hızlı bir artışa neden olmaktadır. Ekonomik gelişmeler, ulusal ve uluslararası ürün taşıma faaliyetlerini hızlandırarak lojistik ve taşımacılık sektöründeki yoğunluğu artırmaktadır. Son yıllarda Türkiye ekonomisindeki gelişmelerle birlikte, nüfusun ve refahın artması ile insanların şahsi araçlara sahip olma ve seyahat etme eğilimlerinde kademeli olarak değişiklikler gözlemlenmektedir. Bunun yanında pandemi sürecinde şahsi araçlara sahip olma isteğinin artması otomobil sahipliğinde artışa neden olmaktadır. Tüm bu gelişmeler neticesinde ulaşım alanında artan yoğunluk, Ülkemizin ulaştırma enerjisi talebindeki artışı tetiklemiştir.

Türkiye, sınırlı enerji kaynakları ve giderek artan enerji ihtiyacı nedeniyle enerji ithalatına bağımlı bir ülkedir. Özellikle bu bağımlılık taşımacılık sektöründe daha da belirgindir. Doğal gaz ve petrol ülkenin enerji ithalatında önemli bir paya sahip olup bunların büyük bir kısmı yıllık olarak sırasıyla % 98 ve % 91 civarında ithal edilmektedir (Sönmez ve ark., 2017).

Enerji planlaması çalışmaları, hükümetlerin gelecekteki enerji ihtiyacını karşılayabilmesi için uygun stratejik planlar geliştirmesi ve doğru miktarda kaynak belirlemesi açısından ilk ve önemli aşamadır. Bu sayede enerji kaynakları daha verimli bir şekilde kullanılabilir. Türkiye'deki enerji ihtiyacının belirlenmesi Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı (ETKB) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, ülkede her beş yılda bir, yeni ismiyle Kalkınma Bakanlığı (KB) enerji sektöründen oluşan tüm sektörler için uzman kurumların desteğiyle bir iyileştirme stratejisi sunmaktadır. ETKB, Türkiye'de KB'nın sunduğu büyüme hedeflerine göre enerji talebi ve üretim tahminleri sunmaktadır. Enerji gereksinimi tahminleri sanayileşme, kalkınma, koruma, teknoloji ve kentleşme gibi çeşitli unsurlara bağlıdır. İstatistikler, her yıl bir önceki yıla göre performans ışığında değiştirilmektedir (Hepbasli ve ark., 2002; Hepbasli ve Ozalp, 2003; Anonim, 2020b).

Yolcu, yük taşımacılığı ve kişisel seyahat için enerjiyi korumak, ülke düzeyindeki planlamaya bağlı olarak sosyal kalkınmayı ve ekonomik durumu desteklemek için çok önemli bir sorundur. Her ulusun benzersiz öncelikleri ve enerji üretimi, kullanımı ve muhafazası için çeşitli ihtiyaçları vardır. Bu durum enerjiyle ilişkili planlamanın önemini artırır. Dünyada pek çok ülke ulaşım enerji talebini karşılamak amacıyla geleceğe yönelik tahminlerde bulunmak ve sağlıklı tahminler oluşturmak istemekte, bu yönde çalışmalarını sürdürmektedir. Enerji planlaması çalışmaları, geçmiş, günümüz ve gelecekteki enerji kullanımının bilinmesini gerektirir (Haldenbilen ve Ceylan, 2005).

Literatürde enerji talep tahmini için çeşitli modelleme teknikleri kullanılmış ve ulaştırma sektöründe enerji talebi modellemesini etkileyen çeşitli bağımsız parametreler ele alınmıştır. Bunlar genellikle Gayri Safi Yurt İçi Hasıla (GSYİH), nüfus, yıllık araç-km, gelir, araç sayısı, ithalat, ihracat gibi unsurlardır. Belirli unsurların büyüklüğü zaman zaman zor olup bu tür değişkenlerin enerji talebi modellemesi ve tahmini üzerindeki etkisi de benzer şekilde önemli olmayabilir. Çizelge 1' de son yıllarda ulaşım sektörüne özgü enerji talep tahmini ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalara yer verilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında tahmine dayalı modelleme tekniklerinden yapay sinir ağları, regresyon modelleri, bulanık mantık ve meta-sezgisel algoritmaların sık kullanılan yöntemler arasında olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda ele alınan yöntemler ile birlikte tahmin parametreleri de farklılık göstermekte olup nüfus, GSYİH, taşıt sayısı ve yol uzunluğu parametreleri tahmin modellerinin kurulmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bahsi geçen çeşitli model parametrelerinin etkinliklerinin belirlenmesi ve birbirleriyle etkileşimlerinin tanımlanması karmaşık bir

hal almaktadır. Dahası, Türkiye'nin dinamik ekonomik yapısı ile değişkenlik gösteren yakıt fiyatı gibi nadir kullanılan parametrelerin etkisi de göz ardı edilemez hale gelmiştir.

Çizelge 1. Ulaşım Enerjisi Tahmini ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalar

Referans	Çalışma alanı/ Tahmin yılı	Kullanılan Yöntem	Girdiler (Bağımsız Değişkenler)
Dhakal (2003)	Nepal/2005-2020	Uzun Dönem Enerji Alternatifleri Planlama Sistemi	Araç sayısı, Araç-km, Yakıt Ekonomisi, Doluluk Oranı
Haldenbilen ve Ceylan (2005)	Türkiye/2001-2020	Genetik Algoritma	Nüfus, GSYİH, Araç-km
Haldenbilen (2006)	Türkiye/2004-2020	Lineer ve Polinomial Zaman Serileri, Genetik Algoritma	Yıl, GSYİH, Nüfus, Araç-km
Murat ve Ceylan (2006)	Türkiye/2002-2020	Yapay Sinir Ağları	GSYİH, Nüfus, Araç-km
Ceylan ve ark. (2008)	Türkiye/2006-2025	Meta-sezgisel Harmoni Arama Algoritması	Nüfus, GSYİH, Araç-km
Yan ve Crookes (2009)	Çin/2005-2030	Uzun Dönem Enerji Alternatifleri Planlama Sistemi	Araç sayısı, Yıllık Ortalama Günlük Trafik, Yakıt ekonomisi
Zhang ve ark. (2009)	Çin/2010-2020	Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu	GSYİH, Kentleşme Oranı, Ulaşım ve Taşıma Sektörü Ciro
Shabbir ve Ahmad (2010)	Pakistan/2000-2030	Uzun Dönem Enerji Alternatifleri Planlama Sistemi	Araç Sayısı, Nüfus, Yol-km, Doluluk Seviyesi, Yolcu-km, Yakıt Verimliliği
Limanond ve ark. (2011)	Tayland/2010-2030	Log-lineer Regresyon Modeli ve İleri beslemeli Yapay Sinir Ağları	Nüfus, Kayıtlı Araç Sayısı, GSYİH
Geem (2011)	Güney Kore/2025	Çoklu Doğrusal Regresyon, Yapay Sinir Ağları	Nüfus, Petrol Fiyatı, Kayıtlı Araç Sayısı, Yolcu-km
Başkan ve ark. (2012)	Türkiye/2006-2025	Karınca Kolonisi Algoritması	Nüfus, GSYİH, Araç-km
Forouzanfar ve ark. (2012)	İran/2006-2021	Genetik Algoritma	Nüfus, Kayıtlı Araç Sayısı, GSYİH
Sönmez ve ark. (2017)	Türkiye/2014-2034	Yapay Arı Kolonisi Algoritması	Nüfus, GSYİH, Araç-km
Ceylan ve Bulkan (2018)	Türkiye/2017-2023	Hibrit ANFIS-Parçacık Sürü Optimizasyonu	Nüfus, GSYİH, Araç-km, Kayıtlı Araç Sayısı
Sahraei ve ark. (2021)	Türkiye/2020-2030	Çok Değişkenli Uyarlanabilir Regresyon Modeli	Yakıt Fiyatı, Ton-km

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'nin ekonomik sistemini etkileyen en önemli etkenlerden biri olan ulaştırma enerji talebi ve yapısını belirlemek üzere uygun ulaştırma enerjisi talep modelleri geliştirmektir. Enerji talebini tahmin etmek için bağımsız değişkenlerin öngörülmesi çalışmanın ilk aşamasını oluşturmaktadır. Tahmin çalışmaları ile ilgili modellerde sıklıkla kullanılan YSA'nın başlıca avantajları hata toleransına sahip olması ve örneklerle öğrenebilmesidir. Bu çalışmada belirlenen çeşitli girdi parametreleri ile 11 farklı YSA modeli kurulmuştur. Modelleme sonrasında, bulunan en iyi model yapısı ile ulaşım enerjisi tahmin edilmiştir. Bu çalışmanın önemli özelliklerinden biri de yakıt fiyatlarını modele dâhil ederek bulunan modelin tahmin gücünün önceki çalışmalardan daha yüksek olduğunu göstermektedir.

MATERYAL VE METOT

Verilerin Toplanması

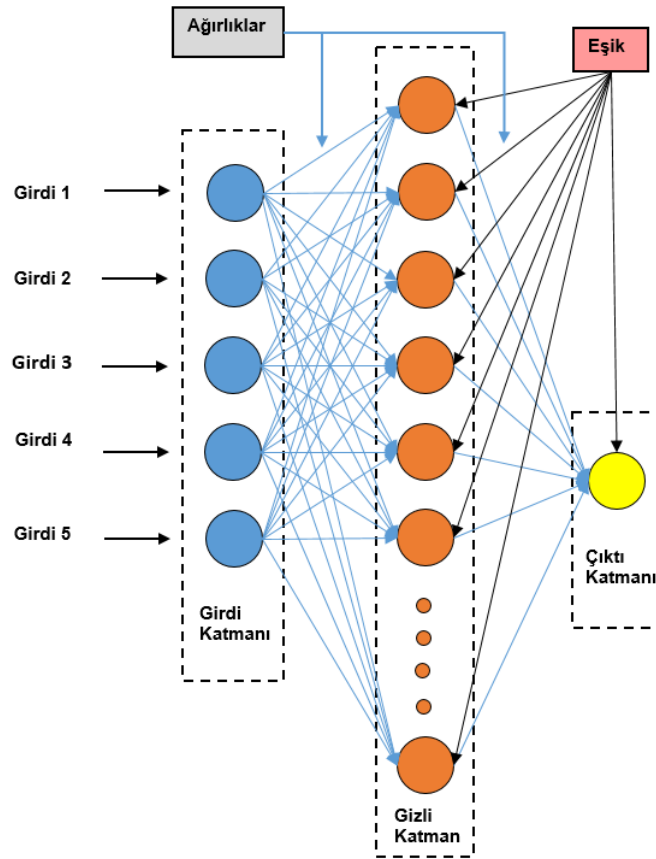
Çalışmada kullanılacak olan verilerin belirlenmesi için öncelikle literatür incelenmiştir. Daha sonra uzmanlardan alınan görüşler sayesinde daha önce kullanılmayan fakat etkisi olabileceği düşünülen veriler belirlenmiştir. Böylece aday değişkenler seçilmiş ve çeşitli devlet kurumlarından uygun

periyodik bilgiler toplanmıştır. Bu çalışmada kullanılan veriler Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), Dünya Bankası (DB) ve Karayolları Genel Müdürlüğü'nden (KGM) temin edilmiştir (Anonim 2020a, Anonim 2020c, Anonim 2020d). Yolcu-Km (Bir yolcunun bir kilometre mesafeye taşınmasıyla elde edilen trafik ölçü birimi), Ton-Km (Bir ton yükün bir kilometre mesafeye taşınmasıyla elde edilen trafik ölçü birimi) ve Araç-Km (bir motorlu taşıtın bir kilometre boyunca hareket etmesi ile elde edilen trafik ölçü birimi) verileri KGM'den temin edilmiştir. GSYİH verisi (bir ülkenin belirli bir yıl için ürettiği toplam mal ve hizmetlerin ölçüsü) ve yakıt fiyatı (dünya çapında ve ulusal ekonomik performans açısından önemli göstergelerden biri) TÜİK'ten alınmıştır. Son olarak, ülke nüfusu için DB kaynakları kullanılmıştır. Çalışmada; bağımsız değişkenler yıl, nüfus, yakıt fiyatı, GSYİH, ton-km, araç-km ve yolcu-km olarak belirlenmiş olup 1975 ve 2019 yılları arasındaki veriler kullanılmıştır.

Yapay Sinir Ağları

Yapay sinir ağları, insan beyninin özelliklerini kazanmayı öğrenerek yeni bilgiler elde etmek ve yeni bilgiler öğrenmek için geliştirilen bilgisayar sistemleri olarak tanımlanabilir. YSA, insanların mikrobiyoloji bilimine meraklı olma ve bu konuda öğrenilen bilgileri bilgisayara aktarma arzusuyla başlamıştır. YSA'lar, verilerden uyarlamalı olarak örnekler çıkarabilen esnek doğrusal olmayan modeller sınıfıdır. YSA'nın uygulanabilir sayıda doğrusal olmayan veri grubuna izin veren, sinir ağlarının deneyimlerinden belirleyebildiği ve herhangi bir karmaşık işlevsel bağlantıyı tahmin edebildiği görülmektedir. Analitik olarak örnek gözlem ve tahminler için çeşitli fonksiyonlar kullanılmaktadır (Gonzalez ve Zamarreno, 2005). Ulaşım sektöründeki enerji talebini tahmin etmek için bu alanda birçok başarılı çalışma bulunmaktadır (Gonzalez ve Zamarreno, 2005; Kalogirou ve Bojic, 2000).

Birçok model farklı türlerde önerilse de, ulaşımda enerji talebiyle ilgili en popüler model ileri beslemeli ağ modeli türüdür. YSA modelinde, bağımsız değişkenler girdi olarak ve bağımlı değişkenler ise çıktı olarak adlandırılır. Girdi önem tablosu, her bir girdi sütununun kavramsal önemini gösterir. Giriş sütununun önemi, giriş kaldırıldıktan ve ağ tarafından kullanılmadıktan sonra ağ performansındaki bozulma olarak hesaplanır (Çodur ve Tortum, 2015). YSA'lar paralel olarak çalışan ve sinapslarla birbirine bağlanan çok sayıda düğüm içermektedirler. Bir sinir ağının en büyük avantajı, karmaşık doğrusal olmayan ilişkileri bir blok kutu gibi ilişkinin doğasına ilişkin ön varsayımlar olmaksızın modelleyebilme yeteneğidir (Murat ve Ceylan, 2006). YSA'lar, örüntü tanımlama, tanıma, konuşma, görme, kontrol sistemi ve sınıflandırma dâhil olmak üzere farklı uygulama alanlarındaki karmaşık problemleri çözmek için başarıyla uygulanmıştır. Bugün YSA'lar, geleneksel bilgisayarlar veya insanlar için zor olan problemleri çözmek üzere eğitilebilir. Diğer bir deyişle YSA'lar, istenen bilgiyi doğrudan veriden çıkararak geleneksel yaklaşımın sınırlamalarını başarılı bir şekilde aşmaktadır. Bir sinir ağının temel işlem ögesi nörondur. Temel olarak, bir biyolojik nöron diğer kaynaklardan girdi alır, bunları bir şekilde birleştirir, sonuç üzerinde genellikle doğrusal olmayan bir işlem gerçekleştirir ve ardından son sonucu çıkarır.



Şekil 1. Yapay Sinir Ağ Yapısı Örneği

Şekil 1 genel olarak kullanılan tipik bir yapay sinir ağı modelini göstermektedir. En temel yapay sinir ağı girdi, gizli katman, çıktı, ağırlıklar, birleştirme fonksiyonu ve aktivasyon fonksiyonu olmak üzere 6 ana bileşenden oluşmaktadır. Giriş düğümleri (x_1, x_2, \dots, x_n) bağımsız parametrelerden oluşmakta, çıkış noktasında ise bağımlı değişken (y) yer almaktadır. Giriş düğümleri tarafından elde edilen bilgileri işlemek için uygun doğrusal olmayan transfer fonksiyonlarına sahip gizli kutular kullanılmaktadır. Bu çalışmada, her bir girdi o girdiyi işlem elemanına bağlayan ağırlık değeriyle (w_{ij}) çarpılarak, Eşitlik 1'de verilen toplama fonksiyonu aracılığıyla birleştirilmiştir.

$$n_j = \sum_i x_i w_{ij} + b_j \quad (1)$$

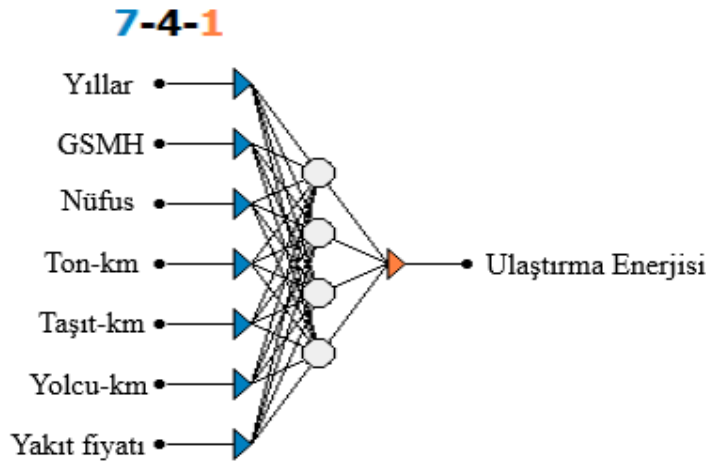
Bu bağlamda, j . inci nörona gelen net girdi hesaplanır. Burada her girdi kendi ağırlığı ile çarpılarak toplanır. Böylece ağa gelen net girdi j . nörona ait eşik değerinin eklenmesiyle bulunmuş olur. Hücreye gelen net girdiyi işleyerek hücrenin bu girdiye karşı üreteceği çıktı ise aktivasyon fonksiyonu ile belirlenir. Bu çalışmada, YSA'da çok katmanlı algılayıcı modelinde yaygın olarak kullanılan ve yapılan denemeler sonucunda en iyi sonucu veren Sigmoid Aktivasyon Fonksiyonu kullanılmıştır.

Yapay Sinir Ağları ile Modelleme

Yapay Sinir Ağı modelinde kullanılacak olan girdi ve çıktı verileri öncelikle bir minimaks algoritması kullanılarak 0-1 aralığında normalize edilmiştir. Daha sonra tasarım kısmına geçildiğinde en iyi ağ yapısına sahip modeller belirlenmiştir. Eğitim aşaması YSA'nın en önemli aşamalarından biridir. Model verilerinin %70'i eğitim, %15'i doğrulama ve %15'i test verisi olarak kullanılmıştır. Ayrıca eğitim algoritması olarak Levenberg-Marquardt kullanılmıştır.

$$Y = f_2 \left\{ [W_2] f_1 \left[[W_1] \begin{bmatrix} GSYİH \\ Nüfus \\ Yıllar \\ Araç - km \\ Ton - km \\ Yolcu - km \\ Yakıt Fiyatı \end{bmatrix} + [b_1] \right] + [b_2] \right\} \quad (2)$$

Eşitlik (2)'de; Y ulaştırma enerjisini, W_1 ve W_2 ağırlık matrislerini, b_1 ve b_2 eşik değer vektörlerini göstermektedir. Geri yayılım eğitim algoritmasının etkinliği, gizli katmandaki nöronların sayısına bağlı olduğundan; gizli katmandaki çeşitli sayıda nöronlu (1'den 29'a kadar) modeller test edilmiştir. Şekil 2, bu çalışmada kullanılan örnek bir YSA model yapısını göstermektedir.



Şekil 2. Ulaştırma enerjisinin tahmininde kullanılan parametrelere ait örnek YSA yapısı

Şekil 2' de görüldüğü gibi, girdi değişkenleri bağımsız değişkenlerdir ve ulaştırma enerjisinin tahmininde etkili olduğu daha önce yapılan farklı çalışmalardan belirlenen verilerdir. Çıktı kısmında yer alan ulaştırma enerjisi ise bağımlı değişken olarak modelleme sonucunda elde edilecek veridir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde ulaştırma enerjisini tahmin etmek için 11 farklı YSA modeli oluşturulmuş ve gerçek değerlere en yakın olan model, gelecekteki ulaşım sektöründeki enerji talebini tahmin etmek için kullanılmıştır. Modellerde kullanılan verilere ve geliştirilen model yapılarına ilişkin genel bilgiler Çizelge 2'de verilmiştir. Model çözümünde Alyuda Neuro Intelligence paket programı, Intel i7 3.40 GHz işlemci 8 GB belleğe sahip bilgisayar kullanılarak sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 2. Ulaştırma Enerjisinin tahmininde kullanılan farklı girdilere sahip modeller ve yapıları

Modeller	Kullanılan değişkenler	Model Yapıları	Çıktı
Model 1	Yıl, GSYİH, Nüfus, Ton-km, Taşıt-km, Yolcu-km, Yakıt Fiyatı	7x4x1	Ulaştırma Enerjisi
Model 2	Yıl, GSYİH, Nüfus	3x6x1	
Model 3	GSYİH, Nüfus, Ton-km	3x8x1	
Model 4	Nüfus, Yakıt Fiyatı, Ton-km	3x6x1	
Model 5	Nüfus, Yakıt Fiyatı, Araç-km	3x4x1	
Model 6	Nüfus, Yakıt Fiyatı, Yolcu-km	3x8x1	
Model 7	GSYİH, Nüfus, Araç-km	3x7x1	
Model 8	GSYİH, Nüfus, Yolcu-km	3x6x1	
Model 9	GSYİH, Yakıt Fiyatı, Ton-km	3x3x1	
Model 10	GSYİH, Yakıt Fiyatı, Araç-km	3x5x1	
Model 11	GSYİH, Yakıt Fiyatı, Yolcu-km	3x7x1	

Türkiye'nin ulaştırma sektöründeki enerji talebi YSA modelleri kullanılarak tahmin edilmiştir. Modellerin hataları Mutlak Hata (MH), Mutlak Bağlı Hata (MBH) ve belirleme katsayısı (R^2) terimleri ile belirlenmiştir. MH, sinir ağının eğitiminin "kalitesini" gösteren bir hata değeridir. Sinir ağının hedef çıktı değerleriyle (E_{obs}) mevcut çıktı değerlerinin (E_{pre}) farkının mutlak değerinin alınmasıyla hesaplanmaktadır. Ağ hatası ne kadar küçükse, ağ o kadar iyi eğitilmiştir. MBH, gerçek ve tahmin edilen çıktı değerleri arasındaki farkın seçilen çıktı sayısına bölünmesiyle hesaplanır. Belirleme katsayısı, bağımsız değişkenlerin açıklama oranını göstermektedir. Bir diğer ifade ile bağımlı değişkenin bağımsız değişkenler tarafından açıklanan varyans oranını temsil etmektedir. Kurulan modellerin başarısı Eşitlik (3)-(5)'te verilen çeşitli istatistiksel hata yöntemleri ile analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. Ele alınan istatistiksel ölçütler eğitim, doğrulama ve test aşamasında bulunan değerlerin genelini kapsamaktadır.

$$MH = |E_{obs} - E_{pre}| \quad (3)$$

$$MBH = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n MH \quad (4)$$

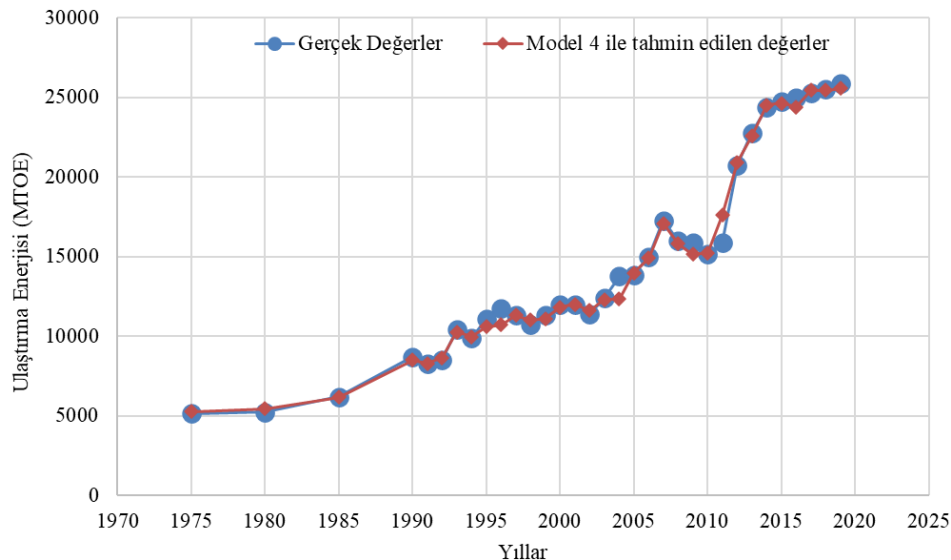
$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n MH^2}{\sum_{i=1}^n (E_{obs} - E_{obs})^2} \quad (5)$$

MH ve MBH'nin model başarısı için 0'a yakın değerler alması istenmektedir. Çizelge 3'ten görüldüğü gibi MH ve MBH hata değerlerinin en küçük R^2 değerinin ise en büyük olduğu nüfus, yakıt fiyatı ve ton-km girdilerine sahip 4. model en başarılı tahmin modeli olarak görülmektedir. Bu durum, bu modelin tahmin çalışması açısından güvenilirliğini pekiştirmektedir.

Çizelge 3. Kurulan farklı modellere ait R^2 ve hata değerleri

	Model 1	Model 2	Model 3	Model 4	Model 5	Model 6	Model 7
R^2	0,994879	0,959021	0,98961	0,995294	0,992579	0,984661	0,992418
MH	276,016	898,251	285,501	246,571	454,039	463,404	435,021
MBH	0,025	0,076	0,021	0,020	0,035	0,037	0,035
	Model 8	Model 9	Model 10	Model 11			
R^2	0,99194	0,989353	0,995146	0,926793			
MH	452,089	477,833	302,753	1306,72			
MBH	0,038	0,040	0,025	0,100			

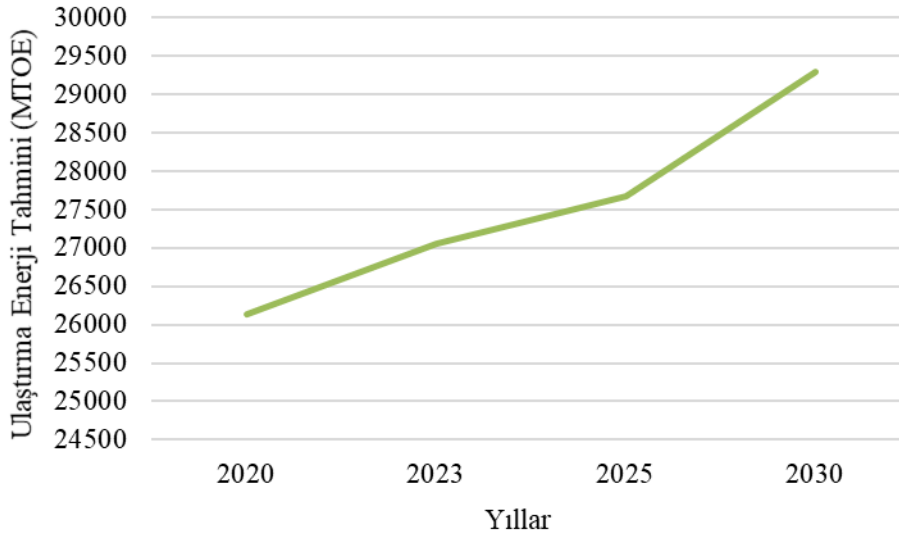
Türkiye'nin ulaştırma enerji talebinin yıllara göre dağılımı ve en iyi olarak belirlenen Model 4'ün tahmin ettiği değerler Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3. Türkiye'nin ulaştırma enerjisinin gerçek ve model 4 ile tahmin edilen değerlerinin grafiği

Ulaştırma Enerjisinin Tahmini

Türkiye'nin ulaştırma enerjisini doğru bir şekilde tahmin etmek için, öncelikle en iyi modeli en etkili parametrelerle kurmak gerekir. Bu nedenle çalışma içerisinde 11 adet farklı model kurulmuş ve hata terimlerinin en düşük R^2 değerinin en büyük olduğu Model 4 seçilmiştir. Geleceğe yönelik tahminde dördüncü model kullanılmış ve ileriye yönelik belirli yıllarda elde edilen veriler Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. Türkiye'nin ulaştırma enerjisinin Model 4 ile tahmini

Şekil 4'te verilen grafik modeller arasında en iyi seçilen model 4 kullanılarak çizilmiştir. Grafik; Model 4'e ait nüfus, yakıt fiyatı ve ton-km değerlerine dayalı olarak 2020'den 2030'a kadar tahmin edilen ulaştırma enerjisi talep büyüklüklerini göstermektedir. Buna göre enerji talebi 2020 yılında 26000 mtoe civarında olacağı tahmin edilmektedir. Görüldüğü gibi, söz konusu talebin 29200 mtoe değerine ulaştığı 2030 yılına kadar bu eğilim giderek artmaktadır.

Model 4 ile bulunan sonuçlar literatürde bulunan farklı yöntemler ile elde edilen tahmin çalışmaları ile doğrulanmaktadır. Örneğin Sönmez ve arkadaşlarının çalışmasında kullandıkları senaryo 1'de eksponansiyel model, senaryo 2'de ise lineer ve eksponansiyel modeller kullanılarak hesaplanmış değerlerle uyum içerisinde olduğu görülmektedir (Sönmez ve ark., 2017). Başkan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise gelecek tahmini için kullanılan quadratic model sonuçları bu çalışmanın sonuçlarına yakındır (Başkan ve ark., 2012). Ceylan ve arkadaşlarının HASTADE modeli kullanarak elde ettikleri projeksiyon verileri ile kurdukları lineer ve eksponansiyel modellerin çıktıkları yine çalışmamızdakine yakındır. Görüldüğü gibi yapılan bu çalışmayla kurulan 4. Model literatürde yayımlanmış çalışmalarla kurulan modelleri destekler nitelikte olup bu modelin başarısı bir kere daha ortaya konulmuştur.

SONUÇ

Türkiye'de özellikle son yıllarda sanayileşme alanında gerçekleşen ciddi atılımlar ile birlikte gelen kentleşme girişimleri neticesinde enerji talebinde artış meydana gelmiştir. Türkiye, birincil enerji kaynakları açısından büyük ölçüde dışa bağımlıdır. Türkiye'nin toplam enerji harcamalarının yaklaşık %25'ini ulaşım sektörü oluşturmaktadır. Son yıllarda gerçekleşen nüfus artışı ve ekonomik büyüme ülkenin ulaştırma enerjisi talebinde de artışa neden olmuştur. Dolayısıyla, ulaştırma sistemlerinin daha etkin bir şekilde tasarlanması, planlanması ve kullanılması için gelecekteki enerji talebinin güvenilir ve gerçekçi bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Ancak tahmin verilerinin yol gösterici nitelikte olması için modelin doğru kurulması kritik öneme sahiptir.

Kurulan modeller arasında nüfus, yakıt fiyatı ve ton-km parametrelerine sahip olan Model 4, en yüksek belirleme katsayısına (R^2) ve düşük hata terimlerine sahip, en iyi performansı gösteren model olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonraki aşamasında seçilen Model 4 kullanılarak ileriye yönelik Türkiye'nin ulaştırma enerji talebi tahmin edilmiştir.

Bu çalışmanın özellikle Türkiye gibi enerjisinin büyük kısmını dışarıdan ithal eden ülkeler için faydalı olması öngörülmektedir. Enerji kullanımı için gerçekçi planlar yapmanın yanı sıra; bu çalışma, güneş enerjisi kullanan dünyadaki diğer ülkeler için kaynakların doğru kullanımına katkı sağlayacaktır. Öte yandan, enerji talebine yönelik uygun modelleme çalışmaları, hükümetleri stratejik planlar yapmaya ve enerji kaynaklarının kullanımını daha etkin hale getirmeye yönlendirebilir.

Daha sonra yapılacak çalışmalar için farklı modelleme teknikleri kullanılabilir. Ayrıca YSA'nın farklı tahminleme modelleri ile birlikte çalıştığı hibrit modeller ile daha iyi sonuçlar elde edilebilir.

Çıkar Çatışması

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması sırasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim.

Yazar Katkısı

Tüm çalışmanın makalenin tek yazarı olarak tarafımdan yapıldığını beyan ederim.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2020a. Dünya Bankası Açık Erişim Veri Merkezi (<https://data.worldbank.org/country/turkey?locale=tr>).
- Anonim, 2020b. Dünya Enerji Birliği, Türk Milli Komitesi, Ankara.
- Anonim, 2020c. Türkiye Karayolları Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Anonim, 2020d. Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.
- Başkan O, Haldenbilen S, Ceylan H, Ceylan H, 2012. Estimating transport energy demand using ant colony optimization. *Energy Sources, Part B: Economics, Planning and Policy*, 7(2): 188–199.
- Ceylan H, Ceylan H, Haldenbilen S, Baskan O, 2008. Transport energy modeling with meta-heuristic harmony search algorithm, an application to Turkey. *Energy Policy*, 36: 2527–2535.
- Ceylan Z, Bulkan S, 2018. Türkiye ulaşım kaynaklı enerji ihtiyacının hibrit ANFIS-PSO metodu ile tahmini. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18: 740-750.
- Çodur MY, Tortum A, 2015. An artificial neural network model for highway accident prediction: a case study of Erzurum, Turkey. *Promet–Traffic&Transportation*, 27(3): 217-225.
- Dhakal S, 2003. Implications of transportation policies on energy and environment in Kathmandu Valley, Nepal. *Energy Policy*, 31(14): 1493–1507.
- Forouzanfar M, Doustmohammadi A, Hasanzadeh S, Shakouri GH, 2012. Transport energy demand forecast using multi-level genetic programming. *Appl Energy*, 91(1): 496–503.
- Geem WZ, 2011. Transport Energy Demand Modeling of South Korea Using Artificial Neural Network. *Energy Policy*, 39(8): 4644-4650.
- Gonzalez PA, Zamarreno JM, 2005. Prediction of hourly energy consumption in buildings based on a feedback artificial neural network. *Energy and Buildings*, 37(6): 595-601.
- Haldenbilen S, Ceylan H, 2005. Genetic algorithm approach to estimate transport energy demand in Turkey. *Energy Policy*, 33(1): 89-98.
- Haldenbilen S, 2006. Fuel price determination in transportation sector using predicted energy and transport demand. *Energy Policy*, 34(17): 3078–3086.

- Hepbasli A, Oturanc G, Kurnaz A, Ergin E, Genc A, Iyit N, 2002. Simple correlations for estimating the energy production of Turkey. *Energy Sources*, 24(9): 855-867.
- Hepbasli A, Ozalp N, 2003. Development of energy efficiency and management implementation in the Turkish industrial sector. *Energy Convers Manag*, 44(2): 231-249.
- Kalogirou S, Bojic M, 2000. Artificial neural networks for the prediction of the energy consumption of a passive solar building. *Energy*, 25(5): 479–491.
- Limanond T, Jomnonkwao S, Srikaew A, 2011. Projection of future transport energy demand of Thailand, *Energy Policy*, 39(5): 2754-2763.
- Murat ŞY, Ceylan H, 2006. Use of artificial neural networks for transport energy demand modeling. *Energy Policy*, 34: 3165-3172.
- Sahraei MA, Duman H, Çodur MY, Eyduran E, 2021. Prediction of transportation energy demand: Multivariate Adaptive Regression Splines. *Energy*, 224.
- Shabbir R, Ahmad SS, 2010. Monitoring urban transport air pollution and energy demand in Rawalpindi and Islamabad using leap model. *Energy*, 35(5): 2323–2332.
- Sönmez M, Akgüngör AP, Bektaş S, 2017. Estimating transportation energy demand in Turkey using the artificial bee colony algorithm. *Energy*, 122: 301–310.
- Yan X, Crookes RJ, 2009. Reduction potentials of energy demand and GHG emissions in China's road transport sector. *Energy Policy*, 37(2): 658–668.
- Zhang M, Mu H, Li G, Ning Y, 2009. Forecasting the transport energy demand based on PLSR method in China. *Energy*, 34(9): 1396–1400.

Atf İçin: Demir Y, 2021. Tekrarlı Açgözlü Algoritma Üzerine Kapsamlı Bir Analiz. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2716-2728.

To Cite: Demir Y, 2021. A Comprehensive Analysis on the Iterated Greedy Algorithm. Journal of the Institute of Science and Technology 11(4): 2716-2728.

Tekrarlı Açgözlü Algoritma Üzerine Kapsamlı Bir Analiz

Yunus DEMİR

ÖZET: Genel olarak optimizasyon, belirli kısıtlar altında en iyi sonucun elde edilmesi için yapılan çalışmaların bütünüdür. Temel olarak optimizasyon problemlerinin çözümü için geliştirilen yaklaşımlar kesin çözüm yöntemleri ve yaklaşık çözüm yöntemleri olmak üzere iki grup altında incelenir. Kesin çözüm yöntemleri optimumu garanti ederler ancak NP-Zor yapıdaki büyük boyutlu gerçek hayat problemleri için kabul edilebilir bir zamanda çözüm üretmezler. Bu yüzden araştırmacılar, kabul edilebilir zamanda, kaliteli çözümler verebilmeleri nedeni ile yaklaşık çözüm yöntemlerinden meta-sezgisel yöntemlere büyük ilgi göstermektedir. Bu çalışmada uygulaması kolay ve etkili bir meta-sezgisel olan tekrarlı açgözlü algoritmaya yönelik detaylı bir analiz çalışması yapılmıştır. İlgili meta-sezgisel olan her bir operatör alt başlıklar halinde ele alınmıştır. Çeşitli problemler için geliştirilen tekrarlı açgözlü algoritma yaklaşımları avantaj ve dezavantajlarıyla okuyucuya sunulmuştur. Özetle bu çalışmada tabu, tavlama benzetimi, tekrarlı yerel arama gibi çeşitli meta-sezgiseller ile ortak birçok yönü bulunan tekrarlı açgözlü algoritma hakkında Türkçe literatüre katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kombinatoriyal en iyileme, meta-sezgisel teknikler, tekrarlı açgözlü algoritma

A Comprehensive Analysis on the Iterated Greedy Algorithm

ABSTRACT: Generally, optimization is the achievement of the best result under certain constraints. Basically, the approaches developed for the solution of optimization problems are examined under two groups as exact solution methods and approximate solution methods. Exact solution methods guarantee the optimum, but they cannot produce solutions in an acceptable time for large-scale real-life problems of NP-Hard. Therefore, the researchers draw great attention to the meta-heuristic methods, which are one of the approximate solution methods, because they can provide quality solutions at an acceptable time. In this study, a detailed analysis of the iterative greedy algorithm, which is an easy-to-apply and effective meta-heuristic, was conducted. In the relevant meta-heuristic, each operator is discussed under subheadings. Iterative greedy algorithm approaches developed for various problems are presented to the reader with their advantages and disadvantages. In summary, in this study, it is aimed to contribute to the Turkish literature about the iterative greedy algorithm, which has many aspects in common with various meta-heuristics such as taboo, annealing simulation, and iterative local search.

Keywords: Combinatorial optimization, meta-heuristics, iterated greedy algorithm

Yunus DEMİR ([Orcid ID: 0000-0003-3868-1860](https://orcid.org/0000-0003-3868-1860)), Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Endüstri Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Yunus DEMİR, e-mail: yunus.demir@btu.edu.tr

GİRİŞ

Tekrarlı Açgözlü Algoritmanın Tanımı

Yerel arama tabanlı bir algoritma olan tekrarlı açgözlü algoritma (TAA) ilk defa Jacobs and Brusco (1995) küme örtüleme (*set covering*) probleminin çözümü için kullanılmıştır. Farklı araştırma gruplarınca, uyarlanabilir büyük komşuluk araması (*Adaptive Large Neighborhood Search*) (Shaw 1997) veya yinelenen düzleştirme araması (*Iterated Flattening Search*) (Cesta et al. 2000) gibi farklı isimlerle geliştirilmiştir (Pranzo and Pacciarelli 2016). Genel olarak TAA, yıkım ve yapım adımları ile yinelenen bir açgözlü algoritma üzerinden çözüm uzayını araştırır (Kim et al. 2017). Olasılıklı yerel arama algoritmalarından biri olan TAA, çözüme rassal veya probleme özgü bir sezgisel ile oluşturulmuş tek bir uygun çözümle (S_0) başlar (Tasgetiren et al. 2013). Sonrasında iki ayrı tekrarlı faz ile daha iyi sonuçlara erişmeye çalışır. Bunlardan ilki, önceki aday çözümlerin belirli parçalarının çıkarıldığı yıkım (*destruction*) fazı ve diğeri, çıkarılan parçaların açgözlü yapıcı sezgiseller yardımı ile tamamlanarak yeni aday çözümün (S_C) oluşturulduğu yeniden yapılandırma (Y-Y) (*Reconstruction*) fazıdır. Daha sonra, önceden tanımlanan kabul kriterine göre mevcut çözümün (S_i), aday çözüm (S_C) ile değiştirilip değiştirilmeyeceğine karar verilir (Ruiz and Stützle 2007). Bu iki temel faza ilaveten başlangıç çözümü ve yeni oluşan aday çözümü iyileştirmek üzere ana döngüden önce ve kabul aşamasından önce isteğe bağlı olarak yerel arama fazı uygulanabilmektedir (Lin et al. 2011). Bu aşamalar durdurma kriteri karşılanana kadar tekrarlanır. TAA'nın bu genel yapısı Çizelge 1'de sunulmuştur.

Çizelge 1. Tekrarlı açgözlü algoritmasının genel yapısı

Prosedür: Tekrarlı Açgözlü Algoritma

S_0 := Başlangıç çözümünün oluşturulması	
S_i := Yerel arama(S_0)	% Seçmeli
While (Sonlandırma kriteri karşılanmadığı sürece)	
S_D := Yıkım(S_i)	
S' := Yeniden yapım(S_D, S_R)	
S_C := Yerel arama(S')	% Seçmeli
S_i := Karar kriteri(S_C, S_i)	
endWhile	
return $S_{max/min}$	

TAA'nın diğer yöntemlere göre avantajları şöyle sıralanabilir: TAA, ilgilenilen probleme ait spesifik bilgiye dayanmaz, karmaşık algoritmalarda olduğu gibi çok fazla kontrol parametresi gerektirmez, başka meta-sezgisellerin bileşenleri (operatörleri) ile uyumlu bir şekilde çalışabilecek esnekliğe sahiptir (García-Martínez et al 2014). Başka bir deyişle hibritleme daha kolaydır.

Literatür Taraması

TAA farklı birçok kombinatoriyal/kesikli optimizasyon probleminde kullanılmıştır. Bunlardan bazıları şu şekildedir: Yük trenlerinin çizelgelenmesi (Yuan et al. 2008), köşe örtme (*vertex cover*) problemi (Bouamama et al. 2012), yazılım/donanım işbirlikçi tasarımı problemlerinden olan yazılım/donanım bölümlenme problemi (Lin 2013), dağıtık hesaplama sitemine görev atama problemi (Kang et al. 2013), çapraz-sevkiyat kamyon çizelgeleme problemi (Naderi et al. 2014), içecek dağıtımını yapan bir firmanın müşteri bölümlendirme (*customer segmentation*) üzerine bir gerçek hayat problemi (bir tür kümeleme problemi) (Huerta-Muñoz et al. 2017), karesel çoklu sırt çantası (*quadratic multiple knapsack*) problemi (García-Martínez et al. 2014).

Ancak TAA daha ziyade çizelgeleme problemleri için uygulandığı gözlemlenmiştir. Çizelgeleme problemlerinin çözümü için ilk defa (Ruiz and Stütze 2007) tarafından kullanılmıştır. Bu çalışmayı takiben başta akış tipi çizelgeleme problemi olmak üzere, çeşitli tipteki çizelgeleme problemleri için TAA tercih edilmiştir.

Nouri and Ladhari (2016) yine bloklama kısıtı altında akış tipi çizelgeleme problemini ele almışlardır. Pan and Ruiz (2014) permutasyon akış tipi çizelgeleme probleminin özel bir halini ele almıştır. Yazarlar; fiberglas işleme, dökümhane, entegre devre üretimi gibi bir çok alanda karşılaşılan, işler arası bazı makinelerin durdurulmasının ekonomik açıdan maliyetli veya teknik açıdan zor olduğu durumu ele alınmıştır. İlgili çalışmada ekleme komşuluk operatörü için yeni bir hızlandırma (*speed-up method*) yaklaşımı ve yıkım-yeniden yapım prosedürü geliştirmişlerdir. (Pan et al 2008) permutasyon akış tipi çizelgeleme problemi için toplam akış süresini minimize etmek istemişlerdir. Yazarlar çalışmalarında “*reference local search*” ismini verdikleri yeni bir komşuluk arama yaklaşımı geliştirmişlerdir. Rajendran and Ziegler (2004)’in “*job-index based insertion scheme*” olarak isimlendirdikleri metottan esinlenen bu yaklaşım ile çözüm uzayı genişletilmektedir. Temel olarak ekleme operasyonunun referans bir çözümden alınan referans pozisyona bağlı olarak yapılması esasına dayanmaktadır. Riahi et al. (2020) benzer şekilde gerçek hayatta fiberglas işleme sürecinde ve dökümhanelerde karşılaşılan bir problemi ele almışlardır. Yazarlar boşluksuz (Bir makine üzerindeki işi bitirdikten sonra boş kalmaksızın diğer işe başlaması gerekliliğini ifade etmektedir) (*no-idle*) permutasyon akış tipi çizelgeleme problemi için TAA kullanmıştır. Bu durum. Al Aqel et al. (2019), TAA’yı esnek atölye tipi çizelgeleme ortamında Cmax minimizasyonu için kullanmışlardır. Problemi iki alt probleme ayırarak ele alan yazarlar her alt problem için iki faz halinde TAA uygulamışlardır. Modifiye TAA ismini verdikleri yaklaşımı literatürde yapılmış diğer çalışmalar ile karşılaştırmışlardır. Pranzo and Pacciarelli (2016) bloklama kısıtı altında iki farklı versiyonu için atölye tipi çizelgeleme problemini ele almışlardır. Kim et al. (2017) sıra bağımlı hazırlık süreli atölye tipi çizelgeleme problemi için toplam aile akış süresini minimize etmek üzere TAA’yı kullanmıştır. Deng and Gu (2014) sıra bağımlı hazırlık zamanlı tek makine çizelgeleme probleminin çözümü için TAA’yı kullanmıştır. Yazarlar çözüm hızını artırma adına ekleme-komşuluk operatörü için Tasgetiren et al. (2009) tarafından geliştirilen hızlandırma metotlarını kullanmışlardır. Ayrıca değiş-tokuş komşuluk operatörü için kendileri eleme kuralları ve hızlandırma metotları geliştirmiştir. Framinan and Leisten (2008) ele aldıkları problem için değişken komşuluk arama ve tekrarlı açgözlü arama algoritmalarını hibretleyerek bir çözüm yöntemi oluşturmuştur. Değişken komşuluk araması, algoritmanın yerele takılmasını engellemek amacıyla kullanılmıştır. Tasgetiren et al. (2013) ele aldığı akış tipi çizelgeleme probleminin çözümü için üç farklı tipte TAA önermiştir. Bunlar: Geleneksel TAA, değişken TAA ve diferansiyel evrim algoritması ile hibritleşmiş TAA. Değişken TAA, değişken komşuluk arama algoritmasından esinlenerek oluşturulmuştur. Koşum boyunca yıkım aşamasında sökülecek parça sayısının değişkenliği esasına dayanır. İlk başta $d=1$ kabul edilir ve her iterasyonda bu değer bir artırılır ($d=d+1$). Eğer iyileşme olursa bu değer tekrar bir indirilir. Aksi takdirde $d_{max}=n-1$ olana kadar artırılır. Yazarlar tarafından önerilen üçüncü yaklaşımda (Bouamama et al. 2012)’nin çalışmasına benzer şekilde popülasyon temelli bir yapı kurulmuştur. TAA standart hali ile tek çözümlü bir sezgiseldir ancak Bouamama et al. (2012) klasik TAA’yı popülasyon temelli bir yapıya modifiye etmiştir. Tasgetiren et al. (2013) popülasyondaki bireye TAA uygulanma olasılığı ve yıkım boyutunu optimize etmek üzere diferansiyel evrim algoritması kurulmuştur. Li et al. (2019), her fabrikada tek bir robotun olduğu ve maksimum yayılımın (Cmax) en aza indirilmesi gereken dağıtılmış permutasyon akış tipi çizelgeleme problemini ele almıştır. İlgili problemde robotlar, her işi önceki makineden sonraki makineye aktarmak için kullanılmaktadır. Makineler arasında bir bloklama kısıtı bulunmaktadır. Bu kısıt çerçevesinde, işler robotu beklerken

tamamlanan makinede kalmalıdır. Bu çalışmada ayrıca yükleme ve boşaltma süreleri ve bozulma süresi (*deteriorating time*) de dikkate alınmıştır. Kısaca bilgi verilen bu çalışmalar Graham et al. (1979) tarafından oluşturulan çizelgeleme sınıflandırma metodolojisine göre derlenerek ve Tablo 1’de sunulmuştur.

Çizelge 1. Çizelgeleme problemleri için önerilen TAA literatürü

Referans	Gösterim
Framinan and Leisten 2008	$F pmtn \Sigma T_j$
Fanjul-Peyro and Ruiz 2010	$R C_{max}$
Urlings et al. 2010	$FFm S_{ij}, r_j C_{max}$
Lin et al. 2011	$R S_{mjk}, d_j \Sigma T_j$
Tasgetiren et al. 2013	$F pmtn, no_idle C_{max}, \Sigma F_j$
Rodriguez et al. 2013	$R \Sigma w_j C_j$
Lin et al. 2013	$DF pmtn C_{max}$
Fernandez-Viagas and Framinan 2014	$DF pmtn C_{max}$
Pan and Ruiz 2014	$F prmu; mixed\ no_idle C_{max}$
Deng and Gu 2014	$1 s_{ij} \Sigma w_j T_j$
Nouri and Ladhari 2016	$Fm block C_{max}$
Lin et al. 2016	$Rm C_{max}; Pw_j C_j; \Sigma w_j T_j$
Karabulut 2016	$F prmu \Sigma T_j$
Kim et al. 2017	$JS s_{ij} \Sigma F_j$
Pranzo and Pacciarelli-2016	$JS block C_{max}$
Aqel et al. 2018	$FJS C_{max}$
Lee 2018	$Pm s_{ij} \Sigma w_i T_i$
Ribas et al. 2019	$F block \Sigma T_j$
Al-Behadili et al. 2019	$F brkdwn utility, stability, robustness$
Li et al. 2019	$DF block C_{max}$
Riahi et al. 2020	$F no_idle \Sigma T_j$
Deng et al. 2020	$JS no_wait \Sigma F_j$
Pinheiro and Arroyo 2020	$1 s_{ij} \Sigma T_j$

Aç gözlü algoritmanın tek amaçlı problemler için etkili çözümler ürettiği yukarıda sunulan literatür göstermektedir. Aç gözlü temelli yaklaşımlar çok amaçlı problemler için de uygulanmış ve başarılı çözümler elde edilmiştir (Lin et al. 2016). Örneğin Framinan and Leisten (2008) ve Minella et al. (2011) permutasyon akış tipi çizelgeleme probleminde, C_{max} ve toplam akış süresini minimize etmek için TA kullanmıştır. Ciavotta et al. (2013) aynı problemin sıra bağımlı hazırlık süreli versiyonu için pareto açgözlü bir yöntem önermiştir. Ying et al. (2014) iki amaçlı tekrar girişli (*reentrant*) hibrit akış tipi çizelgeleme problemi için pareto aç gözlü önermiştir. Lin et al. (2016), çok amaçlı ilişkisiz paralel makine çizelgeleme problemi için, Ying et al. (2014) tarafından oluşturulan tekrarlı pareto açgözlü algoritmaya tabu listesi eklenerek genişletilmiş bir versiyonunu önermişlerdir. Al-Behadili et al. (2019) üç amaçlı dinamik permutasyon akış tipi çizelgeleme problemi için TAA’yı önyargılı rastgeleleştirme süreci (*biased randomisation process*) ile hibritleyerek robust bir yaklaşım geliştirmişlerdir.

MATERYAL VE METOT

Başlangıç Çözüm

TAA’nın bu bileşeninde, araştırmacılar genelde problemle ilgili daha önce geliştirilmiş kısa zamanda uygun çözüm üreten sezgisellere başvurmuşlardır. Başlangıç çözümü rassal bir şekilde oluşturan tabu arama ve tavlama benzetimi gibi algoritmaların aksine TAA başlangıç çözüm için yapıcı bir sezgisel kullanmaktadır. Bu yaklaşım TAA açısından ciddi bir avantajdır (García-Martínez et al.

2014). Başlangıç çözüm için ve yeniden yapım için uygulanan açgözlü yaklaşımlar problem özgüdür. Bu bölümde TAA literatürü başlangıç çözüm operatörü bağlamında incelenmiştir.

Ribas et al. (2019) toplam gecikmenin minimize edilmeye çalışıldığı blok kısıtlı paralel akış tipi çizelgeleme problemi için geliştirdikleri TAA için, çözüm kalitesi ve CPU zamanı açısından altı farklı yapıcı sezgiseli (NEH1, NEH2, RC3_m, FPD_m, A3B2_m, RC4) değerlendirmişlerdir. Ayrıca yazarlar bu çalışmada algoritmanın farklı varyasyonlarını test ederek algoritmanın bileşenlerinin performans üzerine etkisini araştırmışlardır. Sonuçta başlangıç çözümün kalitesinin TAA ile ulaşılan son sonucun kalitesine etkisinin olmadığı çıkarımında bulunmuşlardır. Bu yüzden kaliteli başlangıç çözüm elde etmek için harcanan zamanın daha fazla iterasyona ayrılmasının daha faydalı olacağı sonucuna varmışlardır. Akış tipi çizelgeleme problemi için geliştirilen TAA'larda başlangıç çözüm operatörü olarak genelde Nawaz et al. (1983) tarafından geliştirilen NEH (Nawaz, Enscore and Ham) algoritması kullanılmıştır. NEH, akış tipi çizelgeleme problemi için geliştirilmiş diğer en çok bilinen sezgiseller olan; Palmer algoritması (Palmer 1965), Johnson kuralı (Johnson 1954) ve CDS metodundan (Campbell et al 1970) daha iyi olduğundan birçok yazar tarafından (Pan and Ruiz 2014; Lin et al. 2013; Nouri and Ladhari 2016; Li et al. 2019) NEH tabanlı yaklaşım tercih edilmiştir. Sonrasında klasik NEH'in yeni NEH1 ve NEH2 olmak üzere yeni versiyonları türetilmiştir (Naderi and Ruiz 2010). Rad et al. (2009), akış tipi problemler için başlangıç çözüm olarak FRB1-FRB5 olarak isimlendirdikleri 5 farklı metod önermiştir. Geliştirilen metotlar, NEH'e göre dahi iyi performans gösterse de hesaplama maliyeti daha yüksektir (Pan and Ruiz 2014). Pan and Ruiz (2014), başlangıç çözüm için FRB4'i özelleştirerek FRB4k ismini verdikleri sezgiseli kullanmıştır. Bu yaklaşıma göre, p pozisyonuna bir iş yerleştirildikten sonra p pozisyonu etrafındaki k adet iş, daha iyi sonuç bulmak üzere muhtemel tüm pozisyonlar için denir. Burada k parametresinin ayarlanması çözüm kalitesi ve hesap yükü arasında dengenin sağlanmasında önemli bir etkidir. Al-Behadili et al. (2019) permutasyon akış tipi çizelgeleme probleminin dinamik versiyonu için Juan et al. (2014) tarafından geliştirilmiş NEH algoritmasından türeyen BR-NH isimli algoritmayı kullanmıştır. Bu algoritma klasik NEH algoritması ile biased randomiastion sürecinin kombinasyonundan oluşmaktadır. Kim et al. (2017) başlangıç çözüm için Choi and Korkmaz (1997) tarafından geliştirilmiş sıra bağımlı hazırlık süreli atölye tipi çizelgeleme sezgiseli kullanmıştır. Deng and Gu (2014) tek makine çizelgeleme problemi ağırlıklı gecikmeyi minimize etmek için geliştirdikleri TAA için başlangıç çözümde hazırlık zamanlı görünen gecikme maliyeti (apparent tardiness cost with setup-ATCS) kullanmışlardır. Pranzo and Pacciarelli (2016) bloklu atölye tipi çizelgeleme problemini, Mascis and Pacciarelli (2002) tarafından geliştirilen ve ayrık şebeke modelinden özelleşmiş alternatif şebeke modeli (alternative graph model) şeklinde modellemiştir. Bahsedilen bu şebeke modeli ile pratik hayatta karşılaşılan birçok karmaşık özel çizelgeleme durumları başarı ile çözülebilmektedir. Bu özel durumlara örnek olarak; bir iş için maksimum depolama zamanının bulunması, bir işin ardışık operasyonları arası zaman kısıtının bulunması, bir makinenin sınırlı yarı ürün depolama kapasitesi olması (buffer), belirli zaman aralıklarında makinelerin çalışmıyor olduğu durumlar veya işlerin işlenmek için daha önceden tanımlanmış bir zaman aralığında (varış ve teslimat tarihleri belli) yapılması gerektiği durumlar verilebilir (Pacciarelli 2002). Yazarlar başlangıç çözümüm bu model üzerine kurgulamıştır. Deng et al. (2020) atölye tipi çizelgeleme için popülasyon temelli yaklaşım kullanmıştır. Başlangıçta belirli sayıda uygun çözüm oluşturmuştur. Popülasyondaki her birey için TAA prosedürü uygulanmıştır. Daha iyi çözüme ulaşıldığında birey yeni aday ile değiştirilmiştir. Benzer şekilde AlAqel et al. (2018) esnek atölye tipi çizelgeleme probleminin çözümü için popülasyon tabanlı bir yaklaşım kullanmıştır. Klasik yaklaşımlardan farklı olarak çözüm uzayının keşfi (*exploration*) için popülasyon içerisinde farklı kalitelerde bireylerin iyiden en kötüye doğru sıralayarak oluşturmuştur. Bunun için

öncelikle bir uygun çözüm oluşturulmuş ve daha sonra bu çözüm optimize edilerek çözüm kalitesi yükseltilecek ikinci birey ve üçüncü birey şeklinde başlangıç çözüm oluşturma süreci tamamlanmıştır.

Çizelgeleme problemlerinin dışında diğer problem tiplerine bakıldığında, benzer şekilde probleme özgü geliştirilmiş etkili yapıcı yöntemlerin başlangıç çözüm olarak kullanıldığı görülmektedir. García-Martínez et al. (2014) karesel çoklu sırt çantası problemi için Hiley and Julstrom (2006) tarafından geliştirilen açgözlü yapıcı algoritmayı kullanmıştır. Huerta-Muñoz et al. (2017) bir tür kümeleme problemi için başlangıç operatöründe Hartigan & Wong (1979) tarafından geliştirilen k-means algoritmasından türettiği ettiği Modified k -Means kullanmıştır.

Yıkım (Destruction) ve Yeniden Yapılandırma (Reconstruction)

Tekrarlı yerel arama sezgiselindeki (*iterated local search-ILS*) perturbasyon operatörünün Ruiz and Stutzle (2007) tarafından uyarlanmış halidir (Deng and Gu 2014). Her defasında en baştan açgözlü bir yaklaşım ile aday çözümler oluşturmak yerine, her iterasyonda elde edilen başarılı çözümlerin parçalarını muhafaza etmek esasına dayanmaktadır. Ayrıca bu yaklaşım ile çözüm daha hızlı oluşturulmaktadır (Hoos and Stutzle 2004). Bu aşama, n işten oluşan permutasyonuna (S-uygun çözüm sıralamasına) uygulanır. Tekrarsız bir şekilde d adet iş rassal bir şekilde seçilir. Seçilen bu işler S permutasyonundan çıkarılır. Bu işlerin ardından iki alt permutasyon oluşur. Bunlardan ilki $n-d$ işten oluşan kısmi sıralama (partial sequence) S_D ve diğeri çıkarılan d işten oluşan küme S_R 'dir.

Başlangıç çözüm oluşturma aşamasında olduğu gibi, yeniden yapım aşamasında da çıkarılan işler (S_R) probleme özgü yapıcı bir sezgisel ile S_D içerisine tekrar eklenerek aday çözüm S_C oluşturulur (Ruiz and Stutzle 2007). TAA'da çizelgeleme problemlerinde yeniden yapım aşamasında genelde NEH (Nawaz et al. 1983) sezgiseli kullanılmıştır. Bu sezgisele göre S_R alt permutasyonundaki ilk iş S_D alt permutasyonundaki tüm muhtemel pozisyonlara ($n-d+1$) yerleştirilir. Bunlar arasından en iyi amaç değerli permutasyon, yeni parçalı permutasyon (S_D) olarak seçilir. Bu işlem S_R alt permutasyonundaki tüm işler bitene kadar devam eder. Bu şekilde yeni aday çözüm S_D oluşturulur. Yıkım-yeniden yapılandırma aşamasına ait pseudo kod Çizelge 2'de verilmiştir (Pan et al. 2008).

Çizelge 2. Yıkım-yeniden yapılandırma aşamasına ait pseudo kod

Prosedür: Yıkım-Yeniden Yapılandırma (S)

Yıkım

for $i:=1$ to d **do**

$P[1, n+1-i]$ setinden rassal bir j pozisyonu seç;

$S_D := j$ pozisyonundaki işi S' 'den çıkar. Çıkarılan işi S_R setine ekle;

endfor

Yeniden Yapılandırma

for $i:=1$ to d **do**

S_R setinden rassal bir iş seç

$S_D :=$ Seçilen işi S_D alt setindeki muhtemel tüm pozisyonlarda deneyerek en iyi alternatifi belirle

endfor

return S'

Mevcut çözümden çıkarılacak parça sayısı (d) genellikle deneysel çalışmalar sonucunda sabit bir sayı olarak belirlenmektedir (Framinan and Leisten 2008; Fanjul-Peyro and Ruiz 2010; Kang et al. 2013). Ancak bu değer belirlenirken farklı yaklaşımlar uygulandığı gözlemlenmiştir. Rodriguez et al. (2013) çıkarılacak parça sayısını (d), problem boyutuna ve sıfır bir aralığında belirlenen ve yıkım seviyesi olarak isimlendirilen (*degree of destruction*) ($q \in [0,1]$) iki parametrenin çarpımı ($q \cdot n$) ile bulmaktadır. Bu bölümün devam eden kısımlarında önce yıkım aşaması sonra yapım aşaması detaylı bir şekilde işlenmiştir.

Ribas et al. (2019) tarafından perturbation operatörü olarak da isimlendirilen yıkım aşamasının iyi tasarlanması çözüm kalitesi üzerinde önemli etkiye sahiptir. Öncelikle sökülecek bileşen sayısı, mevcut çözümü yerel optimumdan çıkaracak kadar büyük ve mevcut çözüm ile kazanılmış iyi özellikleri kaybettirmeyecek kadar küçük olmalıdır. Aksi takdirde çözüm yerele takılabilir ya da bulunan yeni çözüm elde edilen yerel çözümde daha kötüye gidebilmektedir. Karabulut (2016) yıkım boyutunu sabit ($d=4$) tutmuştur (Bu değer, Ruiz and Stützle (2007) tarafından deneysel bulunmuştur). Fanjul-Peyro and Ruiz (2010) “*tabu-enhanced procedure*” ismini verdiği yaklaşım ile çıkarılacak bileşenlerin seçimini rassal olarak değil de olasılıksal temellere dayalı bir sezgisel ile yapmaktadır. Her ne kadar TAA problem bağımlı bir sezgisel olmasa da yazarlar probleme özgü veriyi kullanarak daha iyi sonuçlar elde etmek adına daha akıllı seçimler yapılabileceğini göstermişlerdir. Benzer şekilde Riahi et al. (2020) seçilecek işlerin rasgele seçildiği klasik yıkım prosedüründen farklı olarak, gecikme güdümlü bir iş seçme yapısı geliştirmişlerdir. Bu şekilde sıralamadaki en problemlili bileşenler düzeltilmeye çalışılmıştır. Ayrıca yazarlar yıkım aşamasında sökülecek iş sayısını (d) sabit almayıp problem boyutuna göre belirli bir fonksiyon ile tespit etmektedir. Elliden az işli problemler için $d=3$, 50’den büyük problemler için $B*n$ (B algoritma parametresi) şeklinde belirlemiştir. García-Martínez et al. (2014) Tabu listeli yeni bir yıkım mekanizması geliştirmiştir. Bu yaklaşıma göre klasik yıkımdan farklı olarak sökülen parçaları kısa dönemli bir hafızada, bir listede kaydedip aynı parçaların tekrar sökülmesine engel olunmaktadır. Benzer yaklaşımı Lin et al. (2016) çok amaçlı ilişkisiz paralel makine çizelgeleme problemi için kullanmıştır. Lee (2018) özdeş paralel makine çizelgeleme problemi için geliştirdiği TAA’da yıkım için iki farklı yaklaşım kurgulamıştır. Bunlardan ilkinde paralel makine seti içinden C_{max} değeri en küçük olandan rastgele bir iş seçmiştir. Diğerinde tüm makinelerden rastgele bir iş seçimi yapmıştır.

Yeniden yapılandırma aşaması sökülen parçaların belirli bir düzen çerçevesinde kısmi çözüme eklendiği süreçtir. Bu aşamada açgözlü yapısal sezgiseller kullanılmaktadır. Çıkarılmış işler seti S_R içinden işler, rastgele veya belirli bir sezgisel göre yapılabilmektedir. Pan et al (2008) yeniden yapılandırmada NEH sezgiselini kullanmıştır. Bu yaklaşıma göre seçilen iş tüm muhtemel sıralara ($n-d-1$) yerleştirilmiş ve en iyi sonuç veren sıralama seçilmiştir. Bu işlem S_R kümesi boşalana kadar devam ettirilmiştir. Pan and Ruiz (2012) etkili tasarlanmış açgözlü yeniden yapılandırmanın TAA’nın performansı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır. Pinheiro and Arroyo (2020) α $[0,1]$ arasında rassal bir değer olmak üzere $\alpha*n$ kadar işi çıkarıp çıkan her bir işi permutasyondaki tüm sıralara yerleştirmiştir.

TAA en genel yapısında çıkarılan işler rassal bir şekilde seçilerek parçalı çözüme eklenir. Ancak bazı çalışmalarda bu işlem için daha etkili sonuçlar veren yaklaşımlar geliştirilmiştir (Framinan and Leisten 2008). Deng and Gu (2014), Fernandez-Viagas and Framinan (2014), Naderi et al. (2014) da aynı şekilde “*Insertion Perturbation*” ismini verdikleri yaklaşımda, rassal şekilde d kadar işi uygun çözümden çıkarmış ve çıkan işleri sırayla çıkarıldığı yer hariç diğer tüm pozisyonlara eklemiştir. Yazarlar bu sürecin zorluğunu $O(dn^2)$ olarak hesaplamışlardır. AlAqel et al. (2018) yeniden yapım operatörü olarak sıralama kurallarını kullanmıştır. Yazarlar aynı probleme yönelik yaptıkları başka bir çalışmada problemi iki alt probleme (makine atma ve sıralama) ayırmış ve her biri için yeniden yapım operatörü olarak sıralama kurallarını kullanmıştır (AlAqel et al. 2019). Rodriguez et al. (2013) özdeş olmayan paralel makine çizelgeleme problemi için 7 farklı sezgisel kullanmıştır. Pan and Ruiz (2014), FRB4k (Akış tipi çizelgeleme başlangıç çözüm oluşturmak için geliştirilmiştir) isimli sezgiselden esinlenerek sökülen iş tekrar eklendikten sonra ilgili işin öncesi ve sonrasındaki işler de permutasyondaki tüm sıralara eklenmiştir. Bu küçük modifikasyon ile oluşturdukları “*eDC*” ismini verdikleri operatör ile kayda değer iyileştirme sağlamışlardır.

Yerel Arama

Yerel arama, yıkım ve yeniden yapım aşamasından sonrası üretilen her bir çözümü daha da iyileştirmek üzere opsiyonel olarak kullanılan TAA operatörüdür. Bu bölümde, literatürde yerel arama sürecinde kullanılan bazı yaklaşımlara yer verilmiştir.

Kim et al. (2017) ele aldıkları atölye tipi çizelgeleme problemini ayrık şebeke ile ifade etmişlerdir. Yazarlar, Nowicki and Smutnicki (1996) tarafından sunulan komşuluk üretme metodundan esinlenerek kritik yol üzerindeki komşu operasyonları değişimine dayalı iki farklı komşu çözüm üretmişlerdir.

Şebekenin kritik yolu Cmax değerini veren ardışık operasyonlardan oluşmaktadır. Pan and Ruiz (2014) sökülecek işin rastgele seçildiği klasik yaklaşımın yerine Pan et al. (2008) tarafından geliştirilen “*referenced local search*” isimli yapıyı kullanmışlardır. Bu yaklaşımda sökülecek iş rastgele değil de referans listedeki sıraya göre seçilmektedir. Örneğin referans çözüm {3,1,5,2,4} ve mevcut çözüm {4,2,5,1,3}. Önce 3 işi çıkarılıyor ve muhtemel tüm sıralara ekleniyor. Sonra 1 işi çıkarılır ve liste tamamlanana kadar bu şekilde devam edilir. Temel mantık sökme işleminin rastgele değil de referans bir çözüm tarafından yönetilmesidir. Bu yaklaşım birçok çalışmada kullanılmıştır (Deng and Gu 2012). Ancak Tasgetiren et al. (2009) bu yaklaşımın rassal yaklaşımdan farksız olduğunu iddia etmiştir. Deng and Gu (2014) çalışmalarında yerel arama için kullanılan komşuluk yapıları ile ilgili literatürde yapılan değerlendirmelere yer vermiştir. İlgili çalışmada, problem tipine göre komşuluk yapılarının birbirlerine üstünlük sağladıkları ortaya koyulmuştur. García-Martínez et al. (2014) karesel çoklu sırt çantası problemi için ikisi literatürden ikisi özgün yerel arama metodu kullanmıştır.

Kabul Kriteri

Bu aşamada, yıkım-yeniden yapılandırma ve yerel arama aşamalarından sonra oluşan aday çözüm ve mevcut çözüm amaç değerlerine göre karşılaştırılır. Eğer daha iyi bir sonuç elde edilmiş ise aday çözüm yeni mevcut çözüm olarak güncellenir. Algoritmanın bu açgözlü yapısı, çözümün çabucak yerele takılmasına sebep olabilir. Bu olumsuzluğu aşmak için bazı araştırmacılar (Kim et al. 2017; Pranzo and Pacciarelli 2016; Nouri and Ladhari 2016; Pan and Ruiz 2014; Pan et al 2008; Lin et al. 2013; Li et al. 2019) tavlama benzetimine benzer sıcaklık tabanlı bir kabul kriteri kullanmışlardır. Belirli bir olasılık ile kötü sonuçların da kabul edildiği bu kriter, minimizasyon problemi için şu şekilde çalışmaktadır:

$$\Delta = F(S_i) - F(S_c)$$

Burada $F(S_i)$ ve $F(S_c)$ yeni çözüm ve mevcut çözüme ait amaç değerleridir. Δ , mevcut çözüm amaç değeri ile aday çözüm amaç değeri arası fark iken; $\Delta > 0$ durumunda aday çözüm kabul edilir. Aksi takdirde aşağıda verilen fonksiyon ile elde edilen ihtimal ile kabul edilir:

$$\text{Rnd}() \leq \exp\{\Delta / \text{Temp}\}$$

Bunun için [0,1] aralığında düzgün dağılıma göre rassal bir sayı üretilir ($\text{Rnd}()$). Yeni oluşan çözümün kabulü sıcaklık diye isimlendirilen parametre (Temp) tarafından kontrol edilir. Algoritma koşumu boyunca kabul kriterine ait değer birçok çalışmada sabittir. Ancak Riahi et al. (2020) zamana bağlı dinamik bir kabul kriteri geliştirmişlerdir. Bu yaklaşımda, koşumun ilk zamanlarında iyi olmayan (*non-improving*) çözümlerin kabulü için oran yüksek tutulmakta ve sona doğru sifıra yaklaştırılmaktadır. Temel fikir, arama alanını erken yinelemelerde daha fazla keşfetmek ve sonraki yinelemelerde iyileşmeye odaklanmaktır. Bir diğer kabul kriteri rassal yürüyüştür (Pranzo and Pacciarelli 2016). Bu kriter gere göre her uygun aday çözüm kabul edilir. Rodriguez et al. (2013) bu kriteri modifiye ederek uygun çözümlerin yarısını kabul etmektedir. Yazarlar, amaç fonksiyonundan bağımsız bir değerlendirme yapan bu yaklaşım için 0-1 aralığında düzgün dağılan bir değer (p_a) üretmiştir. Eğer bu değer 0,5'ten küçük ise ($p_a < 0,5$) yeni çözüm olarak kabul etmiş aksi takdirde mevcut çözümlerle iterasyona devam etmiştir.

Pinheiro and Arroyo (2020) ve Pan et al (2008) kabul kriteri olarak açgözlü bir yaklaşım benimsemiştir. Bu yaklaşım aday çözümler arasından en iyi sonucun seçilmesi (*greedily made*) esasına dayanmaktadır.

Durdurma Kriteri

TAA'da yapım ve yıkım aşamaları, önceden tanımlanmış durdurma kriteri sağlanana kadar devam eder. Bu bölümde, literatürde geliştirilmiş çeşitli durdurma kriterlerine yer verilmiştir. Durdurma kriterlerinin en genel hali, algoritmanın belirlenen iterasyon sayısına (Kim et al. 2017; Lin et al. 2011) veya belirlenen CPU zamanına ulaşınca (Fanjul-Peyro and Ruiz 2010; Lin et al. 2013; Pranzo and Pacciarelli 2016) durdurulması şeklindedir. Pinheiro and Arroyo (2020), belirli bir iterasyon sayısınca ilerleme kaydedilmediği zaman koşumu durdurmuştur. Buna karşın Lin et al. (2011) iyileşme oluşmadığı zaman mevcut çözümü (S_i) tamamıyla yeniden oluşturmakta ve maksimum iterasyon sayısına veya ulaşılmak istenen amaca ulaşınca durdurmaktadır. Çeşitliliği artırmak ve böylece algoritmanın yerele takılmasına engel olmak için geliştirilen bu yaklaşım Naderi et al. (2014) tarafından da kullanılmıştır. Ancak bu prosedürü uygulamada dikkat edilecek kritik nokta tamamıyla yeni bir çözümün ne zaman oluşturulacağına karar verilmesidir. Bunun için genelde Minella et al. (2011) tarafından önerilen yukarıda da bahsedilen yaklaşım kullanılır. Yani kullanıcı tarafından tanımlanan sayıda iterasyon sonrasında iyileşme olmaz ise bu mekanizma tetiklenir. Çok amaçlı problemlerin çözümünde (pareto temelli çözüm önerisi geliştirilen çalışmalarda) daha önceden belirlenen baskın çözümler kümesi kapasitesine ulaşıncaya durulmaktadır (Lin et al. 2016).

Eleme ve Hızlandırma

Aynı hareketleri veya amaç açısından olumlu katkı yapmayacak hareketleri arama süresinden arındırarak hesaplama karmaşıklığını azaltması yönünde yapılan çalışmalardır. Bu tarzda çalışmalar karmaşıklığı hatırı sayılır bir şekilde düşürdüğü gözlemlenmiştir. Örneğin Tasgetiren et al. (2013a) geliştirdiği eliminasyon yapısı ile tüm ekleme komşuluk karmaşıklığını $O(n^3m)$ 'den $O(n^2m)$ 'e düşürmüştür (n iş, m makine). Deng and Gu (2014) ele aldıkları çizelgeleme problemi için geliştirdikleri algoritmanın yerel arama operatöründe aynı tamamlanma zamanına (C_i) ve aynı ağırlığa (w_i) sahip elemanların değişimini engellemişlerdir. Benzer şekilde Tasgetiren et al. (2009) ekleme tipi komşuluk arama hareketi için hızlandırıcı geliştirmiştir. Li et al (2009) toplam akış süresi minimizasyonu için önerdikleri algoritma içerisinde hızlandırıcı bir mekanizma geliştirmişlerdir. Karabulut et al. (2019), Li et al (2009) tarafından geliştirilen hızlandırma mekanizmasını toplam gecikme minimizasyonu için modifiye etmiştir. Yerel arama operatörünün yanısıra hızlandırma yaklaşımları diğer algoritma bileşenleri için de kullanılmıştır. Örneğin Taillard (1990), iki amaçlı akış tipi çizelgeleme problemi için geliştirdiği TAA'nın yapım aşamasını hızlandırmak üzere bir yaklaşım ortaya koymuştur. Karmaşıklığın $O(mn^2)$ 'ye düşürüldüğü bu yaklaşım birçok çalışmada (Tasgetiren et al. 2013; Lin et al. 2013) kullanılmıştır. Fernandez-Viagas and Framinan (2014) sınırlandırılmış arama mekanizması ismini verdiği bir yaklaşım geliştirmiştir. Belirli bir iterasyona kadar ulaşılan en iyi sonuç değeri alt sınır olarak belirlenmiştir. Yapım ve yeniden yapılandırma aşamasında her bileşen eklenirken ulaşılan sonuç bu alt sınır ile karşılaştırılmış ve eğer daha kötü sonuç ortaya çıkıyor ise ekleme işlemine devam edilmemiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada tekrarlı açgözlü arama algoritmasına yönelik kapsamlı bir analiz yapılmıştır. TAA uygulama kolaylığı, etkili sonuç vermesi ve birçok karar problemi için rahat uyarlanabilir yapısı sebebiyle son yıllarda tercih edilen bir meta-sezgisel tekniktir. Çalışmada algoritmaya ait operatörler ayrı ayrı alt başlıklar halinde incelenmiş ve literatürde kullanılan çeşitli yöntemler tanıtılmıştır. Türkçe

literatür bağlamında eksik olduğu düşünülen meta-sezgiseller alanına katkı yapacağı düşünülen bu çalışmanın hem akademik hem de pratik hayattaki araştırmacılara bir rehber olması amaçlanmıştır.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Al Aqel, G., Li, X., Gao, L., Gong, W., Wang, R., Ren, T., Wu, G. 2018. Using Iterated Greedy with a New Population Approach for the Flexible Jobshop Scheduling Problem. In 2018 IEEE International Conference on Industrial Engineering and Engineering Management (IEEM) (pp. 1235-1239). IEEE.
- Al Aqel, G., Li, X., Gao, L. 2019. A modified iterated greedy algorithm for flexible job shop scheduling problem. Chinese Journal of Mechanical Engineering, 32(1), 21.
- Al-Behadili, M., Ouelhadj, D., Jones, D. 2020. Multi-objective biased randomised iterated greedy for robust permutation flow shop scheduling problem under disturbances. Journal of the Operational Research Society, 71(11), 1847-1859.
- Bouamama, S., Blum, C., Boukerram, A. 2012. A population-based iterated greedy algorithm for the minimum weight vertex cover problem. Applied Soft Computing, 12(6), 1632-1639.
- Campbell HG, Dudek RA, Smith ML. Heuristic algorithm for N-job, M-machine sequencing problem. Management Science Series B—Application 1970;16(10):B630–7.
- Cesta, A., Oddi, A., Smith, S.F.: Iterative flattening: a scalable method for solving multi-capacity scheduling problems. In: Proceedings of the National Conference on Artificial Intelligence, pp. 742–747 (2000)
- Ciavotta, M., G. Minella, and R. Ruiz. 2013. “Multi-objective Sequence Dependent Setup times Permutation Flowshop: A New Algorithm and a Comprehensive Study.” European Journal of Operational Research 227 (2): 301–313.
- Choi, I. C., and O. Korkmaz. 1997. “Job Shop Scheduling with Separable Sequence-Dependent Setups.” Annals of Operations Research 70 (1): 155–170.
- Deng G, Gu X. A hybrid discrete differential evolution algorithm for the no-idle permutation flow shop scheduling problem with makespan criterion. Computers and Operations Research 2012; 39(9): 2152–2160.
- Deng, G., Su, Q., Zhang, Z., Liu, H., Zhang, S., Jiang, T. 2020. A population-based iterated greedy algorithm for no-wait job shop scheduling with total flow time criterion. Engineering Applications of Artificial Intelligence, 88, 103369.
- Fanjul-Peyro, L., Ruiz, R. 2010. Iterated greedy local search methods for unrelated parallel machine scheduling. European Journal of Operational Research, 207(1), 55-69.
- Fernandez-Viagas, V., Framinan, J. M. 2015. A bounded-search iterated greedy algorithm for the distributed permutation flowshop scheduling problem. International Journal of Production Research, 53(4), 1111-1123.
- Framinan, J. M., Leisten, R. 2008. Total tardiness minimization in permutation flow shops: a simple approach based on a variable greedy algorithm. International Journal of Production Research, 46(22), 6479-6498.

- García-Martínez, C., Rodríguez, F. J., Lozano, M. 2014. Tabu-enhanced iterated greedy algorithm: a case study in the quadratic multiple knapsack problem. *European Journal of Operational Research*, 232(3), 454-463.
- Graham, R. L., Lawler, E. L., Lenstra, J. K., Kan, A. R. 1979. Optimization and approximation in deterministic sequencing and scheduling: a survey. In *Annals of discrete mathematics* (Vol. 5, pp. 287-326). Elsevier.
- Hartigan, J. A., Wong, M. A. 1979. A K -means clustering algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society, Series C: Applied Statistics*, 28 (1), 100–108
- Hiley, A., Julstrom, B. 2006. The quadratic multiple knapsack problem and three heuristic approaches to it. In *Proc. of the genetic and evolutionary computation conference (GECCO)* (pp. 547–552).
- Hoos, H.H., Stutzle, T.: *Stochastic Local Search—Foundations and Applications*. Morgan Kaufmann Publishers/Elsevier, San Francisco (2004)
- Huerta-Muñoz, D. L., Ríos-Mercado, R. Z., Ruiz, R. 2017. An iterated greedy heuristic for a market segmentation problem with multiple attributes. *European Journal of Operational Research*, 261(1), 75-87.
- Jacobs, L. W., Brusco, M. J., 1995. A local search heuristic for large set-covering problems. *Naval Research Logistics Quarterly*, 42(7), 1129–1140
- Johnson SM. Optimal two- and three-stage production schedules with setup times included. *Naval Research Logistics Quarterly* 1954;1(1):61–8.
- Juan, A. A., Lourenc,o, H. R., Mateo, M., Luo, R., Castella, Q., 2014. Using iterated local search for solving the flow-shop problem: Parallelization, parametrization, and randomization issues. *International Transactions in Operational Research*, 21(1), 103–126. doi:10.1111/itor.12028
- Kang, Q., He, H., Wei, J. 2013. An effective iterated greedy algorithm for reliability-oriented task allocation in distributed computing systems. *Journal of parallel and distributed computing*, 73(8), 1106-1115.
- Karabulut, K. 2016. A hybrid iterated greedy algorithm for total tardiness minimization in permutation flowshops. *Computers & Industrial Engineering*, 98, 300-307.
- Kim, J. S., Park, J. H., Lee, D. H. 2017. Iterated greedy algorithms to minimize the total family flow time for job-shop scheduling with job families and sequence-dependent set-ups. *Engineering Optimization*, 49(10), 1719-1732.
- Lee, C. H., 2018. A dispatching rule and a random iterated greedy metaheuristic for identical parallel machine scheduling to minimize total tardiness. *International Journal of Production Research*, 56(6), 2292-2308.
- Li, X., Wang, Q., Wu, C. 2009. Efficient composite heuristics for total flowtime minimization in permutation flow shops. *OMEGA, The International Journal of Management Science*, 37, 155–164
- Li, W., Li, J., Gao, K., Han, Y., Niu, B., Liu, Z., Sun, Q. 2019. Solving robotic distributed flowshop problem using an improved iterated greedy algorithm. *International Journal of Advanced Robotic Systems*, 16(5), 1729881419879819.
- Lin, S. W., Lu, C. C., Ying, K. C. 2011. Minimization of total tardiness on unrelated parallel machines with sequence-and machine-dependent setup times under due date constraints. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 53(1-4), 353-361.
- Lin, G. 2013. An iterative greedy algorithm for hardware/software partitioning. In *2013 ninth international conference on natural computation (ICNC)* (pp. 777-781). IEEE.

- Lin, S. W., Ying, K. C., Huang, C. Y. 2013. Minimising makespan in distributed permutation flowshops using a modified iterated greedy algorithm. *International Journal of Production Research*, 51(16), 5029-5038.
- Lin, S. W., Ying, K. C., Wu, W. J., Chiang, Y. I. 2016. Multi-objective unrelated parallel machine scheduling: a Tabu-enhanced iterated Pareto greedy algorithm. *International Journal of Production Research*, 54(4), 1110-1121.
- Mascis, A., Pacciarelli, D.: Job-shop scheduling with blocking and no-wait constraints. *Eur. J. Oper. Res.* 143(3), 498–517 (2002)
- Minella, G., R. Ruiz, and M. Ciavotta, “Restarted Iterated Pareto Greedy algorithm for multi-objective flowshop scheduling problems,” *Computers and Operations Research*, vol. 38, no. 11, pp. 1521–1533, 2011
- Naderi, B., Ruiz, R., 2010. The distributed permutation flowshop scheduling problem. *Comput. Oper. Res.* 37, 754–768. <https://doi.org/10.1016/j.cor.2009.06.019>
- Naderi, B., Rahmani, S., Rahmani, S. 2014. A multiobjective iterated greedy algorithm for truck scheduling in cross-dock problems. *Journal of Industrial Engineering*, 2014.
- Nawaz M, Ensore Jr. EE, Ham I. A heuristic algorithm for the m machine, n job flowshop sequencing problem. *Omega-International Journal of Management Science* 1983;11(1):91–5.
- Nouri, N., Ladhari, T. 2016. An Efficient Iterated Greedy Algorithm for the Makespan Blocking Flow Shop Scheduling Problem. *Polibits*, (53), 91-95.
- Nowicki, E., Smutnicki, C. 1996. A fast taboo search algorithm for the job shop problem. *Management science*, 42(6), 797-813.
- Pacciarelli, D. (2002) Alternative graph formulation for solving complex factory scheduling problems, *International Journal of Production Research*, 40:15, 3641-3653, DOI:10.1080/00207540210136478
- Palmer, D.S., 1965. Sequencing jobs through a multi-stage process in the minimum total time: a quick method of obtaining a near optimum. *Operational Research Quarterly*, 16 (1), 101–107.
- Pan, Q. K., Tasgetiren, M. F., Liang, Y. C. 2008. A discrete differential evolution algorithm for the permutation flowshop scheduling problem. *Computers & Industrial Engineering*, 55(4), 795-816.
- Pan, Q.K., R Ruiz. Local search methods for the flowshop scheduling problem with flowtime minimization. *European Journal of Operational Research*, 2012, 222: 31-43.
- Pan, Q. K., Ruiz, R. 2014. An effective iterated greedy algorithm for the mixed no-idle permutation flowshop scheduling problem. *Omega*, 44, 41-50.
- Pinheiro, J. C., & Arroyo, J. E. C. 2020. Effective IG heuristics for a single-machine scheduling problem with family setups and resource constraints. *Annals of Mathematics and Artificial Intelligence*, 88(1-3), 169-185.
- Pranzo, M., Pacciarelli, D. 2016. An iterated greedy metaheuristic for the blocking job shop scheduling problem. *Journal of Heuristics*, 22(4), 587-611.
- Rad SF, Ruiz R, Boroojerdian N. New high performing heuristics for minimizing makespan in permutation flowshops. *OMEGA, The International Journal of Management Science* 2009; 37(2): 331–345.
- Rajendran, C., Ziegler, H. 2004. Ant-colony algorithms for permutation flowshop scheduling to minimize makespan/total flowtime of jobs. *European Journal of Operational Research*, 155(2), 426-438.

- Ribas, I., Companys, R., Tort-Martorell, X. 2019. An iterated greedy algorithm for solving the total tardiness parallel blocking flow shop scheduling problem. *Expert Systems with Applications*, 121, 347-361.
- Riahi, V., Chiong, R., Zhang, Y. 2020. A new iterated greedy algorithm for no-idle permutation flowshop scheduling with the total tardiness criterion. *Computers & Operations Research*, 117, 104839.
- Rodriguez, F. J., Lozano, M., Blum, C., & García-Martínez, C. (2013). An iterated greedy algorithm for the large-scale unrelated parallel machines scheduling problem. *Computers & Operations Research*, 40(7), 1829-1841.
- Ruiz, R., and Stutzle, T. (2007), 'A Simple and Effective Iterated Greedy Algorithm for the Permutation Flowshop Scheduling Problem', *European Journal of Operational Research*, 177, 2033–2049.
- Shaw, P.: A new local search algorithm providing high quality solutions to vehicle routing problems. Department of Computer Sciences, University of Strathclyde, Glasgow, Scotland, Technical Report, APES group (1997).
- Taillard E. Some efficient heuristic methods for the flow shop sequencing problem. *European Journal of Operational Research*, 1990; 47(1): 65–74.
- Tasgetiren, M.F., Pan, Q.K., Liang, Y.C. 2009, 'A Discrete Differential Evolution Algorithm for the Single Machine Total Weighted Tardiness Problem with Sequence Dependent Setup Times', *Computers & Operations Research*, 36, 1900–1915.
- Tasgetiren, M. F., Pan, Q. K., Suganthan, P. N., Buyukdagli, O., 2013. A variable iterated greedy algorithm with differential evolution for the no-idle permutation flowshop scheduling problem. *Computers & Operations Research*, 40(7), 1729-1743.
- Urlings, T., Ruiz, R., Stützle, T. 2010. Shifting representation search for hybrid flexible flowline problems. *European Journal of Operational Research*, 207(2), 1086-1095.
- Yuan, Z., Fügenschuh, A., Homfeld, H., Balaprakash, P., Stützle, T., Schoch, M., 2008. Iterated greedy algorithms for a real-world cyclic train scheduling problem. In *International Workshop on Hybrid Metaheuristics* (pp. 102-116). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ying, K. C., S. W. Lin, and S. Y. Wan., 2014. "Bi-objective Reentrant Hybrid Flowshop Scheduling: An Iterated Pareto Greedy Algorithm." *International Journal of Production Research* 52 (19): 5735–5747.

To Cite: Kirimli HE, 2021. Overhauser Dynamic Nuclear Polarization Parameters of a Nitroxide Radical in Liquid. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2729-2736.

Overhauser Dynamic Nuclear Polarization Parameters of a Nitroxide Radical in Liquid

Handan ENGİN KIRIMLI^{1*}

ABSTRACT: Solution state Overhauser-effect-type dynamic nuclear polarization (ODNP) has been studied in the last years. The basis of ODNP is a polarization mechanism that presents nuclei with electron spin polarization. ODNP enhancements studies are presented 4-fluorobenzyl alcohol (4FBA) with the stable nitroxide radical as the polarizing agent for 15, 30 and 60 mM concentrations at 1.53 mT. Major ODNP parameters were obtained. The significant parameter is the coupling parameter, since it determines the maximum NMR signal enhancements and the interactions between the nuclear spin and the electron spin. The coupling parameter can vary from -0.152 to 0.001. The obtained ODNP parameters show that both scalar and dipolar interactions occur. The results show that nitroxide radical can be taken as polarizing agent for ODNP studies of 4-fluorobenzyl alcohol solvent. The effect of dissolved molecular oxygen on the enhancement factor for the sample with the smallest concentration was experimentally investigated.

Keywords: Dynamic nuclear polarization, Overhauser effect, free nitroxide radical, 4-fluorobenzyl alcohol (4FBA), the polarizing agent

¹Handan ENGİN KIRIMLI ([Orcid ID: 0000-0003-0300-3381](https://orcid.org/0000-0003-0300-3381)), Bursa Uludag University, Sciences and Arts Faculty, Physics Departments, Bursa, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Handan ENGİN KIRIMLI, e-mail: hengin@uludag.edu.tr

INTRODUCTION

Dynamic nuclear polarization (DNP) has recently received great attention for its ability to increase signal densities by several times of magnitude in nuclear magnetic resonance (NMR) experiments. DNP, a technique well known in paramagnetic solutions and suspensions, depends on the interaction between polarisation agent and objective nuclei adjusted by molecular move (Yalciner, 1981; Griffin et al., 2019; Levien, 2020). This technique is becoming more and more popular as it magnifies nuclear spin polarization. The magnetic interactions between the nucleus and the free electron by the DNP technique are very strong. As a result of the diffusion and rolling of solvent with radical molecules, the nucleus and the free electron are in action relative to each other. These movements create dipolar interactions, while molecular collisions create scalar interactions. Molecular collisions are caused by direct contact between the nucleus and the unpaired electron or by the temporal overlap of localized molecular orbitals during the diffusion operation (Kirimli and Peksoz, 2011).

Overhauser DNP is DNP technique in liquids at room temperature (Overhauser, 1953; Hausser and Stehlik, 1968). It is a pair of magnetic resonance technique in which nuclear magnetic resonance is observed at the moment when the electron resonance of a paramagnetic substance is occurred. In solution-state, nuclear polarization increases by the methods of Overhauser DNP based on the effect of transfer the polarization from electronic spins to a system of nuclear spins. In our study, the nuclear spins are proton spins, which are the nuclei of the hydrogen atom in the solvent molecule. The electron spins belong to the unpaired electron delocated on the radical (Kirimli, 2017). While the first studies of the Overhauser DNP technique used paramagnetic metals, modern works included fixed free radicals such as nitroxide (Ardenkjaer-Larsen et al., 2019). Nitroxide radicals, which are paramagnetic, are a good polarization target. These free radicals predominantly have the unpaired electron in the N-O bond. However these electrons are of low energy due to the four methyl groups shielding the free electrons (Bunyatova, 2004).

Today, the ODNP technique is a very active research area and the theory and practice of the ODNP method are constantly evolving. Therefore ODNP technique may enable new applications to physics, chemistry, biology and medicine (Doll et al., 2012; Biller et al., 2018; Franck and Han, 2019; Jaudzems et al., 2019; Keller and Maly, 2021). Especially it can be used in clinical imaging (Nelson et al., 2008), hyperpolarization (Johansson et al., 2004; Ardenkjaer-Larsen et al., 2019) and particle physics (Goertz et al., 2002; Bunyatova, 2004).

The goal of this study is to examine the ODNP parameters by ODNP technique for nitroxide/4-fluorobenzyl alcohol (4FBA) samples at 1.53 mT. In this technique, intermolecular spin spin interactions occur between the nuclear spins in the diffused solvent molecules and the unpaired electron spins in free radical. Nitroxide radical as 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (TEMPO) used. The DNP experiments indicated that nitroxide as the polarizing agent with 4FBA exhibit both scalar and dipolar interactions were seen. According to these results the dominant is scalar and the rest is dipolar.

Experimental application of ODNP and its theory can be provided in literature (Potenza, 1972; Müller-Warmuth and Meise-Gresch, 1983; Guiberteau and Grucker, 1998; Franck et al., 2013; Bentum et al., 2016). Including the observed nuclear polarizations, P_z , the thermal equilibrium values, P_0 ; the Overhauser DNP enhancement factor is given by

$$E = \frac{P_z}{P_0} = 1 - \rho f s \left| \frac{\gamma_e}{\gamma_n} \right| \quad (1)$$

where, γ_e and γ_n , are the gyromagnetic ratios of the electron and nuclear spins (for ^1H ; $|\gamma_e/\gamma_n| = 658$), respectively. The leakage factor f , the saturation factor s when the Electron Spin Resonance (ESR) is at full saturation, it becomes equal to 1. The nuclear-electron coupling parameter ρ , in the white spectrum approach, is +0.5 for pure dipolar interaction and -1 for pure scalar coupling. The ρ values obtained vary between the limit values of +0.5 and -1.

When being complete the Electron Paramagnetic Resonance (EPR) saturation ($s=1$), the inverse of E factor is extrapolated for the infinite ESR power is derived as

$$\left(\frac{P_z - P_0}{P_0}\right)_{s \rightarrow 1}^{-1} = -\left(\rho f \left|\frac{\gamma_e}{\gamma_n}\right|\right)^{-1} = E_\infty^{-1} \quad (2)$$

ρ determines the nuclear-electron interaction and given as

$$\rho = -\frac{E_\infty}{658 \cdot f} \quad (3)$$

The importance on dependent scalar coupling is K parameter. Since ρ is an experimentally obtainable, the parameter K can be easily calculated.

$$K = \frac{1 - 2\rho}{1 + \rho} \quad (4)$$

MATERIALS AND METHODS

Materials

Stable nitroxide radical such as 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (TEMPO) were used. The stable free radical TEMPO and solvent were purchased from Aldrich Chemical Co. (USA). The solvent was 4-fluorobenzyl alcohol (4FBA). The main properties of 4FBA are given in Table 1 and of structural view in Figure 1 (a). The molecular structure of the selected free radical is shown in Figure 1 (b).

Table 1. NMR sensitivity of 4-fluorobenzyl alcohol and basic constants.

Solvent	Molecular Weight (g mol ⁻¹)	Melting Point (°C)	Boiling Point (°C)	Density (g cm ⁻³)	NMR Sensitivity (x10 ²² spin/cm ³)
4-fluorobenzyl alcohol (4FBA) (C ₇ H ₇ FO)	126.13	23	210	1.15	5.21

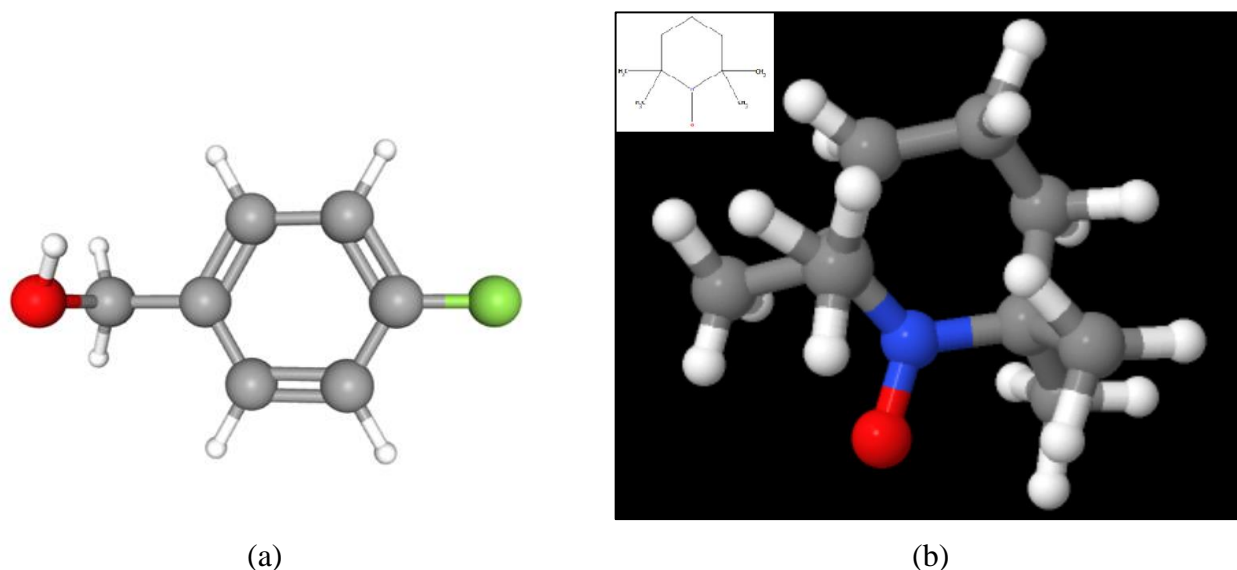


Figure 1. (a) Structural View of 4-fluorobenzyl alcohol (4FBA) and (b) Nitroxide radical TEMPO (red color “oxygen; green color “fluorine”; white color “hydrogen”; blue color “nitrogen” and grey color “carbon”)

Nitroxides radicals are soluble in water, benzene and heptane. For the majority of the ODNP studies that address the polarization of the solvent by free radicals nitroxides radicals are used (Sezer, 2013). Therefore, to investigate experimentally the effect of ODNP in liquids, we chose 4FBA as the solvent and nitroxide radical TEMPO as the DNP agent dissolved in the solvent. This radical is suitable for extensive DNP enhancements (Kryukov et al., 2010).

Experimental procedure

The solutions were prepared in three different concentrations as 15, 30 and 60 mM. For each concentrations, TEMPO radical was first weighted and dissolved in 4FBA. The sample volumes were 6.5 cm³. Then the prepared samples were placed in Pyrex tubes of 18 mm diameter.

The presence of oxygen affects the enhancement factor. Degassing treatment should be performed in order to minimize the interactions with air molecules, to saturate the EPR line easily and to ensure the long life of the sample. Degassing process was performed in Leybold-Heraeus vacuum system at 7.5×10^{-4} Pa pressure value. Since the melting temperature is 23 °C, the sample melted quite late in degaze process.

DNP measurements were done at 1.53 mT fixed magnetic field NMR spectrometer. The spectrometer is hand-made and has a resonance frequency of 61.2 kHz for protons and 43.8 MHz for electrons. The spectrometer was explained in the previous articles (Akay and Yalciner, 1995; Kirimli, 2017).

RESULTS AND DISCUSSION

DNP parameters

For each sample, E_{∞} values were determined by extrapolating from the optimal fit lines drawn by obtaining the inverse of the enhancement factors as a function of the inverse of the square of the high frequency voltage, which is proportional to the inverse of the ESR power. The E_{∞}^{-1} values correspond to the intersection points of the extrapolated optimal fit lines passing through the experimentally obtained points with the line $V_{\text{eff}}^{-2}=0$ (Figure 2).

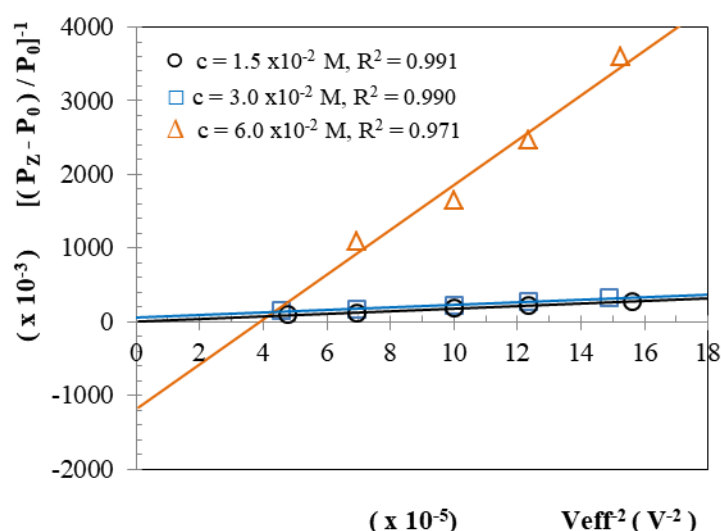


Figure 2. Obtaining E_{∞} for TEMPO/4FBA sample. The R^2 values indicate the regression of the experiment points

The leakage factor f was taken as 0.90 ± 0.05 for all the samples based on the literature values (Müller-Warmuth et al., 1970; McCarney and Han, 2008; Kirimli and Peksoz, 2011). After ρ value calculated from equation (3), K value can be found by equation (4). The DNP parameters obtained for

the TEMPO/4FBA sample, E_{∞} , E_{end} , ρ , s (E_{end}/E_{∞}), K are presented in Table 2. Dipolar coupling between electron spin and nuclear spin causes negative sign enhancements while scalar coupling causes positive sign enhancements. E_{∞} can therefore be positive or negative, depending on which process is dominant. As seen in Table 2, the E_{∞} values are negative and positive, these values vary between 90.09 and -0.84.

Table 2. Summary of ODNP parameters (E_{∞} , E_{end} , ρ , s , K) (E_{end} , the enhancement factor for maximum available the EPR power)

	c (mM)	E_{∞}	E_{end}	ρ	s	K
TEMPO/	15	90.09	9.82	-0.152	0.109	1.538
4-fluorobenzyl alcohol	30	15.01	6.68	-0.025	0.445	1.077
(4FBA)	60	-0.84	0.91	0.001	1.083	0.997

Strong dissolution takes place in solutions with nitroxide radicals in solvents containing hydroxyl. This results in DNP looking quite different (Müller-Warmuth et al., 1970). Kryukov et al. (2010) observed that the proton-spin coupling dipolar interaction dominates in solutions with nitroxide radicals in toluene. A similar study, Enkin et al. (2015) reported that measured DNP enhancements for nitroxide derivatives at 0.35 T in toluene are the negative sign. This indicates that the polarization transfer mechanism is dipolar dominant.

Samples with 15 and 30 mM concentrations from the studied samples show scalar interaction, while sample with 60 mM concentration shows dipolar interaction. This result shows that the dipolar interaction occurs with the increase of free radical concentration, i.e. the increase of S spin population. K is the relative importance of the scalar and dipolar interaction and the values of 1.538, 1.077 and 0.997 also support these results on interactions.

It was reported that DNP studies on a number of aliphatic and aromatic nitroxide radicals with hexafluorobenzene show scalar interactions. The collision of the radical oxygen to the center of the hexafluorobenzene ring in aliphatic nitroxides and the plane collision in aromatic nitroxides contribute to the scalar interaction (Glazer and Poindexter, 1971).

Müller-Warmut et al. (1970) reported that the spin density can be temporarily transferred from the radical to the molecular orbital of the solvent by hydrogen bridge. They found certain effects occurring in solutions of nitroxide radicals in solvents containing hydroxyl by the formation of hydrogen bridges between = NO radical and - OH of the solvent. Thus for investigated solutions dipolar and little scalar contact interactions between solvent protons and radical electrons have been observed. It can be seen that the DNP data obtained by working with the same solutions here support the results given by Müller-Warmut et al. (1970).

Dissolved oxygen effect on DNP signal enhancement

The solution of TEMPO radical in 4FBA solvent with 15 mM concentration was degassed at 7.5×10^{-4} Pa. In this work, the effect of degassed oxygen molecules on DNP signal enhancement was investigated. Firstly, DNP enhancements of the degassed sample were carry out. Then, the top of the Pyrex tube including the sample was cut to reach atmospheric pressure, and closed by a cork stopper. Experiments were completed with this prepared sample to determine the effect of dissolved oxygen on DNP enhancement signals over time. All these experiments were done at $V_{eff} = 100$ V EPR power. It was found that the DNP signal enhancements decrease exponentially with time as seen in Figure 3.

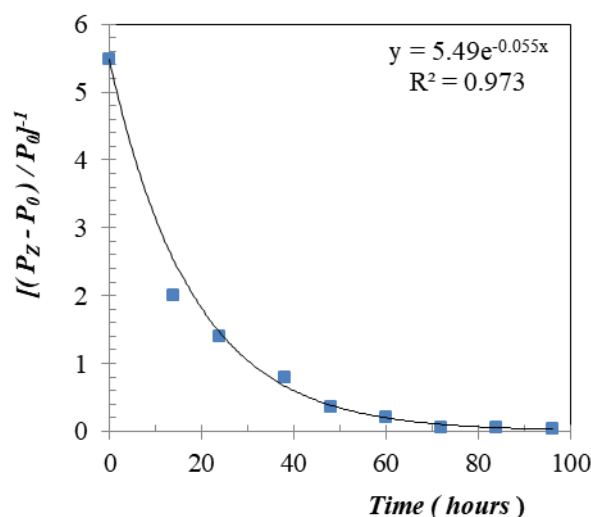


Figure 3. Time dependent change of DNP signal enhancement

EPR oximetry is a technique with the necessary features for clinical use. This technique is based on the ability of molecular oxygen to interact with paramagnetic materials such as nitroxide and influencing the EPR spectra to be proportional to the amount of oxygen (Khan et al., 2005; Ardenkjær-Larsen et al., 1998). In the presence of oxygen the line-width of the EPR lines is broadened to an extent depending on the local oxygen concentration as molecular oxygen is paramagnetic (Krzic et al., 2001). It is known that in samples with dissolved oxygen molecules, the EPR line width increases and signal enhancement decreases (Clarkson et al., 1998). Especially, DNP studies in the samples existing dissolved oxygen molecules can be useful in EPR oximetry working. In our study, the effect of dissolved molecular oxygen on the signal enhancement has been clearly demonstrated with the DNP method, which is known as a very susceptible and credible method.

CONCLUSION

The ρ value ranges from -1 to +0.5, depending on the type of interaction. That is, it varies from -1 in the pure scalar state to +0.5 in the pure dipolar state. The results of our studies and the calculated DNP parameters between the nuclear spin and the electron spin, indicate that both scalar and dipolar interactions occur for TEMPO/4FBA samples. Especially the coupling parameter ρ gives information about interactions and depends on the dynamics of the electron–nuclear spin system and supports the investigation of the effects of molecular dynamics on the DNP enhancement. This conclusion is also supported by the parameter K . Selected nitroxide radical TEMPO has the spin density settled on the NO group (Levien et al., 2020). The effect of the spin density on radical concentration and thus on DNP enhancement was observed. It is noticed that TEMPO radical is a good polarizing target for DNP experiments.

The effect of dissolved molecular oxygen on signal enhancements was determined. In general, it was observed that paramagnetic oxygen molecules greatly affect NMR signal enhancements. The experimental data obtained are in accordance with the results in the literature. Especially, the results given in this study may be useful for biological studies with nitroxide radicals in an oxygen present environment.

Finally, the results of our study may add to investigated of ODNP on 4-fluorobenzyl alcohol solvent for a nitroxide radical TEMPO and may thus provide useful information for applications of ODNP.

Conflict of Interest

The article author declares that there is no conflict of interest.

Author's Contributions

I hereby declare that the planning, execution and writing of the article was done by me as the sole author of the article.

REFERENCES

- Akay C, Yalciner A, 1995. A new weak field double resonance NMR spectrometer. *Z. Naturforsch.*, (50 a): 177-185.
- Ardenkaer-Larsen JH, Laursen I, Leunbach I, Ehnholm G, Wistrand LG, Petersson JS, Golman K, 1998. EPR and DNP Properties of Certain Novel Single Electron Contrast Agents Intended for Oximetric Imaging. *Journal of Magnetic Resonance*, 133 (1): 1-12.
- Ardenkjaer-Larsen JH, Bowen S, Petersen JR, Rybalko O, Vinding MS, Ullisch M, Nielsen NC, 2019. Cryogen-free dissolution dynamic nuclear polarization polarizer operating at 3.35 T, 6.70 T, and 10.1 T. *Magnetic Resonance in Medicine*, (81): 2184-2194.
- Bentum JV, Meerten BS, Sharma M, Kentgens A, 2016. Perspectives on DNP-enhanced NMR spectroscopy in solutions. *Journal of Magnetic Resonance*, (264): 59-67.
- Biller JR, Barnes R, Hanb S, 2018. Perspective of Overhauser Dynamic Nuclear Polarization for the Study of Soft Materials. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* (33): 72-85.
- Bunyatova EI, 2004. Free radicals and polarized targets. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* (526): 22-27.
- Clarkson RB, Odintsov BM, Ceroke PJ, Ardenkjær-Larsen JH, Fruianu M, Belford RL, 1998. Electron paramagnetic resonance and dynamic nuclear polarization of char suspensions: surface science and oximetry. *Physics in Medicine and Biology*, 43 (7): 1907-1920.
- Doll A, Bordignon E, Joseph B, Tschaggelar R, Jeschke G, 2012. Liquid state DNP for water accessibility measurements on spin-labeled membrane proteins at physiological temperatures. *Journal of Magnetic Resonance*, 222: 34-43.
- Enkin N, Liu G, Gimenez-Lopez M. del C, Porfyrakis K, Tkach I, Bennati M, 2015. A high saturation factor in Overhauser DNP with nitroxide derivatives: the role of ^{14}N nuclear spin relaxation. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17 (17): 11144-11149.
- Franck JM, Han S, 2019. Overhauser Dynamic Nuclear Polarization for the Study of Hydration Dynamics. *Methods in Enzymology*, Elsevier No: 615, pp. 131-175, Cambridge-United States.
- Franck JM, Kausik R, Han S, 2013. Overhauser dynamic nuclear polarization-enhanced NMR relaxometry. *Microporous and Mesoporous Materials*, 178: 113-118.
- Glazer RL, Poindexter E, 1971. Dynamic Nuclear Polarization by Nitroxide, Perhalocarbon, Semiquinone, and Verdazyl Radicals. *Journal of Chemical Physics*, 55: 4548-4553.
- Goertz S, Meyer W, Reicherz G, 2002. Polarized H, D and ^3He Targets for Particle Physics Experiments. *Progress in Particle and Nuclear Physics*, 49: 403-489.
- Griffin RG, Swager TM, Temkin RJ, 2019. High frequency dynamic nuclear polarization: New directions for the 21st century. *Journal of Magnetic Resonance*, 306: 128-133.
- Guiberteau T, Grucker D, 1998. Dynamic nuclear polarization at very low magnetic fields. *Physics in Medicine and Biology*, 43 (7): 1887-1892.
- Hausser KH, Stehlik D, 1968. Dynamic Nuclear Polarization in Liquids. *Advances in Magnetic and Optical Resonance*, 3: 79-139.
- Jaudzems K, Polenova T, Pintacuda G, Oschkinat H, Lesage A, 2019. DNP NMR of biomolecular assemblies. *Journal of Structural Biology*, 206: 90-98.

- Johansson E, Mansson S, Wirestam R, Petersson J, Golman K, Stahlberg F, 2004. Cerebral Perfusion Assessment by Bolus Tracking Using Hyperpolarized ^{13}C . *Magnetic Resonance in Medicine*, 51 (3): 464-472.
- Keller TJ, Maly T, 2021. Overhauser Dynamic Nuclear Polarization Enhanced Two-Dimensional Proton NMR Spectroscopy at Low Magnetic Fields. *Magnetic Resonance*, 2 (1): 117–128.
- Khan N, Hou H, Hein P, Comi RJ, Buckey JC, Grinberg O, Ildar S, Lu SY, Wallach H, Swartz HM, 2005. Black Magic and EPR Oximetry. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 566: 119–125.
- Kirimli HE, 2017. Determining the interaction and characterization of asphaltene in alkylbenzene solvents using nuclear-electron double resonance. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 38(4): 498–505.
- Kirimli HE, Peksoz A, 2011. A low field proton-electron double resonance study for paramagnetic solutions. *Molecular Physics*, 109 (3): 337-350.
- Kryukov EV, Newton ME, Pike KJ, Bolton DR, Kowalczyk RM, Howes AP, Smitha ME, Dupree R, 2010. DNP enhanced NMR using a high-power 94 GHz microwave source: a study of the TEMPOL radical in toluene. *Physical Chemistry Chemical Physics*, (12): 5757–5765.
- Krzic M, Sentjurc M, Kristl J, 2001. Improved skin oxygenation after benzyl nicotinate application in different carriers as measured by EPR oximetry in vivo. *Journal of Controlled Release*, 70: 203–211.
- Levien M, Hiller M, Tkach I, Bennati M, Orlando T, 2020. Nitroxide Derivatives for Dynamic Nuclear Polarization in Liquids: The Role of Rotational Diffusion. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 11: 1629-1635.
- McCarney ER, Han S, 2008. Spin-labeled gel for the production of radical-free dynamic nuclear polarization enhanced molecules for NMR spectroscopy and imaging. *Journal of Magnetic Resonance*, 190 (2): 307-315.
- Müller-Warmuth W, Meise-Gresch K, 1983. Molecular Motions and Interactions as Studied by Dynamic Nuclear Polarization (DNP) in Free Radical Solutions. *Advances in Magnetic and Optical Resonance*, 11: 1-45.
- Müller-Warmuth W, Öztekin E, Vilhjalmsson R, Yalciner A, 1970. Dynamic Polarization, Molecular Motion and Solvent Effects in Several Organic Solutions as Studied by Proton-Electron Double Resonance. *Z. Naturforsch*, 25 a: 1688-1695.
- Nelson SJ, Vigneron D, Kurhanewicz J, Chen A, Bok R, Hurd R, 2008. DNP-Hyperpolarized ^{13}C magnetic resonance metabolic imaging for cancer applications. *Applied Magnetic Resonance*, 34 (3-4): 533-544.
- Overhauser AW, 1953. Polarization of Nuclei in Metals. *Physical Review*, 92(2): 411–415.
- Potenza J, 1972. Measurement and applications of dynamic nuclear polarization. *Advances in Molecular Relaxation Processes*, 4 (3-4): 229-354.
- Sezer D, 2013. Computation of DNP coupling factors of a nitroxide radical in toluene: seamless combination of MD simulations and analytical calculations. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(2): 526–540.
- Yalciner A, 1981. Dynamic nuclear polarization in colloidal asphalt suspensions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 79 (1): 114-125.

Atf İçin: Topkaya R, Çiçek K, Koçyiğit A, 2021. Synthesis and Investigation of Structural and Magnetic Properties of Nickel Doped BiFeO₃, Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2737-2745.

To Cite: Topkaya R, Çiçek K, Koçyiğit A, 2021. Synthesis and Investigation of Structural and Magnetic Properties of Nickel Doped BiFeO₃, Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2737-2745.

Synthesis and Investigation of Structural and Magnetic Properties of Nickel Doped BiFeO₃

Ramazan TOPKAYA^{1*}, Kenan ÇİÇEK¹, Adem KOÇYİĞİT¹

ABSTRACT: Ni doped BiFeO₃ powders were synthesized by sol-gel method. The effect of annealing temperature and solvent type on the structural and magnetic properties of the synthesized powders has been studied by XRD, SEM, EDX, VSM and FMR techniques at the room temperature. XRD results highlighted that the Ni doped BiFeO₃ powders were successfully synthesized. The morphology changes with annealing temperature and solvent material. With EDX analysis, all the elements in Ni doped BiFeO₃ powders were confirmed. The magnetic properties of the samples were observed to strongly depend on annealing temperature and solvent material. The saturation magnetization is observed to increase with an increasing annealing temperature. The broad resonance lines indicate ferromagnetic property.

Keywords: Multiferroics, Spintronics, Ferromagnetic, Ferroelectric, BiFeO₃

¹Ramazan TOPKAYA ([Orcid ID: 0000-0002-5376-0199](https://orcid.org/0000-0002-5376-0199)), Kenan Çiçek ([Orcid ID: 0000-0001-5686-6872](https://orcid.org/0000-0001-5686-6872)), Adem Koçyiğit ([Orcid ID: 0000-0002-8502-2860](https://orcid.org/0000-0002-8502-2860)), Department of Electrical Electronics Engineering, İğdir University, 76000 İğdir, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ramazan TOPKAYA, e-mail: ramazan.topkaya@igdir.edu.tr

INTRODUCTION

The multiferroic materials having ferroelectric and ferromagnetic properties have attracted a great attention due to their applications in magnetoelectronics, nanotechnology, spintronics and optoelectronics (Hur et al. 2004; Wang et al. 2009; Dong et al. 2015; Tokura et al. 2014). A variety of promising technological applications: non-volatile memory elements having much control freedom (Ruan et al. 2016), sensors (Surowiak and Bochenek 2008), actuators and modulators (Ramesh and Spaldin 2010), diodes (Choi et al. 2009), spin wave generators (Kampfrath et al. 2011) and spintronic devices (Bibes and Barthelemy 2007) whose spins are manipulated with electric field (Fischer et al. 1980; Catalan and Scott 2009). In all these applications of multiferroic materials, it is intended to produce and develop the high-capacity and low-cost information devices.

Utilization of multiferroics has expanded greatly in the last few years, especially with the discovery of many different types of multiferroic materials. TbMnO₃ (Kimura et al. 2007), MnWO₄ (Kundys et al. 2008), BiFeO₃ (Mohanty and Choudhary 2015), BiMnO₃ (Hanif et al. 2017), and many more are studied for a variety of multiferroic applications.

Among all these materials, Bismuth ferrite (BiFeO₃) has been utilised as multiferroic material in both film/heterostructure and bulk forms due to its high critical temperature, strong magnetization and large spontaneous polarization. As a magnetoelectric material, BiFeO₃ has high critical temperatures of T_C~1103 K for ferroelectricity and T_N~643 K for antiferromagnetism which are both above room temperature (Fischer et al. 1980; Catalan and Scott 2009). Therefore, it is put in more effort to explore the new aspects of BiFeO₃ for possible applications.

In this study Nickel (Ni) element is utilized as doping element to enhance the ferroelectric and magnetic properties of BiFeO₃. For the heterostructure formation, sol gel deposition method is utilized. Structural and magnetic techniques are used for the characterization. The outcomes of the study are discussed here.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Ni doped BiFeO₃ powders were synthesized by the sol-gel method. The high purity analytical grade powders of Bi(NO₃)₃·5H₂O, Fe(NO₃)₃·9H₂O and Ni(CH₃CO₂)₂·4H₂O were used as raw materials. The materials were purchased from Sigma-Aldrich.

Experimental procedure

The above mentioned powders were dissolved in separately ethylene glycol and acetic acid (solvent) in proper stoichiometry proportions. The mixtures were stirred at constant temperature of 100°C for 1 hr to obtain a homogeneous solution. The resulting solutions were heated and stirred at constant temperature of 150°C on magnetic stirrer to evaporate the solvent. Finally, the powders were annealed at 500 and 600 °C for 30 minutes. The basic steps of synthesis are shown in Figure 1.

The structural analysis of the powders was carried out by x-ray diffraction (XRD) (Rigaku SmartLab X-ray diffractometer) technique. The particle morphology were analysed using scanning electron microscopy (SEM, JSM-6510, JEOL). The magnetization curves were obtained by using vibrating sample magnetometer (VSM) of Quantum Design (PPMS, 9 T) at room temperature (300 K). Magnetic resonance spectra were obtained using JEOL JES-FA300 x-band spectrometer.

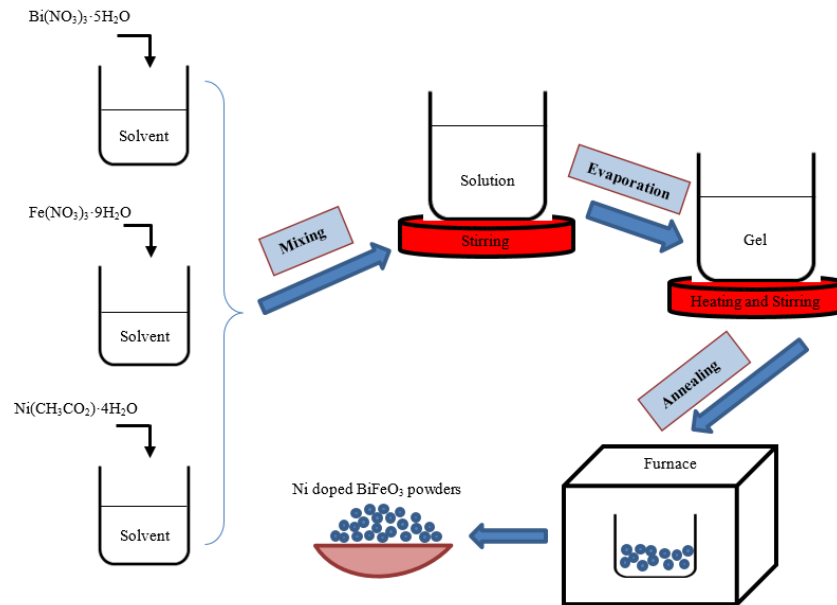


Figure 1. Schematic representation of synthesis process

RESULTS AND DISCUSSION

XRD, SEM and EDX Analysis

XRD patterns of the Ni doped BiFeO₃ powders have been shown in Fig. 2 in the ranges of the 15-65 degrees for the various annealing temperatures at 500 °C and 600 °C and both ethylene glycol and acetic acid solvents. The obtained XRD patterns are in good agreement for BiFeO₃ powders (Sheoran et al. 2019; Srinivas et al. 2016). The impurities or other phases of BiFeO₃ powders such as Bi₂Fe₄O₉, Bi₃₆Fe₂O₅₇ and Bi₂₄Fe₂O₃₉ also were detected in the XRD patterns with low intensity. However, Ni based impurity was not detected in any of the samples. While annealing temperature increases from 500 °C to 600 °C, the intensity of the peaks increases due to the increasing crystallinity (Karoblis et al. 2020). In terms of the solvents, the sharper peaks were obtained for the acetic acid solvents. While Bi₃₆Fe₂O₅₇ and Bi₂₄Fe₂O₃₉ impurity phases were obtained for acetic acid solvents, Bi₂Fe₄O₉ impurity phase was detected for the ethylene glycol solvents as well as acetic acid solvents. The solvent is another important parameter in order to change the crystalline structure of the BiFeO₃ powders (Clarke et al. 2018). The XRD results highlighted that the Ni doped BiFeO₃ powders were successfully synthesized.

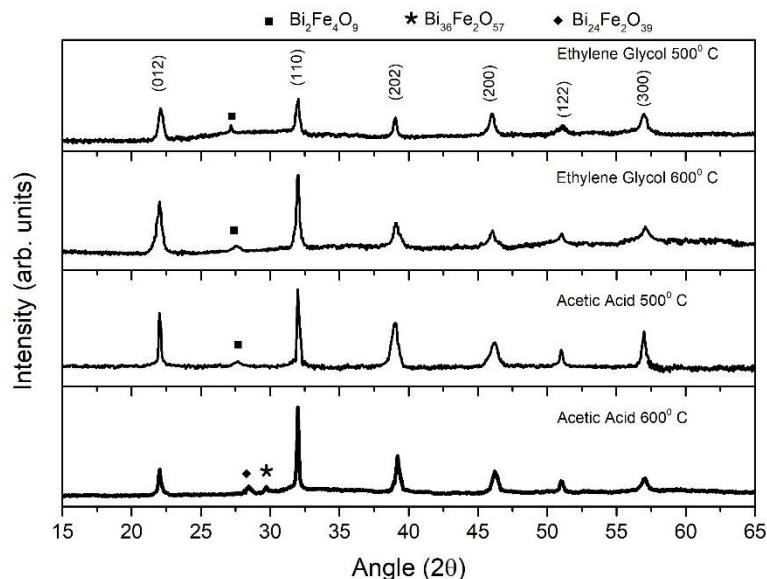
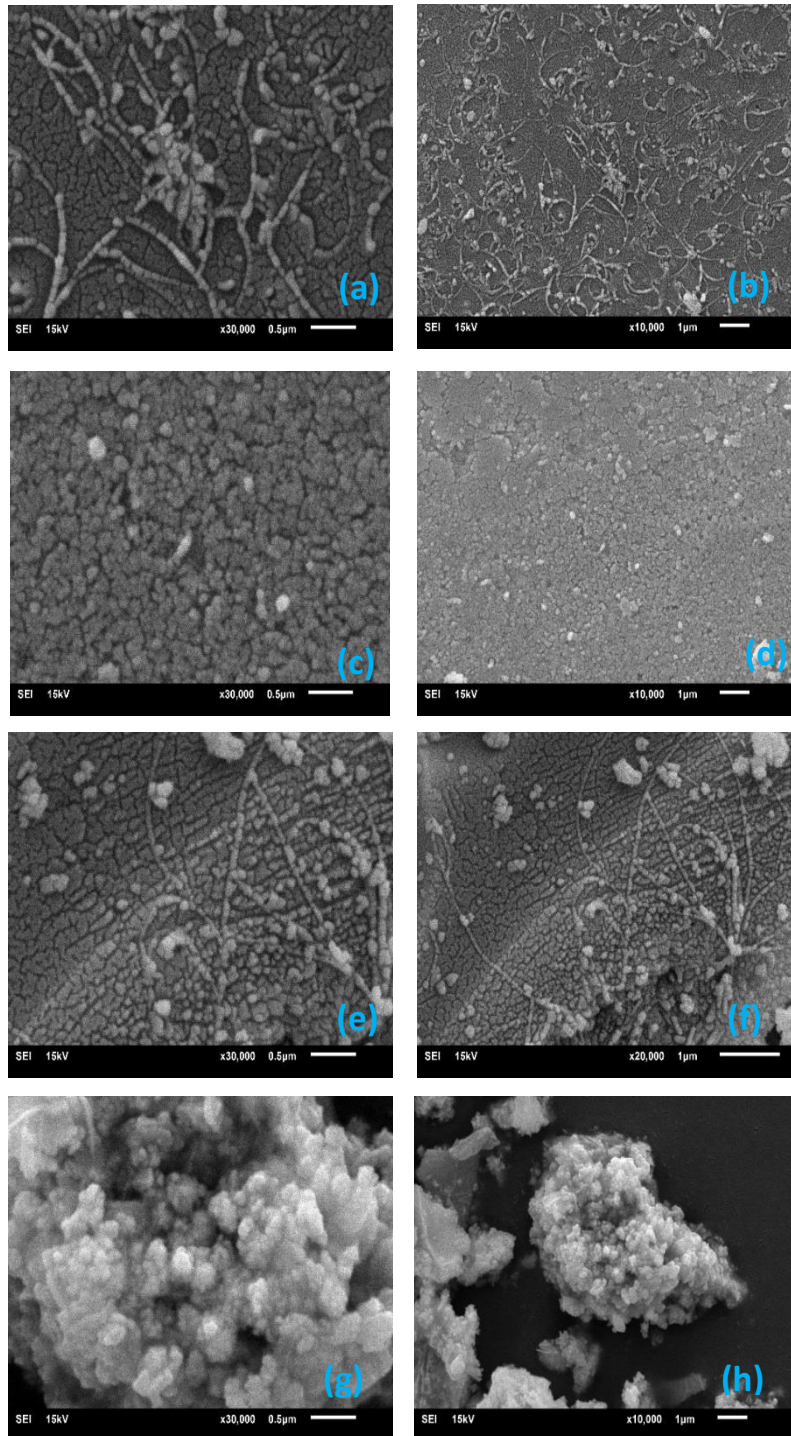


Figure 2. XRD graph of Ni doped BiFeO₃ powders**Figure 3.** SEM images of Ni doped BiFeO₃ powders: a, b) ethylene glycol (500° C), c, d) ethylene glycol (600° C), e, f) acetic acid (500° C), g, h) acetic acid (600° C)

The surface morphology of Ni doped BiFeO₃ powders was studied by scanning electron microscopy technique. SEM images of Ni doped BiFeO₃ powders synthesized in ethylene glycol and acetic acid solvents for the annealing temperature at 500 °C and 600 °C temperatures have shown in Fig. 3a-3h for various magnifications. Fig. 3a and 3b exhibit surface morphology of Ni doped BiFeO₃ powders annealed at 500 °C with the ethylene glycol solvent. There are some cracks and rod like structure on the surface. Fig. 3c and 3d shows SEM image of Ni doped BiFeO₃ powders annealed at 600 °C with the ethylene glycol solvent. Surface morphology changed from rod like and cracked

structures to cauliflower shapes after increasing annealing temperature. This type of change with increasing temperature can be attributed to the changing of the crystallinity (Hasan et al. 2016; Ryu et al. 2010). Fig. 3e, 3f and Fig. 3g, 3h illustrate the SEM images of the powders annealed at temperatures of 500 °C and 600 °C with the acetic acid solvents. SEM images of Ni doped BiFeO₃ powders annealed at 500 °C obtained by acetic acid solvent show almost good homogeneity as well as fine granule sizes with some of rod-like structures. When the annealing temperature increased to 600 °C, BiFeO₃ powders exhibited aggregated structures. This result can be attributed to increasing the grain size of Ni doped BiFeO₃ with increasing temperature (Ahmed et al. 2019).

Energy dispersive x-ray (EDX) spectroscopy was employed to determine the elemental composition of Ni doped BiFeO₃ powders. EDX analysis and EDX maps of Ni doped BiFeO₃ powders obtained in ethylene glycol and acetic acid solutions for various annealing temperatures have been shown in Fig. 4 and Fig. 5, respectively. According to EDX spectra (in Fig. 4), all the samples have enough amounts of Bi, O, Fe and Ni. Moreover, the increasing annealing temperature from 500° C to 600° C caused to increase the amounts of the O due to the annealing in the air. According to EDX map in Fig. 5, almost all the Ni doped BiFeO₃ powders have homogenous distribution of the Bi, O, Ni and Fe on the surfaces. The obtained EDX results of Ni doped BiFeO₃ powders are in good agreement with literature (Dao et al. 2016; Nadeem et al. 2018).

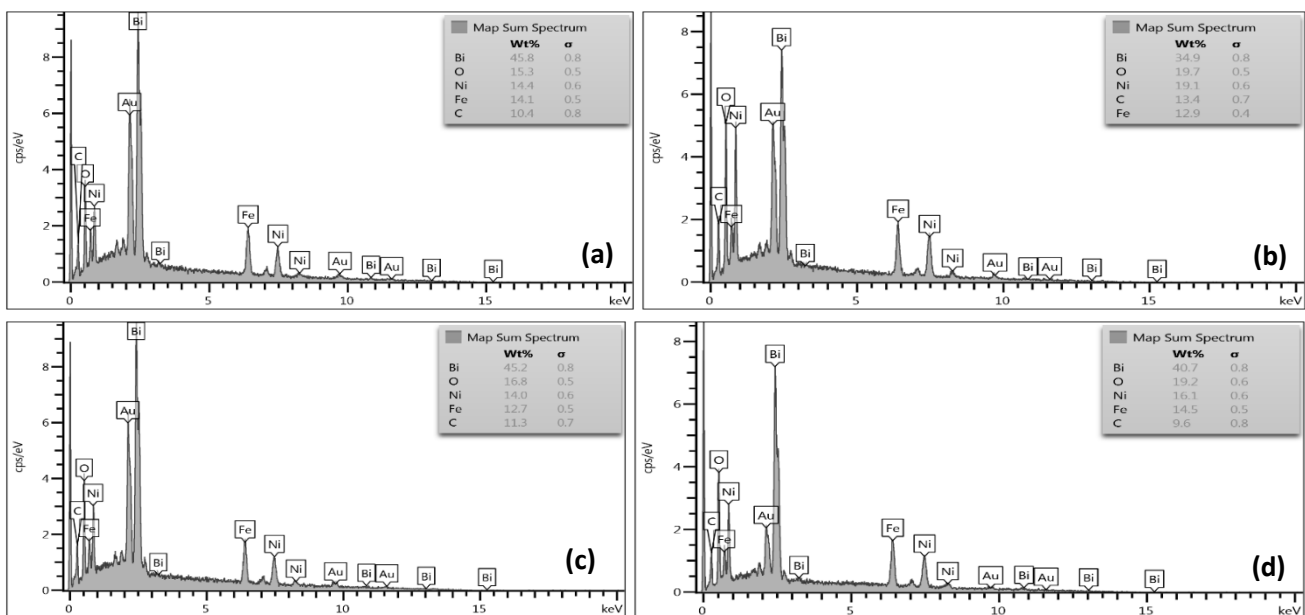


Figure 4. EDX spectra of Ni doped BiFeO₃ powders: a) ethylene glycol (500° C), b) ethylene glycol (600° C), c) acetic acid (500° C), d) acetic acid (600° C)

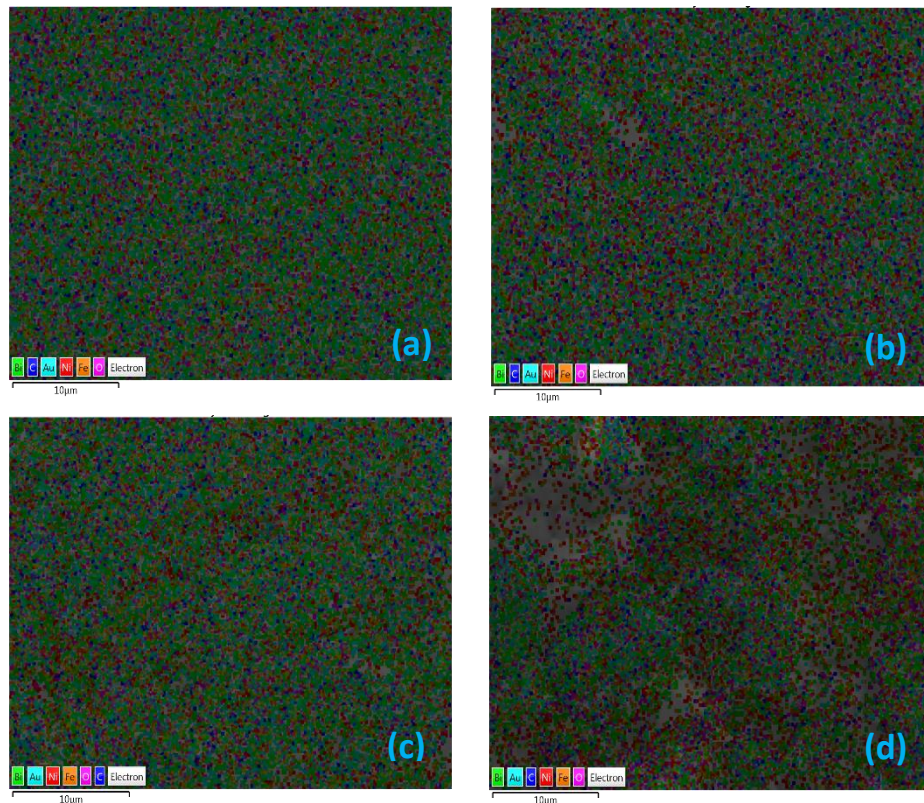


Figure 5. EDX maps of Ni doped BiFeO₃ powders: a) ethylene glycol (500° C), b) ethylene glycol (600° C), c) acetic acid (500° C), d) acetic acid (600° C)

Magnetic Properties

Figure 6 indicates the ferromagnetic resonance spectra of Ni doped BiFeO₃ powders. FMR spectra are generally described by a single, broad and asymmetric resonance line (Topkaya 2017). These magnetic curves recorded in this study indicate that the samples have ferromagnetic behaviour. These broad curves originate from the anisotropy axes of the powders randomly oriented (Sukhov et al. 2008). As can be seen from the figure, the resonance field decreases with annealing temperature and using ethylene glycol. The internal magnetic field arising from the demagnetization field and dipole-dipole interaction between neighbouring magnetic powders changes the resonance field of the magnetic spectrum (Topkaya et al. 2013).

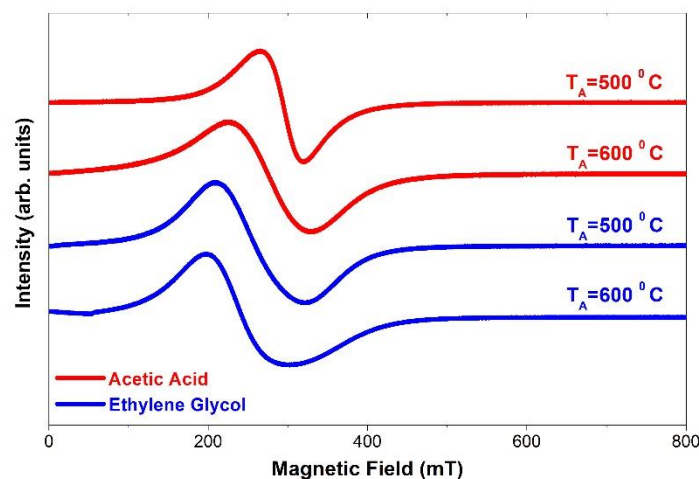


Figure 6. FMR spectra of Ni doped BiFeO₃ powders

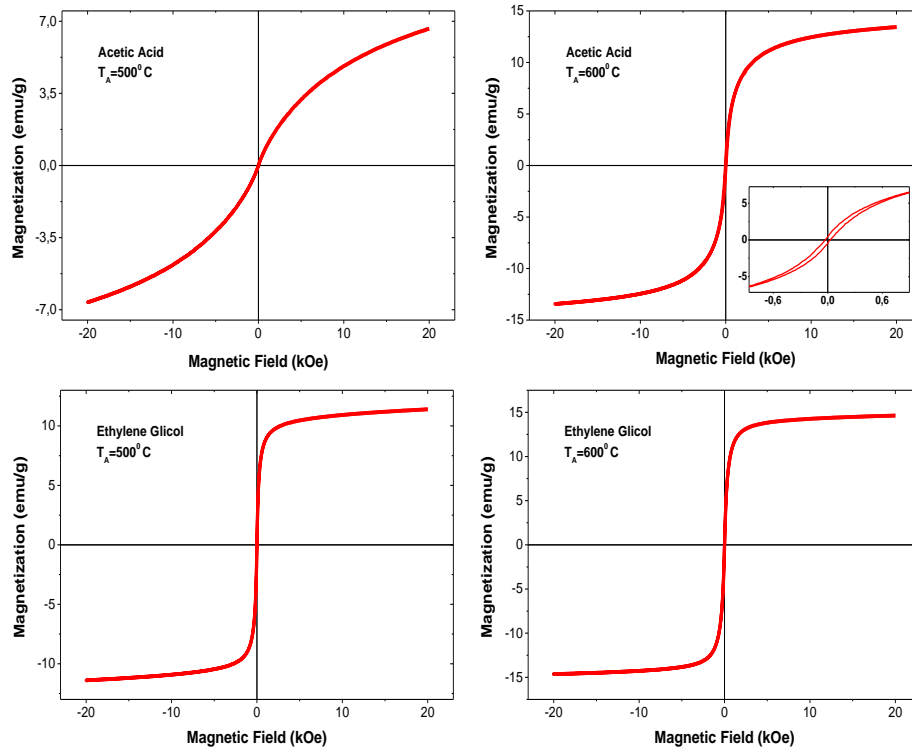


Figure 7. Magnetic hysteresis curves of Ni doped BiFeO₃ powders.

The magnetization curves for Ni doped BiFeO₃ samples are shown in Fig. 7. The magnetization graphs of all the samples were gotten at room temperatures (300 K) up to a magnetic field strength of 20 kOe. As shown from the figure, Ni doped BiFeO₃ samples have ferromagnetic behaviour. With increasing of the annealing temperature from 500 to 600 ° C, the saturation magnetization (M_s) values of the samples increase. The recorded magnetization values of the samples solved in ethylene glycol are larger than that of the samples solved in acetic acid. In this studies, the obtained M_s values of the samples are larger than the values recorded in the previous studies about BiFeO₃ (Layek et al. 2013; Goswami et al. 2014; Du et al. 2010; Hasan et al. 2016)

CONCLUSION

Sol gel method were used to prepare Ni doped BiFeO₃ powders. Annealing and solvent material strongly affect the magnetic properties of the samples. XRD results indicate the formation of BiFeO₃ phase. The morphology was analysed by scanning electron microscopy. The large saturation magnetization values were obtained for all the samples. It has been observed that the annealing increases the saturation magnetization values. FMR measurements indicate that the samples have the ferromagnetic character. The obtained Ni doped BiFeO₃ powders can be a good candidate for the applications in spintronics.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Iğdır University Department of Scientific Research Projects (BAP) under project number 2017-FBE-A24.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Ahmed NM, Sabah FA, Abdulgafour HI, Alsadig A, Sulieman A, Alkhoaryef M, 2019. The effect of post annealing temperature on grain size of indium-tin-oxide for optical and electrical properties improvement. *Results in Physics*, 13: 102159.
- Bibes M, Barthelemy A, 2007. Oxide spintronics, *IEEE transactions on electron devices*, 54: 1003-23.
- Catalan G, Scott JF, 2009. Physics and applications of bismuth ferrite. *Advanced Materials*, 21: 2463-85.
- Choi T, Lee S, Choi YJ, Kiryukhin V, Cheong SW, 2009. Switchable ferroelectric diode and photovoltaic effect in BiFeO₃. *Science*, 324: 63-66.
- Clarke G, Rogov A, McCarthy S, Bonacina L, Gunko Y, Galez C, Le Dantec R, Volkov Y, Mugnier Y, Prina-Mello A, 2018. Preparation from a revisited wet chemical route of phase-pure, monocrystalline and SHG-efficient BiFeO₃ nanoparticles for harmonic bio-imaging. *Scientific Reports*, 8: 1-10.
- Dao NN, Dai LM, Pham NC, Doan TD, Nguyen THC, Nguyen QB, Duong TL, 2016. Low-temperature synthesis and investigations on photocatalytic activity of nanoparticles BiFeO₃ for methylene blue and methylene orange degradation and some toxic organic compounds. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 7: 045003.
- Dong S, Liu JM, Cheong SW, Ren Z, 2015. Multiferroic materials and magnetoelectric physics: symmetry, entanglement, excitation, and topology. *Advances in Physics*, 64: 519-626.
- Du Yi, Cheng ZX, Dou SX, Shahbazi M, Wang XL, 2010. Enhancement of magnetization and dielectric properties of chromium-doped BiFeO₃ with tunable morphologies. *Thin Solid Films*, 518: e5-e8.
- Fischer P, Polomska M, Sosnowska I, Szymanski M, 1980. Temperature dependence of the crystal and magnetic structures of BiFeO₃. *Journal of Physics C: Solid State Physics*, 13: 1931.
- Goswami S, Bhattacharya D, Keeney L, Maity T, Kaushik SD, Siruguri V, Das Gopes C, Yang H, Li W, Gu CZhi, Pemble ME, Roy S, 2014. Large magnetoelectric coupling in nanoscale BiFeO₃ from direct electrical measurements. *Physical Review B*, 90: 104402.
- Hanif S, Hassan M, Riaz S, Atiq S, Hussain SS, Naseem S, Murtaza G, 2017. Structural, magnetic, dielectric and bonding properties of BiMnO₃ grown by co-precipitation technique. *Results in Physics*, 7: 3190-95.
- Hasan M, Basith MA, Zubair MA, Hossain MS, Mahbub R, Hakim MA, Islam MF, 2016. Saturation magnetization and band gap tuning in BiFeO₃ nanoparticles via co-substitution of Gd and Mn. *Journal of Alloys and Compounds*, 687: 701-06.
- Hur N, Park S, Sharma PA, Ahn JS, Guha S, Cheong SW, 2004. Electric polarization reversal and memory in a multiferroic material induced by magnetic fields. *Nature*, 429: 392-95.
- Kampfrath T, Sell A, Klatt G, Pashkin A, Mährlein S, Dekorsy T, Wolf M, Fiebig M, Leitenstorfer A, Huber R, 2011. Coherent terahertz control of antiferromagnetic spin waves. *Nature Photonics*, 5: 31-34.
- Karoblis D, Griesiute D, Mazeika K, Baltrunas D, Karpinsky DV, Lukowiak A, Gluchowski P, Raudonis R, Katelnikovas A, Zarkov A, 2020. A Facile Synthesis and Characterization of Highly Crystalline Submicro-Sized BiFeO₃. *Materials*, 13: 3035.
- Kimura T, Otani Y, Sato T, Takahashi S, Maekawa S, 2007. Room-Temperature Reversible Spin Hall Effect. *Physical Review Letters*, 98: 156601.
- Kundys B, Simon C, Martin C, 2008. Effect of magnetic field and temperature on the ferroelectric loop in MnWO₄. *Physical Review B*, 77: 172402.

- Layek S, Saha S, Verma HC, 2013. Preparation, structural and magnetic studies on BiFe_{1-x}Cr_xO₃ (x = 0.0, 0.05 and 0.1) multiferroic nanoparticles. *AIP Advances*, 3: 032140.
- Mohanty S, Choudhary RNP, 2015. Dielectric and Electrical Properties of BiFeO₃-LiTaO₃ Systems. *Journal of Electronic Materials*, 44: 2359-68.
- Nadeem M, Khan W, Khan S, Shoeb M, Husain S, Mobin M, 2018. Significant enhancement in photocatalytic performance of Ni doped BiFeO₃ nanoparticles. *Materials Research Express*, 5: 065506.
- Ramesh R, Spaldin NA, 2010. Multiferroics: progress and prospects in thin films. *Nanoscience And Technology: A Collection of Reviews from Nature Journals*: 20-28.
- Ruan J, Li C, Yuan Z, Wang P, Li A, Wu D, 2016. Four-state non-volatile memory in a multiferroic spin filter tunnel junction. *Applied Physics Letters*, 109: 252903.
- Ryu Ju, Baek CW, Park DS, Jeong DY, 2010. Multiferroic BiFeO₃ thick film fabrication by aerosol deposition. *Metals and Materials International*, 16: 639-42.
- Sheoran N, Kumar V, Kumar A, 2019. Comparative study of structural, magnetic and dielectric properties of CoFe₂O₄ @ BiFeO₃ and BiFeO₃ @ CoFe₂O₄ core-shell nanocomposites. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 475: 30-37.
- Srinivas V, Raghavender AT, Kumar KV, 2016. Structural and Magnetic Properties of Mn Doped BiFeO₃ Nanomaterials. *Physics Research International*, 2016: 4835328.
- Sukhov A., Usadel K. D., Nowak U., 2008. Ferromagnetic resonance in an ensemble of nanoparticles with randomly distributed anisotropy axes. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 320: 31-35.
- Surowiak Z, Bochenek D, 2008. Multiferroic materials for sensors, transducers and memory devices.
- Tokura Y, Seki S, Nagaosa N, 2014. Multiferroics of spin origin. *Reports on Progress in Physics*, 77: 076501.
- Topkaya R, 2017. Effect of composition and temperature on the magnetic properties of BaBi_xLa_xFe_(12-2x)O₁₉ (0.0 ≤ x ≤ 0.2) hexaferrites. *Applied Physics A*, 123: 488.
- Topkaya R, Baykal A, Demir A, 2013. Yafet-Kittel-type magnetic order in Zn-substituted cobalt ferrite nanoparticles with uniaxial anisotropy. *Journal of nanoparticle research*, 15: 1-18.
- Wang KF, Liu J-M, Ren ZF, 2009. Multiferroicity: the coupling between magnetic and polarization orders. *Advances in Physics*, 58: 321-448.

Atf İçin: KILIÇ A, 2021. 1-100 MeV Enerjili Proton-Silikon Etkileşmeleri ile Geritepen Üretimini GEANT4 Benzetişimi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2746-2757.

To Cite: KILIÇ A, 2021. GEANT4 Simulation of Recoils Production with Proton-Silicon Interactions with 1- 100 MeV Energy. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2746-2757.

1-100 MeV Enerjili Proton-Silikon Etkileşmeleri ile Geritepen Üretimini GEANT4 Benzetişimi

Adnan KILIÇ^{1*}

ÖZET: Bir silikon malzeme üzerine gelen radyasyon akısı (proton, nötron, gamma, elektron, ion vb.) noktasal veya küme şeklinde bir örgü hasarına sebep olabilmektedir. Bu hasarın miktarı ve biçimi, gelen radyasyonun türüne ve enerjisine bağlı olarak değişir. Protonun, silikon atomlarıyla nükleer esnek saçılması sonucu üretilen birincil çarpışma atomlarının (primary knock on atom, PKA) ve nükleer esnek olmayan etkileşmeleriyle açığa çıkan nükleer geritepen atomların eksiksiz olarak tanımlanması, silikondaki radyasyon hasarının nicel olarak belirlenmesi açısından büyük öneme taşır. Bu çalışmada, silikon üzerine gönderilen 1-100 MeV enerji aralığındaki protonların, nükleer etkileşme tesir kesitleri, nükleer geritepen atomlar ve PKA'lar GEANT4 benzetişim yöntemiyle analiz edilmiş ve sonuçların literatürle karşılaştırmaları yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Geant4, silikon, geritepen atom, pka

GEANT4 Simulation of Recoils Production with Proton-Silicon Interactions with 1- 100 MeV Energy

ABSTRACT: Radiation flux (proton, neutron, gamma, electron, ion, etc.) on a silicon material can cause mesh damage in the form of a point or cluster. The amount and shape of this damage varies depending on the type and energy of the incoming radiation. The complete description of primary knock-on atoms (PKA's) produced by the nuclear elastic scattering of the proton with silicon atoms and nuclear recoil atoms generated by their nuclear inelastic interactions is of great importance for quantitative determination of radiation damage in silicon. In this study, nuclear interactions cross sections of protons in the energy range of 1-100 MeV sent on silicon, nuclear recoil atoms and PKA's were analyzed by using GEANT4 simulation method and the results were compared with the literature.

Keywords: Geant4, silicon, recoil atom, pka

¹Adnan KILIÇ ([Orcid ID: 0000-0003-0983-7504](https://orcid.org/0000-0003-0983-7504)), Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Bursa, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Adnan KILIÇ, e-mail: adnank@uludag.edu.tr

GİRİŞ

Silikon aygıtlar, yüksek enerji fiziği deneyleri, nükleer reaktörler ve uzay gibi şiddetli bir radyasyon çevresinde kullanılabilirler. Bu ise silikonda önemli düzeyde örgü hasarına sebep olabilir. Radyasyon hasarı genellikle protonlar, nötronlar, pionlar ve ağır iyonlar tarafından oluşturulur. Radyasyon kusurlarının bazıları elektriksel olarak aktiftirler (Ruzin ve ark., 1999). Bu aktif kusurlar silikonun bant aralığında enerji düzeylerine sahiptirler, sonuçta güç tüketimi ve gürültüye sebep olan kaçak akımın artması, tüketim bölgesindeki elektrik alanın bozulmasına neden olan boşluk yükü etkisinin meydana gelmesi, kusur enerji düzeylerinin yük taşıyıcılarını yakalaması (tuzaklama etkisi) sebebiyle algılardan alınan sinyaldeki azalma gibi aygıtların performansını etkileyen çeşitli istenmeyen sonuçlara neden olurlar (Moll, 2018). İyonlaştırıcı olmayan enerji kaybı (Nonionizing Energy Loss, NIEL), bir parçacığın malzeme içerisinde yol alırken, atomik yerdeğiştirmeler oluşturarak kaybettiği enerji miktarını veren bir büyüklüktür. NIEL, yarıiletken ve optik cihazlardaki parçacık nedenli yerdeğiştirme hasar etkilerinin anlaşılmasında çok kullanışlı bir kavram olmuştur. Bir radyasyon alanında bulunan yarıiletken aygıtlardaki veya optik sensörlerdeki bozulmaların, yerdeğiştirme hasar enerjisiyle ve sonuçta yarıiletkende depolanan NIEL ile doğrusal olarak ilişkilendirilebileceği fikrini destekleyen çok sayıda çalışma vardır (Jun ve ark., 2003). NIEL büyüklüğü, gelen radyasyonun malzeme ile etkileşmesi sonucu üretilen PKA türlerine ve bunların kinetik enerjilerine bağlıdır. Bu nedenle gelen radyasyonun türüne ve enerjisine bağlı olarak, yarıiletken içerisinde nükleer esnek olmayan süreçlerle üretilecek nükleer geritepen türler, bunların iyonlaştırıcı olmayan süreçlerle oluşturacağı PKA'lar ile gelen parçacığın nükleer esnek etkileşmelerle doğrudan ürettiği PKA türleri, miktarları ve enerjileri, NIEL'in hesaplanmasında kullanılan fiziksel büyüklükler oldukları için, bunların doğru belirlenmesi son derece önemlidir. Farklı türde parçacıklar ışınlanarak, silikon aygıtların radyasyon dayanıklılığını araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır (Ruzin ve ark., 1999). Nötronlar ve elektronlar çalışmalarda çok daha yaygın olarak kullanılan ışınlama parçacıkları olmalarına rağmen, protonların hasar oluşturma hızları nötron ve elektronlara kıyasla çok daha fazla olduğundan, literatürde farklı enerji aralıklarında, ışınlama parçacığı olarak protonların kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur (Messenger ve ark., 2004; Dodd, 2005; Virmontois ve Girard, 2010; Ivantchenko ve ark., 2012; Rong-Hua ve ark., 2015; Gao ve ark., 2017; Luneville ve ark., 2017; Caron ve ark., 2019). Bu çalışmada, 1-100 MeV enerji aralığındaki protonların silikonda nükleer esnek olmayan etkileşmeler ile oluşturacağı nükleer geritepen atomların ve nükleer esnek süreçleri ile açığa çıkacak olan PKA'ların tür, miktar ve enerjilerinin GEANT4 benzetim yoluyla bir tahmini yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Radyasyon Hasarı

Silikonda yerdeğiştirme hasarı, bir Si atomunun bulunduğu konumdan örgü içerisindeki bir ara konuma yerdeğiştirmesi sonucu oluşur. Si atomu ayrıldığı konumda bir boşluk bırakır. Bu boşluk ile ara konuma yerleşen Si atomu bir Frenkel çifti meydana getirir (Li, 2008). Geritepen enerjisine sahip ilk oluşan örgü atomu "birincil çarpan atom" (primary knock on atom, PKA) olarak adlandırılır (Nordlund ve ark., 2018). Örgü atomunun yerdeğiştirmesi için sahip olması gereken en küçük enerjiye, yerdeğiştirmeye eşik enerjisi E_d adı verilir. Gelen parçacık tarafından doğrudan veya birbirini izleyen nükleer etkileşmeler vasıtasıyla açığa çıkan tüm ikinciller (nükleer geritepenler, diğer ikincil parçacıklar) tarafından hedef PKA'lar üretilebilmektedir (Iwamoto ve ark., 2018).

Protonlarla ışınlanan silikon aygıtlarda veya diğer elektronik cihazlarda, protonun enerjisine bağlı olarak Coulomb, nükleer esnek veya esnek olmayan etkileşmeler vasıtasıyla yerdeğiştirme hasarı

oluşur (Jun ve ark., 2003). Yaklaşık 10 MeV altı proton enerjilerinde, PKA'ların üretilmesinde Coulomb etkileşmeleri etkili olur. Gerçekte, iç tabakalardaki elektronlar, boşluk yükü etkisi (space charge) yaparak çekirdek yükünü elektrostatik olarak perdelerler, bu nedenle Coulomb potansiyeli azalır. Bu durum Ziegler, Biersack, Littmark (ZBL) perdeli Coulomb potansiyeli vasıtasıyla hesaplamaya katılır. 10 MeV'den daha yüksek proton enerjilerinde, nükleer saçılmalar ihmal edilemez hale gelir. 10 MeV'den daha yüksek enerjili protonlar silikonla tamamen iki mekanizmayla etkileşirler: **Nükleer esnek saçılma**; 50 MeV'in altındaki enerjilerde baskın olur. Proton, hedef atomun elektron bulutu içerisinde yayılır, bu sırada perdelenmemiş Coulomb itmesi vasıtasıyla proton çekirdekle etkileşir ve silikon çekirdeğine bir enerji aktarır, aldığı enerji ile örgü atomu yerinden ayrılır ve PKA oluşur. PKA'nın enerjisi yerdeğiştirme eşik enerjisinden (silikon için genellikle $E_d = 21$ eV alınır (Akkerman ve ark., 2001)) büyük olursa, PKA durgun hale gelmeden önce örgü içerisinde ardışık olarak diğer örgü atomların yerdeğiştirmelerine neden olur. Bu yerdeğiştiren örgü atomlarına SKA (secondary knock-on atom) adı verilir. **Nükleer esnek olmayan saçılma**; yaklaşık 10 MeV'in üzerinde sıklıkla görülmeye başlanan bir kusur üretim mekanizmasıdır (Donegani, 2017). Bu süreçlerle oluşan nükleer geritepenler enerjilerine bağlı olarak silikonda PKA üretimine katkı yaparlar. PKA'lar malzeme içerisinde hasar sürecini başlatır ve geniş bir hasarlı bölge veya kusur kümeleri meydana getirirler (Li, 2008). Yerdeğiştirme sağanakları, PKA'ların türü (kütlesi, yükü) ve enerji dağılımıyla yönetildiğinden, gelen radyasyon tarafından üretilen nükleer veya hedef geritepen tür ve enerjilerinin belirlenmesi önemli bir unsur olmaktadır (Rayaprolu ve ark.,2016). Gelen radyasyon veya PKA'ların yol açacağı hasarın doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi, benzetişimde her bir fiziksel etkileşme türünün eksiksiz olarak hesaba katılmasını gerektirir (Jun ve ark., 2003).

Benzetişimde Kullanılan Araçlar

Geant4: Bu çalışmada, silikon üzerine gelen protonların takibini yapmak için GEANT4 (Geometry and Tracking) Monte Carlo aracının 10.0 sürümü kullanılmıştır. GEANT4 çok farklı parçacık türlerinin çeşitli ortamlarda taşınımını mikroskobik ölçekte yapabilen C++ dilinde yazılmış nesne yönelimli bir benzetişim aracıdır. Başlangıçta yüksek enerji fiziği uygulamaları için CERN (the European Organization for Nuclear Research) tarafından geliştirilmiş, günümüzde çok sayıda farklı alanda uygulama alanına sahip olmuştur (Agostinelli ve ark.,2003). GEANT4'te, benzetişimin çalışabilmesi için kesinlikle olması gereken, kullanıcı tarafından hazırlanması zorunlu üç tane C++ sınıfı vardır: DetectorConstruction, PhysicsList ve PrimaryGeneratorAction. DetectorConstruction'da, algıçın geometrik tanımı (boyutları, şekli, malzemesi), element ve malzeme tanımlamaları, algıçın belirli kısımlarının hassas yapılması ve manyetik alan tanımlama işlemleri yapılır. PhysicsList'de, gelen parçacık ile algıç malzemesinin etkileşmesi sonrası açığa çıkması olası diğer ikincil parçacıkların fiziksel etkileşme modelleri ve fizik süreçleri tanımlanır. PrimaryGeneratorAction sınıfında ise, algıç içerisine gönderilecek birincil parçacıkların enerjisi, harekete başlayacakları koordinat bilgisi, gelen parçacık demet şekli (noktasal, düzlemsel, eliptik vb.) ve hareket doğrultuları bilgisi yer alır. Hazırlanmaları zorunlu olmayan, gereksinimin halinde kullanıcı tarafından oluşturulan diğer opsiyonel kullanıcı sınıfları, RunAction, EventAction, TrackingAction ve SteppingAction şeklindedir (Agostinelli ve ark.,2003).

Root: GEANT4 verilerini analiz etmek için CERN'de oluşturulan, bir açık-kaynak veri işleme sistemidir. GEANT4'ün çalıştırıldığı sırada üretilen veriler, ROOT dosyalarına C++ nesnelere aracılığıyla aktarılır. Daha sonra GEANT4 verileri, kullanıcı tarafından hazırlanan bir C++ komut satırları dizisi olan makro dosyaları ile histogramlar veya grafikler şekline dönüştürülür. GEANT4'te

verilerin boyutları çok büyük olabilmektedir. Bu anlamda ROOT, büyük hacimli verilere hızlı erişim açısından son derece kullanışlı bir araçtır (Brun, 1996).

Benzetişim Detayları

Geometri: Benzetişimde, algıç geometrisi olarak 10 m x 10 m x 10 m boyutlarında $d = 2.33 \text{ g cm}^{-3}$ yoğunluklu doğal silikon malzemeden yapılmış bir küp oluşturulmuştur. Bu küpün bir yüzey alanının 0.8'lik kısmına rastgele konumlardan başlatılan 1-100 MeV enerjili protonlar gönderilmiştir. Genellikle silikon algıç kalınlıkları uygulama alanına göre farklılık gösterebilmektedir. Örneğin, CERN'deki Büyük Hadron Çarpıştırıcısında (Large Hadron Collider , LHC) yer alan ATLAS, CMS, ALICE, LHCb vb. deneylerde iç iz takip edici silikon algıç kalınlıkları tipik olarak 100 μm ile 500 μm arasında değişebilmektedir (Bortoletto, 2015). Bu çalışmada, elektromanyetik süreçler dikkate alınmamış, yalnızca nükleer esnek ve esnek olmayan süreçler benzetişime dahil edildiğinden, tüm süreçlerin var olduğu duruma göre, protonlar enerjilerine bağlı olarak ilk etkileşme öncesinde silikon içerisinde çok daha uzun yol alabilmektedirler. μm mertebesindeki silikon kalınlıkları gelen parçacık ile silikon algıç arasındaki etkileşme olasılığının azalmasına neden olur. Silikon boyutunun büyük alınmasıyla, söz konusu enerjideki protonların ilk nükleer etkileşmelerini silikon içerisinde yapabileme olasılıkları artmış, böylece μm kalınlık düzeyinde çok yüksek parçacık akılarında açığa çıkması olası ikincil ürünlerin, programda 10 m silikon kalınlığı ile daha düşük proton akılarında elde edilmesi mümkün hale gelmiştir.

Fizik: GEANT4'te fizik listesi, belirli bir benzetişim uygulaması için gerekli olan parçacık türlerini, fizik modellerini ve tesir kesitlerini bir araya getiren ve düzenleyen bir C++ sınıfıdır. GEANT4'te bir reaksiyonun son durumu fizik modelleri ile hesaplanır. Fizik listeleri, parçacıkların madde ile nasıl etkileşeceğinin tarifini oluşturmak için fizik modelleri ile tesir kesitlerini bir araya getirir. Fizik listeleri "süreç (process)" işlevini görüp, fizik süreçleri, benzetişime fizik listeleri aracılığıyla dahil edilir. Kullanılacak fizik listeleri, gelen parçacık türüne ve parçacık enerjisine bağlı olarak tamamen kullanıcı tarafından seçilir. Burada, çalışılan proton enerji aralığına en uygun olan fizik listeleri seçilmiş ve benzetişime dahil edilmiştir. Çizelge 1'de 1-100 MeV enerjili protonların silikonla etkileşmeleri için kullanılan, fizik listeleri, fizik modelleri ve tesir kesiti takımlarının isimleri verilmektedir.

Çizelge 1. GEANT4 benzetişimde kullanılan fizik listeleri

Hadronik Esnek Saçılma	
Fizik Listesi : G4HadronElasticPhysics	
Fizik Modeli : G4ChipsElasticModel	Tüm enerjilerdeki gelen protonlar, nötronlar, pionlar, kaonlar ve anti-protonlar
Tesir Kesiti : G4BGGNucleonElasticXS	Barashenkov parametrizasyonu < 91 GeV Glauber-Gribov parametrizasyonu >91 GeV
Hadronik Esnek Olmayan Saçılma	
Fizik Listesi : G4HadronInelasticQBBC	
Fizik Modeli : G4BinaryCascade + G4PreCompoundModel (Buharlaştırma (Evaporation), Filyon, Fermi parçalanması)	PreCompound model : 0 - 170 MeV protonlar ve nötronlar için geçerli, Binary Cascade Model: 0-10 GeV protonlar ve nötronlar, 0-1.3 GeV π^+ , π^- için geçerli
Tesir Kesiti: G4BGGNucleonInelasticXS	Barashenkov parametrizasyonu < 91 GeV, Glauber-Gribov parametrizasyonu >91 GeV

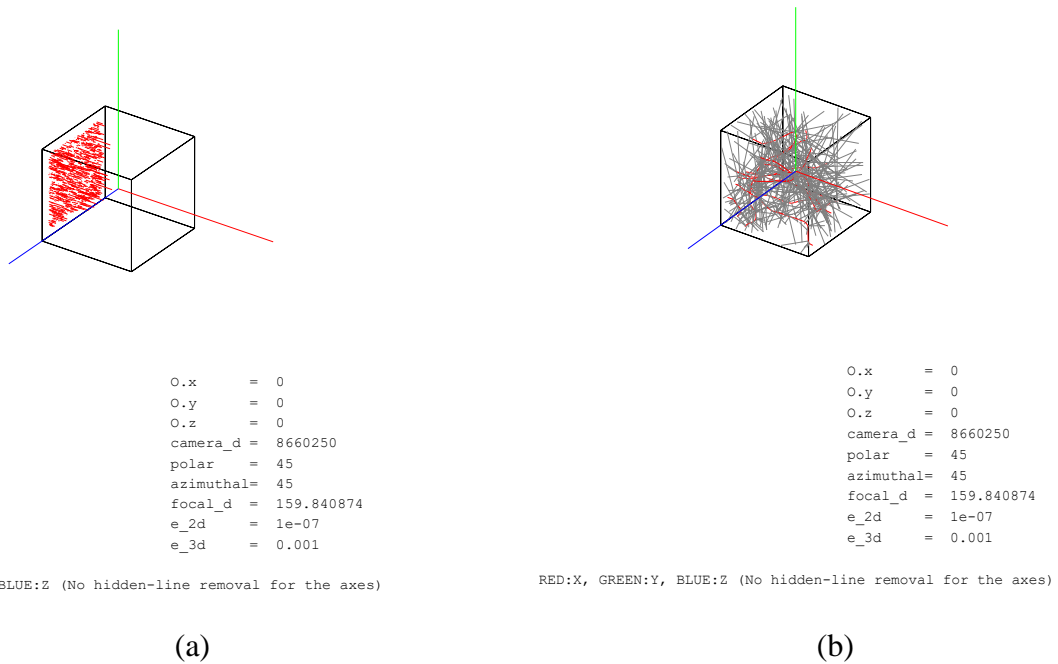
Hadron-çekirdek esnek saçılma modellemesi: GEANT4'te, hadronların çekirdeklerden esnek saçılması için dört model vardır: GHESISHA ve CHIPS'e (the chiral invariant phase space) dayanan

parametrelendirilmiş modeller, Glauber yaklaşımı ve dağınık kırınım (diffuse diffraction). Bu çalışmada, hadron-çekirdek esnek saçılması için G4HadronElasticPhysics fizik listesinde, CHIPS'e dayanan G4ChipsElasticModel fizik sınıfı kullanılmıştır. CHIPS modeli, tüm enerjilerdeki gelen protonlar, nötronlar, pionlar, kaonlar ve anti-protonlar için geçerlidir (Allison ve ark., 2016).

Hadron-çekirdek esnek olmayan saçılma modellemesi: İkili sağanak modeli (Binary Cascade model), gelen parçacık ile çekirdek içerisindeki nükleonların yayılımının zamandan bağımsız benzetişimini yapan bir "içsel çekirdek sağanak (intra nuclear cascade, INC)" modellerinden biridir. İkili sağanak modeli, tüm N-N* (çekirdek-uyarılmış çekirdek) ve rezonans kanallarını hesaba katarak nükleon-nükleon etkileşmelerini gerçekleştirir. 0 ile 10 GeV enerji aralığında kullanılabilen ancak 70 MeV-100 MeV aralığında daha çok kabul edilir sonuçlar verdiği düşünülmektedir. Daha düşük enerjilerdeki esnek olmayan çarpışmaların örneklenmesinde ön bileşik model (precompound model) uygulanır. İkili sağanak modelinde, ikincil nükleonların ve mezonların üretimi tam olarak ele alınır, ardından uyarılmış artık çekirdeğin (residual nucleus) kararlı duruma geçişi, ön bileşik model kullanılarak yapılır ve bunu yine uyarılmış çekirdeği kararlı hale geçirme modelleri olan, çekirdek buharlaşma (nuclear evaporation), hafif çekirdekler için çekirdek parçalanması (nuclear break-up) ve fisyon modelleri takip eder (Truscott ve ark., 2004).

GEANT4'te Proton Takibi Ve Veri Oluşturma Yöntemi

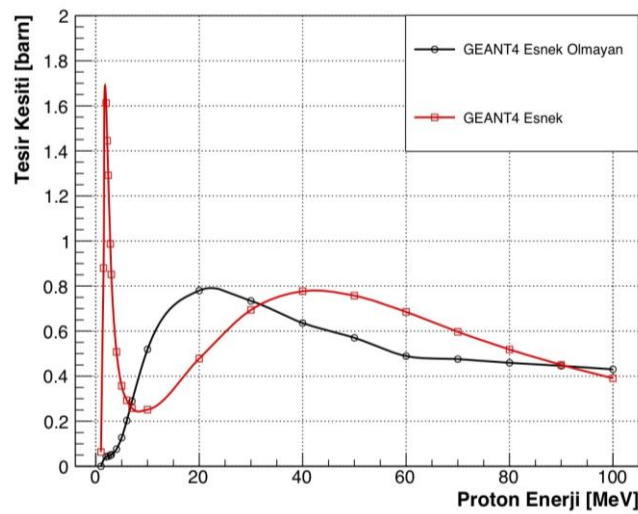
Protonun geldiği enerjiyle silikonda ilk etkileşmeyi yapıncaya kadar aldığı yol (iz uzunluğu), ortamla etkileşime uğradığı ilk noktada açığa çıkan ikincil parçacıkların (nükleer veya hedef geritepenler, elektron, gamma gibi diğer ikinciller) türleri (yükleri, atom numaraları, kütle numaraları, isimleri), sayıları, üretildikleri nükleer kanallar ve bunların ortaya çıkma sayıları, ikincillerin kinetik enerjileri gibi bilgiler SteppingAction sınıfı içerisinde gerçekleştirilir. Benzetişimde, protonun harekete başladığı enerjiyle silikondaki ilk nükleer etkileşmesi sonrası hemen takibi sonlandırılır. Böylece veriler gelen proton enerjisine ait olmuş olur. Protonların ilk etkileşme noktalarından alınan veriler, RunAction sınıfına aktarılır. RunAction sınıfında, SteppingAction'dan alınan iz uzunluğu bilgisinden, gelen proton başına ortalama serbest yol λ (cm) hesaplanır. Buradan ortalama nükleer etkileşme tesir kesitleri $\sigma_{ort} (\text{cm}^{-1}) = \lambda^{-1}$ ve $\sigma_{ort} (\text{cm}^2) = \sigma_{ort} (\text{cm}^{-1}) \cdot M_{Si} \cdot (d \cdot N_A)^{-1}$ formülü ile hesaplanır. Burada $M_{Si} = 28.086$ g doğal silikonun mol kütlesi, N_A Avogadro sayısı ve $d = 2.33$ g cm^{-3} doğal silikonun yoğunluğudur. $1 \text{ cm}^2 = 10^{24}$ barn dönüşümünden, σ_{ort} (barn) olarak elde edilir. Tüm protonların takibi tamamlandıktan sonra, proton başına nükleer etkileşme kanallarının çağırılma sayıları, ortalama tesir kesitleri, ikincillerin üretilme sayıları, ikincil türleri ve ikincil ortama enerjileri RunAction sınıfı aracılığıyla bilgisayar ekranına yazdırılır. İstenen veriler ayrıca benzetişim esnasında ROOT dosyalarına aktarılır. Örneğin, 70 MeV'lik protonun silikondaki GEANT4 benzetişiminin, DAWN olay görüntüleme arayüzü (Perl, 2003) ile oluşturulmuş bir görüntüsü Şekil 1'deki gibidir.



Şekil 1. (a) 70 MeV’lik 1000 tane protonun (kırmızı yörüngeler) silikonla ilk etkileşme görüntüsü (b) 70 MeV’lik 10 tane protonun (kırmızı yörüngeler) silikon içerisinde durgun hale gelinceye kadarki olan etkileşmelerinin görüntüsü, diğer renklerdeki yörüngeler ikincil parçacıklara aittir

BULGULAR VE TARTIŞMA

TENDL’a (TALYS-based evaluated nuclear data library) göre proton nükleer esnek saçılmasına Rutherford (Coulomb) katkısı 10 MeV’in altındaki protonlar için önemli olur. 10 MeV ve yukarı enerjilerde nükleer esnek etkileşme Coulomb’tan çok daha fazla baskındır (Caron ve ark.,2019). Bu çalışmada, esnek saçılmaya Coulomb katkısı dahil edilmemiş, protonun nükleer esnek ve esnek olmayan etkileşme türleri ele alınmıştır. GEANT4 benzetiminde, silikonda proton nükleer esnek ve esnek olmayan etkileşmelerinin toplam tesir kesiti değişimi Şekil 2’deki gibi elde edilmiştir.



Şekil 2. 1-100 MeV enerjili protonların silikonda nükleer esnek / esnek olmayan etkileşmeleri toplam tesir kesiti dağılımlarının GEANT4 benzetimi

Çizelge 2’de, GEANT4 ile 70 ve 100 MeV enerjili protonların, silikonda nükleer esnek olmayan reaksiyonlarla ürettikleri nükleer geritepen atom türleri ve enerji aralıkları verilmektedir.

Çizelge 2. 70 MeV ve 100 MeV proton için silikon içerisinde oluşan geritepen atomlar

$E_p = 70 \text{ MeV}$		$E_p = 100 \text{ MeV}$	
Al24, Al25, Al26, Al27, Al29	57.505 keV --> 9.9343 MeV	Al24, Al25, Al26, Al27, Al28	2.1334 keV --> 11.285 MeV
Na21, Na22, Na23	63.637 keV --> 10.069 MeV	Na21, Na22, Na23	199.79 keV --> 11.339 MeV
Si26, Si27, Si28, Si29, Si30	10.684 keV --> 8.8297 MeV	Si25, Si26, Si27, Si28	12.193 keV --> 9.3629 MeV
Mg23, Mg24, Mg25, Mg26	95.26 keV --> 12.309 MeV	Mg22, Mg23, Mg24, Mg25, Mg26	25.616 keV --> 15.846 MeV
Ne20, Ne21	335.92 keV --> 8.4113 MeV	Ne20, Ne21, Ne22	112.12 keV --> 12.695 MeV
P28, P29	17.371 keV --> 1.3946 MeV	O15, O16, O17, O18	241.04 keV --> 14.374 MeV
C12	276.89 keV --> 13.375 MeV	P27, P28, P30	149.71 keV --> 6.8478 MeV
F18	332.2 keV --> 9.8351 MeV	C12, C13	906.33 keV --> 9.4584 MeV
		F18, F19	97.24 keV --> 14.351 MeV

Çizelge 3. 70 MeV ve 100 MeV protonlar geritepen kısmi tesir kesitleri ve ortalama enerjileri

HETC (Alurraddel ve ark.,1991), ENDF/B-VI (Akkerman ve ark.,2001) ve GEANT4 (mevcut çalışma) ile hesaplanmış silikon içerisinde 70 ve 100 MeV enerjili protonların esnek olmayan etkileşme kısmi tesir kesitleri ve ortalama geritepen atom enerjilerinin karşılaştırılması

Geritepen	HETC kısmi σ (mb)	ENDF/B-VI kısmi σ (mb)	GEANT4 kısmi σ (mb)	HETC E_{ort} (MeV)	ENDF/B-VI E_{ort} (MeV)	GEANT4 E_{ort} (MeV)
$E_p = 70 \text{ MeV}$						
Si	163 ± 8	110	130	0.46 ± 0.03	1.6	1.6
Al	144 ± 8	148	163	0.99 ± 0.07	2.1	2.1
Mg	166 ± 8	144	116	1.77 ± 0.1	2.3	2.7
Na	31 ± 3	47	43	2.8 ± 0.4	2.7	3.4
Ne	27 ± 3	25	12	3.1 ± 0.5	3.0	3.8
F	-	3	4	-	3.4	3.7
O	7 ± 2	5	2	3.1 ± 1	3.8	4.3
He	133 ± 7	125	113	6.7 ± 0.5	8.6	9.2
$E_p = 100 \text{ MeV}$						
Si	123 ± 4	75	102	0.47 ± 0.02	1.2	1.7
Al	123 ± 4	113	119	0.9 ± 0.07	2.3	2.2
Mg	121 ± 4	107	110	1.7 ± 0.07	2.6	2.9
Na	41 ± 2	48	48	2.9 ± 0.2	2.9	3.6
Ne	44 ± 2	45	24	3.1 ± 0.2	3.2	4.1
F	-	14	9	-	3.8	4.5
O	17 ± 1	9	6	4 ± 0.4	4.1	4.7
N	-	6	5	-	4.1	5.2
C	-	2	4	-	4.9	5.2
He	154 ± 4	144	135	6.8 ± 0.2	9.1	8.3

Protonun silikon hedef içerisindeki nükleer esnek olmayan reaksiyonları ile geritepen atom üretimi kısmi tesir kesitlerine ait GEANT4 sonuçları, ENDF/B-VI (Akkerman ve ark.,2001) ve The High energy Transport Code (HETC) (Alurraddel ve ark.,1991) ile elde edilmiş olan değerlerle karşılaştırılmıştır. HETC, 70-600 MeV orta enerjili protonlarla ışınlanan silikondan açığa çıkan iyonların türlerini ve geritepenlerin enerjilerini hesaplamak için geliştirilmiş bir benzetişim programıdır. HETC programı içerisinde, 70-600 MeV enerjili protonların silikonla nükleer etkileşimi için sağanak-buharlaştırma (cascade-evaporation) modeli kullanılmaktadır. Sonuçta bu kod vasıtası ile çeşitli nükleer reaksiyon ürünleri ve bunların geritepme enerjileri hesaplanabilmektedir. Bu kodda geritepme enerjisinin bir kısmı elektronik uyarımlara harcanmakta, elektronik kayıplar ile hasar enerjisine harcanan enerji miktarları arasındaki oran Robinson Lindhardt paylaşım formülü ile belirlenmektedir (Alurraddel ve ark.,1991). ENDF/B-VI (Akkerman ve ark.,2001), HETC kodu (Alurraddel ve ark.,1991) ve GEANT4 ile elde edilmiş olan sonuçlar arasındaki farklılıkları belirlemek için, $E_p=70 \text{ MeV}$ ve $E_p=100 \text{ MeV}$ proton enerjileri seçilmiş ve ana geritepen atomlarının meydana gelme kısmi tesir kesitleri, bunların ortalama enerjileri karşılaştırılmış ve sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. En hasar verici geritepen atomların Si, Al ve Mg grubu olduğu belirtilmiştir (Akkerman ve ark.,2001). Hasara en büyük katkıyı verecek olacaklarından dolayı, HETC (Alurraddel ve ark.,1991),

ENDF/B-VI (Akkerman ve ark.,2001)'de yer alan 70 MeV ve 100 MeV enerjili protonların silikon içerisinde nükleer esnek olmayan süreçlerle oluşturacağı Si, Al ve Mg geritepen ürünlerin kısmi tesir kesitleri ve ortalama enerjileri GEANT4 ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Sonuçlar Çizelge 3'te verilmiştir. Ayrıca bu proton enerjileri için Si, Al ve Mg geritepenin açığa çıkma sıklıkları yüzde olarak hesaplanmış ve sonuçlar literatürle karşılaştırılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4'te görülebilir.

Çizelge 4. 70 MeV ve 100 MeV proton için silikonda Si, Al, Mg oluşma yüzdeleri

E_p (MeV)	Geritepen	HETC (%) (Alurraldel ve ark., 1991)	ENDF/B-VI (%) (Akkerman ve ark., 2001)	GEANT4 (%) (mevcut çalışma)
70 MeV	Si	24.2	18.1	22.3
	Al	21.4	24.4	28.0
	Mg	24.7	23.7	19.9
100 MeV	Si	19.7	13.3	18.1
	Al	19.7	20.1	21.2
	Mg	19.4	19.0	19.6

Çizelge 5. 70 MeV ve 100 MeV enerjili proton için silikonda Si, Al, Mg oluşma yüzde farkları

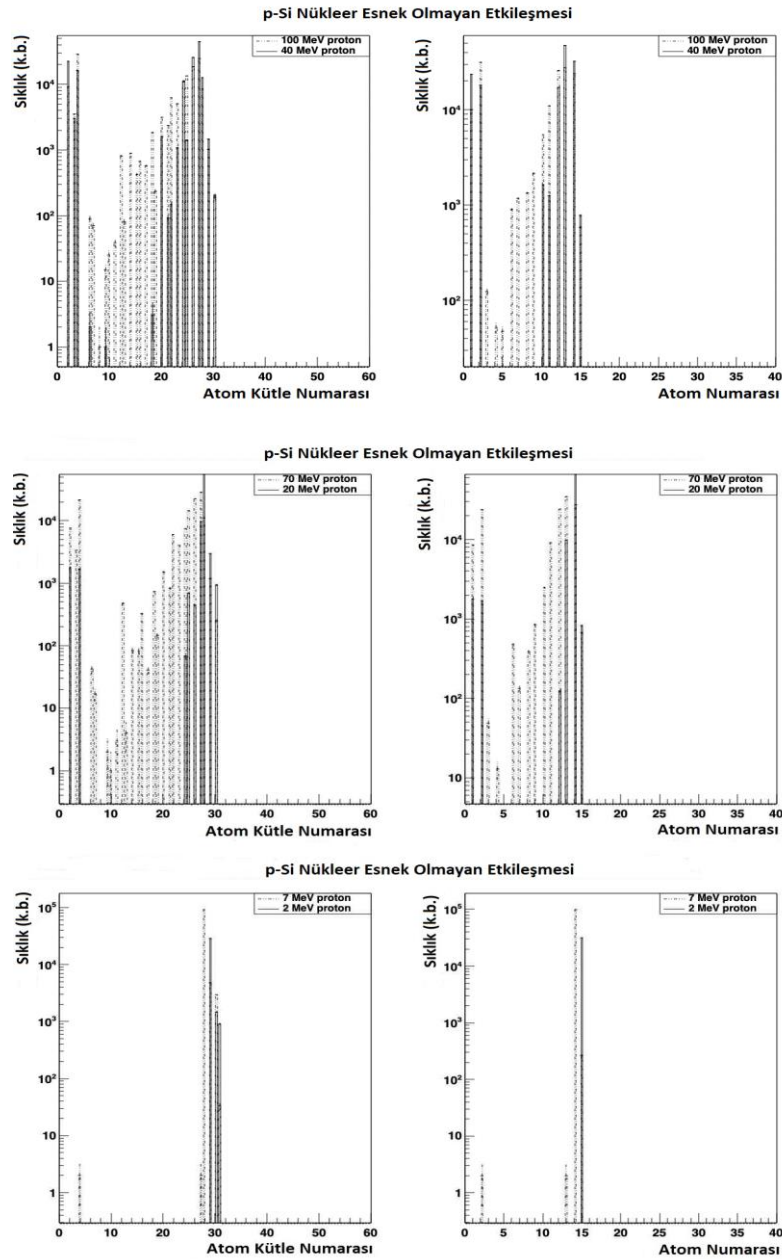
E_p (MeV)	Geritepen	HETC (Alurraldel ve ark., 1991) - ENDF/B-VI (Akkerman ve ark.,2001) (% Fark)	GEANT4 - ENDF/B-VI (Akkerman ve ark., 2001) (%Fark)	GEANT4 - HETC (Alurraldel ve ark., 1991) (% Fark)
70 MeV	Si	6.1	4.2	1.9
	Al	3.0	3.6	6.6
	Mg	1.0	3.8	4.8
100 MeV	Si	6.4	4.8	1.6
	Al	0.4	1.1	1.5
	Mg	0.4	0.6	0.2

Çizelge 4'e göre Si, Al ve Mg geritepenlerin toplam oluşma sıklıkları için HETC (Alurraldel ve ark., 1991) ve GEANT4 ile elde edilen sonuçlar hemen hemen eşit iken (sırasıyla %70.3 ve %70.1), ENDF/B-VI'de (Akkerman ve ark.,2001) yaklaşık %4 daha azdır. Çizelge 5'ten görülebileceği gibi 70 MeV proton için GEANT4 ile ENDF/B_VI (Akkerman ve ark., 2001) arasında Si, Al ve Mg oluşum sıklıkları arasında bu üç geritepen üzerinden ortalama %3.9'luk bir fark varken, GEANT4 ile HETC (Alurraldel ve ark., 1991) durumunda bu fark %4.4 civarındadır. 100 MeV proton için ise GEANT4 ile ENDF/B_VI (Akkerman ve ark., 2001) arasındaki fark %2.2 iken, GEANT4 ile HETC (Alurraldel ve ark.,1991) arasında %2.4'tür. 70 MeV ve 100 MeV proton enerjilerinde silikonda nükleer esnek olmayan süreçlerle oluşan tüm nükleer geritepen atom ortalama enerjileri için GEANT4 ve ENDF/B-VI (Akkerman ve ark., 2001) sonuçları birbirlerine çok yakınken, HETC (Alurraldel ve ark., 1991) tarafından elde edilen sonuçların bunlara göre çok düşük olduğu Çizelge 3'ten görülebilir. 7-100 MeV enerji aralığındaki protonların silikonda nükleer esnek olmayan süreçler ile atom numarası 3'ten büyük olan tüm nükleer geritepen atomlar üzerinden, toplam tesir kesitleri, ortalama geritepme enerjileri ve ortalama atom kütle numaralarına ait GEANT4 sonuçları ile bunların literatür değerlerinin bir karşılaştırılması Çizelge 6'da verilmektedir.

Çizelge 6'dan, 7-100 MeV proton enerji aralığında, nükleer esnek olmayan toplam tesir kesiti GEANT4 sonuçlarının literatürle birbirlerine oldukça yakın değerlerde oldukları, ortalama geritepen atom enerjilerinde ve üretilen geritepenlerin ortalama kütle numaralarında GEANT4'ün burada kullanılan literatür değerine göre daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. 1-100 MeV enerjilerindeki protonların silikon içerisindeki nükleer esnek olmayan etkileşmesine ait geritepen atom ürün türlerinin ortaya çıkma sıklık dağılımlarının GEANT4 benzetim sonucu Şekil 3'te verilmektedir. Proton enerjisi azaldıkça nükleer esnek olmayan tesir kesiti düşeceğinden, bunu doğrular nitelikte açığa çıkan ürünlerin çeşitliliğinin azaldığı bu grafiklerden açıkça görülebilmektedir.

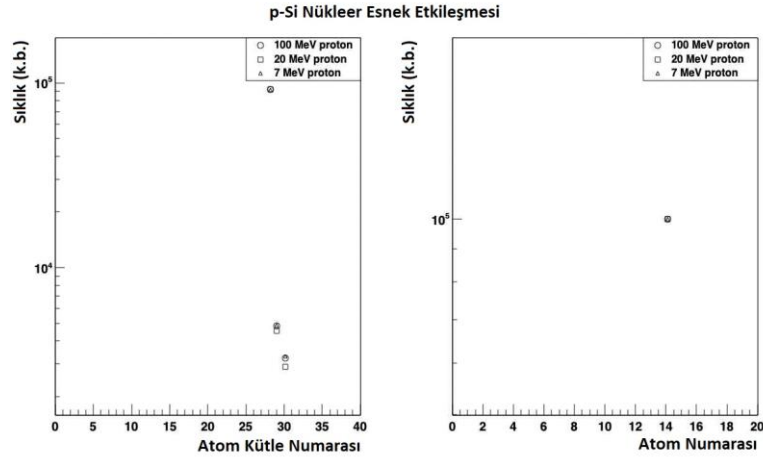
Çizelge 6. 7-100 MeV proton için silikon içerisinde nükleer esnek olmayan toplam tesir kesitleri ve ortalama nükleer geritepen atom enerjilerinin literatürle karşılaştırılması

E_p (MeV)	Tesir Kesiti (barns) (Dale ve ark.,1994)	Tesir Kesiti (barns) GEANT4 (mevcut çalışma)	Geritepen Ortalama Enerjisi (MeV) (Dale ve ark.,1994)	Geritepen Ortalama Enerjisi (MeV) GEANT4 (mevcut çalışma)	Ortalama Atomik Kütle No. (Dale ve ark.,1994)	Ortalama Atomik Kütle No. GEANT4 (mevcut çalışma)
7	0.4554	0.2892	0.137	0.235	26.11	28.22
10	0.6127	0.5191	0.196	0.393	25.95	28.11
15	0.7135	0.7006	0.295	0.611	25.78	28.09
20	0.7275	0.7801	0.394	0.807	25.66	28.01
30	0.6835	0.7411	0.593	1.249	25.49	27.05
40	0.6253	0.6358	0.792	1.632	25.37	26.56
50	0.5746	0.5704	0.993	1.874	25.28	26.29
70	0.5016	0.4758	1.395	2.275	25.15	25.68
85	-	0.4524	1.700	2.476	-	25.23
100	0.4417	0.4305	2.008	2.639	25.00	24.87

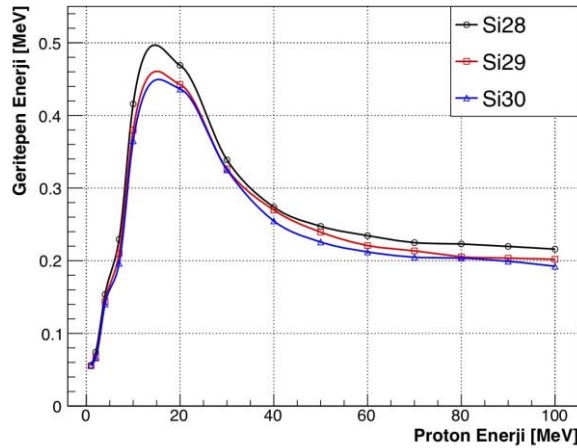


Şekil 3. 40 MeV-100 MeV, 20 MeV-70 MeV ve 2 MeV-7 MeV enerjili protonların silikon ile nükleer esnek olmayan etkileşmeleri ile oluşan nükleer geritepen ürünlerin atomik dağılımları

1-100 MeV enerjili protonun silikon içerisindeki nükleer esnek reaksiyonları ile açığa çıkan hedef geritepen atomların tür ve enerji dağılımlarının GEANT4 benzetimi sonuçları, sırasıyla Şekil 4 ve Şekil 5'te görülebilir.



Şekil 4. 7 MeV, 20 MeV ve 100 MeV enerjili protonların silikon ile nükleer esnek etkileşmesi ile oluşan PKA'ların (Si28, Si29, Si30) atomik dağılımları



Şekil 5. 1-100 MeV protonun silikon ile nükleer esnek etkileşmesi ile oluşan hedef geritepen atomlarının ortalama enerji dağılımları

Protonun silikonla nükleer esnek etkileşmelerinde yalnızca Si28, Si29 ve Si30 geritepenleri üretilir. Hedef geritepenlerin sıklıklarının proton enerjisine bağlı değişimlerinin GEANT4 sonucu Şekil 4'te görülebilir. Şekil 4'ten anlaşılacağı gibi 7 MeV ile 100 MeV enerji aralığında Si28'in üretilme miktarları proton enerjisinden bağımsız olup birbirlerine çok yakın iken, Si29 ve Si30 geritepenlerinin sıklıkları, değişen proton enerjisiyle birlikte küçük farklılıklar gösterebilmektedir. Protonun nükleer esnek etkileşmesinde, hedef Si atomu gelen proton enerjisinin küçük bir kesrini alır. Örneğin, GEANT4' göre, 1 MeV-100 MeV proton enerji aralığı için bir Si28 atomunun geritepme enerjisi 56 keV ile 216 keV arasında değişir. Buradan, nükleer esnek etkileşmelerle oluşan PKA'ların yerdeğiştirme hasarına katkılarının, nispeten esnek olmayan süreçlerle yapılan katkıya kıyasla daha az olacağı sonucu çıkarılabilir. Proton enerjisine bağlı olarak nükleer esnek süreçlerle silikonda oluşan hedef geritepenlerin enerji dağılımları Şekil 5'te verilmektedir. Şekil 5'ten görüleceği gibi, protonun nükleer esnek etkileşme olaylarından açığa çıkan hedef geritepen atomlarının (Si28, Si29, Si30) enerjileri, artan proton enerjisiyle artmakta, yaklaşık 14 MeV'lik proton için, Si28 0.51 MeV, Si29

0.47 MeV ve Si30 ise 0.46 MeV'lik geritepme enerjilerinde bir maksimuma ulaşmakta ve sonra azalmaktadır.

SONUÇ

Protonun silikonla nükleer etkileşmesi sonucu açığa çıkan nükleer geritepenlerin türleri, miktarları ve enerjileri radyasyon hasarının uzaysal boyutunun ve büyüklüğünün belirlenmesinde ihtiyaç duyulan önemli fiziksel büyüklüklerdir. 1-100 MeV enerji aralığındaki protonların silikon içerisindeki nükleer esnek olmayan süreçleri için toplam tesir kesitleri ve bu süreçlerle açığa çıkan nükleer geritepen atom türlerine ait GEANT4 sonuçları literatürle kabul edilebilir düzeyde uyumluluk içerisindedir. Ancak söz konusu enerji aralığında protonun silikonla esnek olmayan süreçleri ile oluşan nükleer geritepen atom türlerinin oluşma sıklıklarında literatüre göre yaklaşık %5.0 ve yine söz konusu proton enerjisi için esnek olmayan süreçlerle oluşan tüm nükleer geritepen atomlar üzerinden, nükleer geritepen atom ortalama enerjilerinde ise literatüre göre yaklaşık %30 ila %40 daha büyük sonuçlar söz konusudur. Nükleer geritepen atomlar, silikon içerisinde iyonlaştırıcı olmayan süreçlerle enerji kaybına uğrayarak PKA'ları oluştururlar. Bu PKA'lar da enerjileri yeterli ise silikon içerisinde SKA'lar üreterek ardışık yerdeğiştirme zinciri ile bir kusur sağanağı meydana getirirler. Esnek olmayan etkileşmelerden farklı olarak, nükleer esnek etkileşmelerde ise PKA'lar, silikon içerisine gelen proton ile doğrudan üretilirler. GEANT4 ile protonların silikondaki nükleer esnek etkileşmeleri ile oluşturacağı PKA'ların sıklıkları ve ortalama enerjileri de ayrıca belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular, 1-100 MeV enerji aralığındaki protonun silikon algıçlardaki NIEL'ine, hangi enerji ve türlerdeki nükleer geritepen atomların hangi oranlarda katkısı olabileceği sorusuna GEANT4'ün bir cevabı niteliği taşımaktadır. Ayrıca içerdiği nicel sonuçlar ile bu çalışma, literatüre güncel bir katkı sunmaktadır.

Çıkar Çatışması

Çalışma hazırlanırken; veri toplanması, sonuçların yorumlanması ve makalenin yazılması aşamalarında herhangi bir çıkar çatışması alanı bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

Çalışma hazırlanması; veri toplanması, sonuçların yorumlanması ve makalenin yazılması gibi tüm aşamalarda katkı tamamen yazara aittir.

KAYNAKLAR

- Agostinelli S ve ark. 2003. Geant4—a simulation toolkit: Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A, 506:250–303.
- Akkerman A, Barak J, Chadwick MB, Levinson J, Murat M, Lifshitz Y 2001. Updated NIEL calculations for estimating the damage induced by particles and γ -rays in Si and GaAs. Radiation Physics and Chemistry, 62:301–310.
- Allison ve ark., 2016. Recent developments in GEANT4: Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A, 835: 186-225.
- Alurraldel M, Victoria M, Caro A, Gavillet D, 1991. Nuclear and Damage Effects in Si Produced by Irradiations with Medium Energy Protons. IEE Transaction on Nuclear Science, 38(6):1210-1215
- Bortoletto D, 2015. How and why silicon sensors are becoming more and more intelligent?. Journal of Instrumentation JINST, 10 C08016: 1-13
- Brun R, Rademakers F, 1997. ROOT - An Object Oriented Data Analysis Framework. Nuclear Instrument and Methods in Physics Research A, 389: 81-86
- Caron P, Inguibert C, Artola L, 2019. Physical Mechanisms of Proton-Induced Single-Event Upset in Integrated Memory Devices. IEE Transaction on Nuclear Science, 66(7):1404-1409.

- Dale CJ, Chen L, McNulty PJ, Marshall PW, Burke EA, 1994. A Comparison of Monte Carlo and Analytic Treatments of Displacement Damage in Si Microvolumes. *IEE Transaction on Nuclear Science*, 41(6):1974-1983
- Dodd PE, 2005. Physics-Based Simulation of Single-Event Effects. *IEE Transaction on Device And Materials Reliability*, 5(3):343-357.
- Donegani EM, 2017. Energy-Dependent Proton Damage in Silicon. an der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften Fachbereich Physik der Universität Hamburg, (unpublished) Ph.D thesis, 203p.
- Gao F, Chen N, Hernandez-Rivera E, Huang D, LeVan PD, 2017. Displacement damage and predicted non-ionizing energy loss in GaAs. *Journal of Applied Physics*, 121, 095104
- Ivantchenko AV, Ivanchenko VN, Molina JMQ, Incerti SL, 2012. Geant4 hadronic physics for space radiation environment. *International Journal of Radiation Biology* 88:1-2: 171-175.
- Iwamoto Y, ve ark. 2018. Radiation Damage Calculation in PHITS and Benchmarking Experiment for Cryogenic-Sample High-Energy Proton Irradiation: Beam Instruments and Interactions ISBN: 978-3-95450-202-8 doi:10.18429/JACoW-HB2018-TUP2WE03
- Jun I, Xapsos MA, Messenger SR, Burke EA, Walters RJ, Summers GP, Jordan T, 2003. Proton Nonionizing Energy Loss (NIEL) for Device Applications. *IEE Transaction on Nuclear Science*, 50(6):1924-1928.
- Li Z, 2008. Radiation damage effects in Si materials and detectors and rad-hard Si detectors for SLHC. *Journal of Instrumentation*, 4: P03011.
- Luneville L, Sublet JC, Simeone D, 2017. Impact of nuclear transmutations on the primary damage production: the example of Ni based steels. *Journal of Nuclear Materials*, 505:262-266.
- Messenger SR, Burke EA, Summers GP, Walters RJ, 2004. Limits to the Application of NIEL for Damage Correlation. *IEE Transaction on Nuclear Science*, 51(6):3201-3206.
- Moll M, 2018. Displacement Damage in Silicon Detectors for High Energy Physics. *IEE Transaction on Nuclear Science*, 65(8):1561-1582.
- Nordlund K, Zinkle SJ, Sand AE, Granberg F, Averbach RS, Stoller R, Suzudo T, Malerba L, Banhart F, Weber WJ, Willaime F, Sergei L, Dudarev SL, Simeone D, 2018. Improving atomic displacement and replacement calculations with physically realistic damage models. *Nature Communications*, (9):1084.
- Perl J, 2003. DAWN GEANT4 olay görüntüleme aracı, <https://conferences.fnal.gov/g4tutorial/g4cd/Documentation/Visualization/G4DAWNTutorial/G4DAWNTutorial.html>, (erişim tarihi 14 Ekim 2003).
- Rayaprolu R, Möller S, Linsmeier CH, Spellerberg S, 2016. Simulation of neutron irradiation damage in tungsten using higher energy protons. *Nuclear Materials and Energy*, 9:29-35
- Rong-Hua L, ve ark., 2015. Phonon contribution to nonionizing energy loss in silicon detectors. *Chinese Physics C*, 39(6): 066004 1-4.
- Ruzin A, Casse G, Glaser M, Zanet A, Lemeilleur F, Watts S, 1999. Comparison of Radiation Damage in Silicon Induced by Proton and Neutron Irradiation. *IEE Transaction on Nuclear Science*, 46(5):1310-1313.
- Truscott P ve ark., 2004. Assessment of Neutron- and Proton-Induced Nuclear Interaction and Ionization Models in Geant4 for Simulating Single Event Effects. *IEE Transaction on Nuclear Science*, 51(6):3369-3374.
- Virmontois C, Girard S, 2010. Displacement Damage Effects Due to Neutron and Proton Irradiations on CMOS Image Sensors Manufactured in Deep Submicron Technology. *IEE Transaction on Nuclear Science*, 57(6):3101-3108.

Atf İçin: Kazanç S, 2021. Uygulanan Çekme Deformasyonu Altında Niyobyum Nano Telinin Mekanik Özelliklerinin Moleküler Dinamik Benzetimi ile İncelenmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2758-2771.

To Cite: Kazanç S, 2021. Investigation of Mechanical Properties of Niobium Nanowire Under Applied Tension Deformation by Molecular Dynamics Simulation. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2758-2771.

Uygulanan Çekme Deformasyonu Altında Niyobyum Nano Telinin Mekanik Özelliklerinin Moleküler Dinamik Benzetimi ile İncelenmesi

Sefa KAZANÇ

ÖZET: Bu çalışmada farklı sıcaklık ve zorlanma oranlarında [100] doğrultusu boyunca uygulanan çekme deformasyonunun Nb nano telinin mekanik özellikleri üzerindeki etkisi Moleküler Dinamik (MD) benzetim yöntemi kullanılarak incelendi. Model sisteme uygulanan tek eksenli çekme zorlanması altında zor-zorlanma eğrisi, elastiklik modülü, akma zorlanması, poisson oranı ve oluşan plastik deformasyon belirlendi. Atomlar arasındaki kuvvetler çok cisim etkileşmelerini içeren Gömülmüş Atom Metodu (GAM) ile elde edildi. Sıcaklık ve zorlanma oranının Nb nano telinin mekanik davranışları üzerinde etkili olduğu tespit edildi. Elastiklik modülünün düşük sıcaklıklarda zorlanma oranından bağımsız olduğu, buna karşılık sıcaklık artışıyla azaldığı, ayrıca akma zorunun, sıcaklığın artmasıyla ve zorlanma oranının azalmasıyla azaldığı belirlendi. Uyarlanabilir genel komşu analiz (Adaptive Common Neighbor Analysis-aCNA) yöntemi kullanılarak plastik deformasyona karşılık gelen ikizlenmelerin hareketi ve bunun sonucu olarak bölgesel kristal yapıların yeniden yönelim aldığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Nano tel, niyobyum, zor-zorlanma, moleküler dinamik benzetimi.

Investigation of Mechanical Properties of Niobium Nanowire Under Applied Tension Deformation by Molecular Dynamics Simulation

ABSTRACT: In this study, the effect of tensile deformation applied along the [100] direction at different temperatures and strain rates on the mechanical properties of Nb nanowire was investigated using the Molecular Dynamics (MD) simulation method. Under uniaxial tensile deformation applied to the model system, the stress-strain curve, modulus of elasticity, yielding strength, poisson ratio and the resulting plastic deformation were determined. The forces between atoms were obtained by the Embedded Atom Method (EAM), which includes many-body interactions. It was determined that temperature and strain rate were effective on the mechanical behavior of Nb nanowire. It was determined that the modulus of elasticity was independent of the strain rate at low temperatures, but decreased with the increase in temperature, and the yielding strength decreased with increasing temperature and decreasing strain rate. Using the Adaptive Common Neighbor Analysis (aCNA) method, it was observed that the movement of twinings corresponding to plastic deformation and, as a result, the reorientation of regional crystal structures.

Keywords: Nanowire, niobium, stress-strain, molecular dynamics simulation

GİRİŞ

Nano ölçekteki hem metalik hem de yarıiletken nano teller üstün mekanik, elektrik, termal, manyetik ve optiksel özelliklerinden dolayı son zamanlarda dikkat çeken malzemeler arasındadır (Park ve Zimmerman, 2005; Suresh ve Li, 2008; Gao ve ark., 2016). Bu alışılmadık karakteristikler nano tellere olan ilgiyi arttırarak birçok farklı araştırma ve uygulama alanında kullanılma fırsatı sunmuştur. Bir boyutlu önemli nano yapılardan biri olan nano teller gelecekte elektronik, optik ve nano-elektromekanik cihazların tasarlanmasında ve üretimde önemli bir rol oynayacaktır (Gan ve Chen, 2009; Jing ve ark., 2009). Son yıllarda nano laser (Huang ve Mao, 2001), alan etkili transistör (Arnold ve ark., 2003), ışık yayan diod (Changwook ve ark., 2008) gibi değişik nano cihazlar nano tellerden geliştirilmiştir. Teknolojide nano tellerin uygulamalarını arttırmak için nano ölçekteki mekanik davranışları üzerine birçok çalışma yapılmaktadır (Zhu ve Shi, 2011; Sainath ve Choudhary, 2016; Godet ve ark., 2019). Bu davranışların belirlenmesi amacıyla hacimsel yapıdaki (bulk) metalik malzemeler için birçok araştırma yapılmasına rağmen nano ölçekteki malzemeler için yapılan çalışmalar yetersiz kalmaktadır. Deneysel olarak değişik metalik nano tellerin termal, mekanik ve elektriksel özelliklerini belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır (Lee ve ark., 2004; Pasquier ve ark., 2005; Li ve ark., 2006). Deneysel olarak nano ölçekteki metalik malzemeleri atomik boyutta incelemek için dinamik yüksek çözünürlüklü geçirmeli elektron mikroskobu (Legoas ve ark., 2002), atomik kuvvet mikroskobu (Marszalek ve ark., 2000) ve geçirmeli elektron mikroskobu (Landman ve ark., 1996) kullanılmaktadır. Nano tellerin deformasyonu ve kırılması sıcaklık, yönelim, yük uygulama oranı, yüzey ve sınır şartları gibi birçok faktör tarafından kolaylıkla etkilenebilir. Bundan dolayı metalik nano teller deneysel şartlar altında daima özel ve öngörülemez davranırlar.

Düşük yoğunluk, yüksek erime sıcaklığı, korezyon direnci, düşük nötron yakalama kesiti, oda sıcaklığında mükemmel süneklik ve şekillendirilebilmesinden dolayı Niyobyum (Nb), hem deneysel hem de teorik çalışmalarda ilgi çeken geçiş elementlerindedir (Yang ve Qi, 2019; Singh ve ark., 2020). Bununla birlikte Nb ve Nb alaşımları implarda, reaktör borularında ve uzay sanayinde tercih edilen malzemeler arasındadır (Grill ve Gnademberger, 2006; Divya ve Avinash, 2018). Literatürde Nb'nin hacimsel (bulk), kümeli (cluster), ince film yapıları hakkında birçok teorik çalışma bulunmasına karşılık (Yang ve Wu, 2010; Abdeslam ve Chihi, 2018; Singh ve ark., 2019) Nb nano teli ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı oldukça azdır.

Bilgisayar benzetimleri atomik seviyede maddelerin yapısal ve termodinamik özelliklerinin anlaşılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Atomik benzetim tekniklerinden MD yöntemi çekme ve sıkıştırmaya maruz kalan nano tellerin deformasyonunu ve kırılma karakterlerini değerlendirmek için etkili yöntemlerden biridir. Özellikle son yıllarda literatürde klasik MD benzetim yöntemi ile hacimsel ve nano yapıların mekanik davranışları ve deformasyon mekanizmalarını belirlemek amacıyla birçok teorik çalışma yapılmıştır (Salehinia ve Bahr, 2014; Zhanga ve ark., 2017; Rawat ve Mitra, 2020). Bununla birlikte yoğunluk fonksiyonu teorisine dayalı ilk prensip metotları (first principle) ile yapılan çalışmalarda bulunmaktadır (Krüger ve ark., 2002; da Silava ve ark., 2004). Ancak bu yöntemde atomik sistemleri modellemek için düşük parçacık sayısı ve çok sayıda işlemci içeren bilgisayarlara ihtiyaç duyulmaktadır. MD benzetim yöntemi ile faz uzayında sonlu bir zaman üzerinden atomların yörüngeleri üretilir ve bu yörüngelerden yararlanılarak sistemin istenilen fiziksel ve termodinamik özellikleri belirlenebilir (Davoodi ve Ahmadi, 2012). Atomlar arasındaki etkileşimleri matematiksel olarak ifade eden potansiyel enerji fonksiyonunun belirlenmesi modellenecek sistem için elde edilen sonuçların deneysel değerlerle uyum içerisinde olması açısından son derece önemlidir (Voter ve Chen, 1987). Farklı element ve alaşım sistemleri için farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiş çok sayıda

potansiyel fonksiyonu bulunmaktadır (Cai ve Ye, 1996; Malins ve ark., 2013). Çok cisim etkileşimleri temeline dayalı GAM, MD benzetim yöntemi ile yapılan çalışmalarda en çok kullanılan potansiyel fonksiyonlarından biridir. Horstemeyer ve arkadaşları (Horstemeyer ve ark., 2001) basit bir kesme altında fcc (yüzey merkezli kübik) yapılı metallerin plastik akmalarına uzunluğun ve zamanın etkisini, Liang ve Zhou (Liang ve Zhou, 2003) Cu nano telinin gerilme davranışına boyutun ve zorlanma oranının etkisini çalışmışlardır. Son zamanlarda Cu ve Ag nano tellerinde şekil hatırlama etkisi ve suni elastiklik davranış da MD benzetim yöntemi ile incelenmiştir (Park ve ark., 2005; Park ve Ji, 2006). Bununla birlikte tek atomlu ve alaşım nano teller için yapılan birçok çalışma bulunmaktadır (Güder ve Çeltek, 2020; Yıldız, 2021).

Bu çalışmada Nb nano tel sistemine [100] doğrultusu boyunca farklı sıcaklık ve zorlanma oranları altında çekme işlemi uygulanarak sistemin mekanik davranışları MD benzetim yöntemiyle incelenmeye çalışıldı. Çalışmada LAMMPS açık kaynak kodlu MD benzetim programı kullanıldı (LAMMPS, 2021). GAM potansiyel fonksiyonu ile Nb atomları arasındaki kuvvet etkileşimleri belirlendi. Elde edilen sonuçlarda sıcaklığın ve zorlanma oranlarının nano telin mekanik özellikler üzerinde etkili olduğu tespit edildi. Uygulanan zorlanma sonucu oluşan atomik yapı değişimlerinin belirlenmesi amacıyla aCNA metodu kullanıldı.

MATERYAL VE YÖNTEM

Klasik MD yöntemi, N atomlu bir sistemin Lagrange fonksiyonundan elde edilen hareket denklemlerinin sayısal integrasyonu ile atomların faz uzayındaki yörüngelerini hesaplamayı amaçlar. MD benzetim yönteminin detayları literatürden bulunabilir (Parrinello ve Rahman, 1980; Parrinello ve Rahman, 1981).

Hesaplama hücresine uygulanan eksensel zor, sistemdeki bütün atomların kinetik ve potansiyel enerjilerinin hacim ortalaması tarafından belirlenir. Zor tensörü, virial teoremi kullanılarak aşağıda verilen şekilde hesaplanabilir.

$$\pi = V^{-1} \left[\sum_{i=1}^N m_i \mathbf{v}_i \mathbf{v}_i - \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{F_{ij}}{r_{ij}} \mathbf{r}_i \cdot \mathbf{r}_j \right] \quad (1)$$

Bu ifade de V ve N sistemin hacmini ve toplam atom sayısını m_i ve \mathbf{v}_i i inci atomun kütlelerini ve hızını, F_{ij} ve r_{ij} ise i ve j atomları arasındaki kuvveti ve mesafeyi göstermektedir. Denklem (1) de ilk toplam terimi sistemin termal titreşiminden, ikinci toplam terimi atomlar arası kuvvetten dolayıdır (Wen ve ark., 2010).

Dış kuvvetlerin etkisinde kalan bir cismin zorlanmış durumda olduğu söylenir. Maddenin herhangi bir noktasındaki zorun durumu dokuz bileşenli zor tensörü tarafından tayin edilir.

$$\sigma_{ij} = \begin{pmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{pmatrix} \quad (2)$$

Zor tensörünün σ_{11} , σ_{22} , σ_{33} (sırasıyla σ_x , σ_y , σ_z olarak da ifade edilebilir) bileşenleri zorun normal bileşenleri, diğer bileşenleri ise zorun kesme bileşenleri olarak bilinir. Normal bileşenlerin pozitif değerleri germe zoruna, negatif değerleri sıkıştırma zoruna karşılık gelmektedir. Sisteme x eksenli boyunca uygulanan tek eksenli yüklenmede sadece σ_x bileşeni değişir. Buna karşılık diğer bileşenler sıfırdır (Jacobus ve ark., 1996).

x eksenli boyunca zorlanma $\varepsilon_x = (l_x - l_{x0}) / l_{x0}$ olarak tanımlanır. Bu ifade de l_{x0} telin x doğrultusunda yüklenme uygulanmadan önceki uzunluğu ve l_x yüklenme altındaki uzunluğudur (Saitoh ve Liu, 2009).

Bu çalışmada başlangıç yapısı olarak Nb nano tel sistemi için atomlar bcc örgü noktalarına yerleştirildi. Periyodik sınır şartları nano telin [100] doğrultusu boyunca uygulanırken [010] ve [001] doğrultuları boyunca sınır şartları uygulanmadı. Maxwell-Boltzman hız dağılımına uygun olarak model sistemdeki atomların başlangıç hızları rastgele belirlendi. Verlet algoritmasının hız formu kullanılarak 1 fs zaman adımlarında sistemin hareket denklemlerinin sayısal integrasyonu gerçekleştirildi. Tek eksenli gerilme testleri parçacık sayısının, hacmin ve sıcaklığın belirli değerlerde sabit tutulduğu NVT istatistik topluluğuna uygulandı. Gerilme yüklenmesi uygulanmadan önce bütün çalışmalarda 5×10^4 MD adımı sistemin kararlı yapıda dengeye gelmesi sağlandı. Kullanılan potansiyel fonksiyonunun kesme mesafesi (cut-off) $r_c = 2a_{Nb}$ olarak belirlendi.

Potansiyel Enerji Fonksiyonu

Tek atomlu ve alaşım sistemlerinin modellenmesi için çok cisim etkileşme terimlerini içeren GAM fonksiyonu en çok kullanılan fonksiyonlardandır. GAM'da N atomdan meydana gelen bir hesaplama hücresinde sistemin toplam enerji ifadesi (Finnis ve Sinclair, 1984);

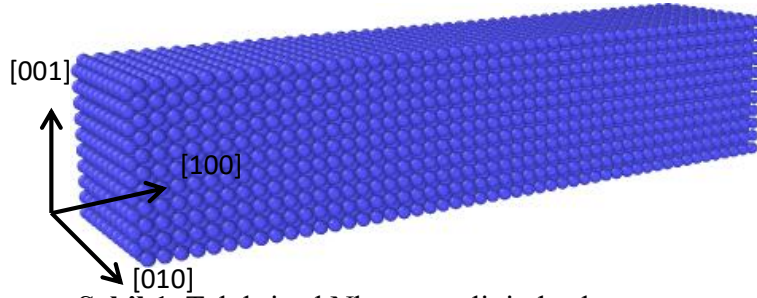
$$E_T = \frac{1}{2} \sum_{\substack{i,j \\ (i \neq j)}}^N \phi(r_{ij}) + \sum_i^N F(\bar{\rho}_i) \quad (3)$$

şeklinde verilmektedir. İlk terim atomlar arasındaki ikili etkileşmeleri ifade etmektedir. İkinci terim çok cisim etkileşmelerini içeren ve gömme fonksiyonu olarak bilinen çekici etkileşmeleri tanımlamaktadır. İkili etkileşme potansiyeli ve gömme fonksiyonu farklı sistemler için farklı türde tanımlanabilir. Bundan dolayı farklı türlerde GAM potansiyel fonksiyonları bulunmaktadır (Finnis ve Sinclair, 1984; Sutton ve Chen, 1990). Bu çalışmada kullanılan GAM potansiyel fonksiyonunun detayları ve Nb elementi için parametrelerin değerleri literatürden bulunabilir (Fellinger ve ark., 2010).

MD benzetim çalışmalarında model sistemdeki fcc, hcp, bcc gibi sıkı paket yapıların belirlenmesi önemli sorunlardan biridir. Katı fazdaki bu yapıların analizi için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin genel amacı sistem içerisindeki her bir parçacığa yapısal bir tür atamaktır. Bununla birlikte bu yöntemler yerel bir yapıyı idealleştirilmiş bir yapıyla eşleştirerek ne kadar yakın olduklarını belirlemeye çalışır. MD hücresinde mevcut olan yapıların karakterizasyonu için benzetim çalışmalarında merkez simetri parametre analizi (centrosymmetry parametre analysis), genel yakın komşu analizi (common neighbor analysis), bağ-yönelim analizi (bond-order analysis), bağ açısı analizi (bond-angle analysis), Honeycutt-Andersen, Voronoi analizi gibi yöntemler oldukça sık kullanılmaktadır (Stukowski, 2012).

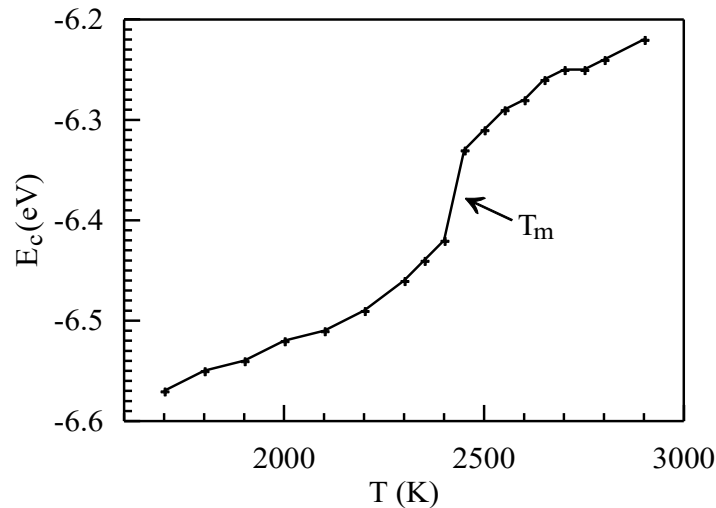
BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada [100] doğrultusu boyunca farklı sıcaklık ve zorlanma oranlarında uygulanan tek eksenli çekme deformasyonunun tek kristal Nb nano tel model sisteminin mekanik davranışlarına etkisi MD yöntemi kullanılarak incelenmeye çalışıldı. Nano tel yapısı Şekil 1'de görüldüğü gibi x, y ve z yönlerinde [100], [010] ve [001] kristalografik doğrultuları boyunca Nb atomlarının bcc örgü noktalarına yerleştirilmesiyle kuruldu. Benzetim çalışmasının başlangıcında nano tel x yönünde 16.5 nm (50 bcc birim hücre), y ve z yönünde 3.3 nm (10 bcc birim hücre) uzunluğa sahiptir. x eksenli boyunca periyodik sınır şartları uygulanmış, diğer yönlerdeki yüzeyler serbest bırakılmıştır. Tüm çalışma boyunca çekme işlemleri x doğrultusu boyunca uygulanmıştır. Çekme işlemi uygulanmadan önce sistemi dengeye getirmek için 5×10^4 MD benzetim adımı kullanılmıştır.



Şekil 1. Tek kristal Nb nano telinin başlangıç yapısı..

Nb nano telinin erime sıcaklığını belirlemek amacıyla 1700 K sıcaklığında nano tel dengeye getirilerek yapının bcc fazda kararlı kaldığı belirlendi ve model sistemin sıcaklığı 1700 K den 3400 K'e 100 K aralıklarla arttırıldı. Her sıcaklık değerinde sistem dengeye ulaşması için 5×10^4 MD adımı bekletildi. Erime sıcaklığının hassas belirlenmesi için sıcaklık değeri 2300 K den 2800 K'e 50 K aralıklarla arttırıldı. Çalışma sonunda her sıcaklık değeri için birim atom başına bağlanma enerjisi olan kohesif enerji (E_c)'nin son 5000 MD adımı üzerinden ortalaması alındı. Elde edilen sonuçlar Şekil 2'de gösterilmiştir. Sıcaklık 2400 K e ulaştığında enerjide bir süreksizlik meydana gelmektedir. Kohesif enerjide meydana gelen bu süreksizlik yapının katı fazdan sıvı faza geçişinin bir göstergesidir (Karimi ve ark., 1997). Model Nb nano tel sistemi için erime sıcaklığı 2425 ± 25 K olarak belirlenmiştir. Nb bulk elementinin deneysel olarak erime sıcaklığı 2750 K dir (Ishikawa ve ark., 2003). Birçok çalışma geniş yüzey-hacim oranından dolayı nano tellerin bulk sistemlerin erime sıcaklığından daha düşük erime sıcaklığına sahip olduğunu göstermektedir (Li ve ark., 2005; Pullini ve ark., 2007; Locharoenrat ve ark., 2007). Bununla birlikte nano telin boyutu ve yapısı erime sıcaklığı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Wang ve ark., 2003).

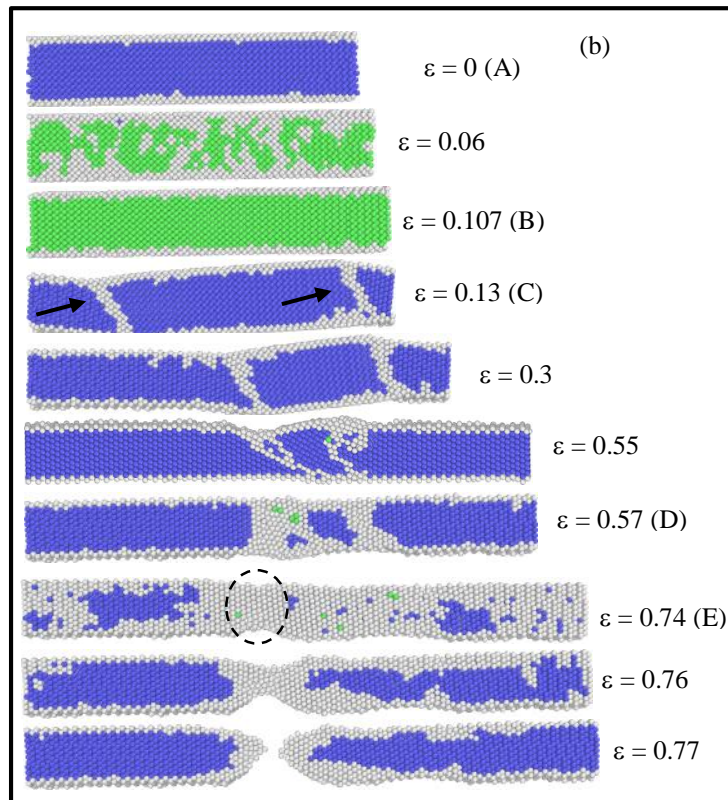
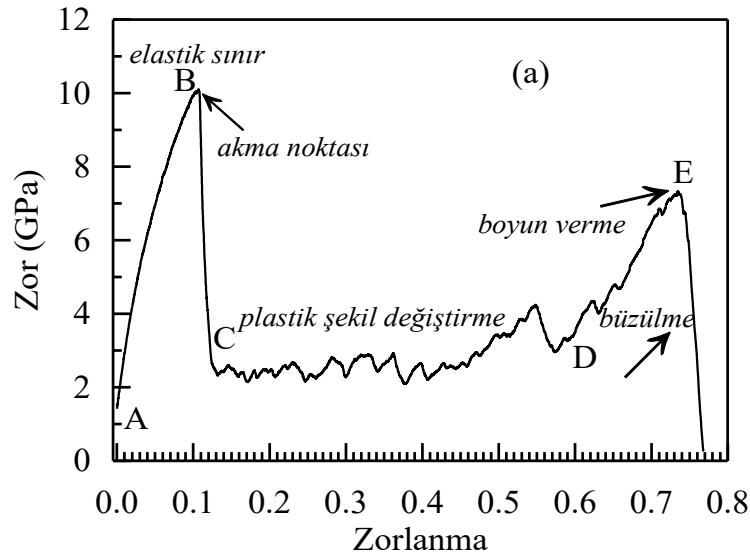


Şekil 2. Sıcaklıkla birim atom başına bağlanma enerjisinin (E_c) değişimi

Tek eksenli çekme çalışmalarında ilk olarak 10 K sıcaklığında Nb nano telinin kopma gerçekleşene kadar gerilme davranışı incelendi. Şekil 3 (a-b)'de sırasıyla nano telin $1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ zorlanma oranındaki zor-zorlanma eğrisi ve çekme işlemi esnasında farklı MD adımlarında OVITO programından aCNA analizi ile elde edilen atomik konumlar verilmiştir (Stukowski, 2010). Şekil 3(a)'da verilen zor-zorlanma eğrisinde iki pik ve ortada düz bir bölge şeklindeki değişim açıkça görülmektedir. AB bölgesinde zor, zorlanmanın artışı ile 0.03 değerine kadar hemen hemen doğrusal bir değişim sergilemektedir. Bu değerden sonra B noktasına kadar doğrusal değişimden bir miktar sapma görülmektedir. Zor-zorlanma grafiğinde AB noktaları arası elastik bölge olarak ifade edilir.

Zordaki ani düşüşün başlamadan önceki ulaştığı en yüksek değer (B noktası) akma zoru olarak bilinmektedir. Kritik bir zorlanma değerine ulaşıldıktan sonra zorda ani bir düşüşün meydana geldiği görülmektedir (C noktası). Zor-zorlanma grafiğindeki bu ani azalma model sistemde meydana gelen plastik deformasyonun başlangıcının bir göstergesidir. Akma zoru değerine karşılık gelen zorlanmanın üzerinde bir zorlanma malzemeye uygulandığında plastik şekil değişimi başlamış olur ve kayma mekanizması devreye girer. Başka bir ifadeyle dislokasyonlar hareket etmeye başlar ve plastik şekil değiştirme meydana gelmiş olur. Bu durum C noktasından D noktasına kadar olan geniş bir zorlanma aralığıdır ve zorda önemli bir değişim görülmez. D noktasına gelindiğinde zor-zorlanma eğrisi zorlanma işleminin başlangıcında olduğu gibi bir değişim sergilemeye başlar (DE aralığı). Zorlanma devam ettikçe ikinci maksimum değerden sonra zor aniden sıfıra düşer. Bu durum nano telin kopmasına karşılık gelir. Zor-zorlanma grafiğinde görülen deformasyon evreleri başka metalik nano teller için yapılan çalışmalarda da gözlemlenmiştir (Landman ve ark., 1996; Li ve ark., 2010). Bu çalışmada, çekme işlemi esnasında model sistemdeki atomların etrafında oluşan fcc, hcp, bcc gibi bölgesel yapıların yüzdesini belirlemek için Honeycutt ve Andersen tarafından önerilen aCNA topolojik analiz yöntemi kullanıldı. aCNA analizi kristal yapıların yığılma kusurları, tane sınırları, deformasyon ve değişik fazlar gibi yapısal gelişimlerini belirlemek için kullanılan yararlı bir karakterizasyon tekniğidir. aCNA algoritması, bir referans atomu etrafındaki en yakın komşuların geometrik bir analizini gerçekleştirir. Radyal dağılım fonksiyonunun ilk iki tepe noktası arasındaki minimum değeri ile seçilen atomların belirli bir mesafe içerisindeki dizilimleri tek tek analiz edilir (Bañuelos ve ark., 2016). Bu analizde model sistemdeki her bir atom, bir atom ve en yakın komşuları arasındaki bağlar tarafından belirlenen bölgesel kristal yapılara göre sınıflandırılır. Bu nedenle burada atomlar fcc, hcp, bcc ve “diğer” olmak üzere 4 sınıfa ayrılır. Bölgesel bir fcc düzenindeki atomlar fcc atomları olarak kabul edilir. Bölgesel bir hcp düzenindeki atomlar, fcc kristalinde oluşan yığılma kusuru yapılar olarak görülen hcp atomları olarak dikkate alınır. Diğer tüm yerel düzenlenmelerdeki atomlar ise “diğer” atomlar olarak adlandırılır (Fanga ve ark., 2020). aCNA metodu mekanik deformasyon esnasında mikroyapısal gelişimleri analiz etmek için kullanıldı. Şekil 3(b)’de yukarıda ifade edilen zor-zorlanma tepkisinin açıklanmasına katkıda bulunmak amacıyla Nb nano telinin farklı MD adımlarındaki OVITO programından elde edilmiş atomik görüntüleri ve aCNA analizi görülmektedir. Mavi bcc, yeşil fcc kırmızı hcp ve beyaz renk “diğer” olarak adlandırılan ve bu yapıların haricindeki bölgesel yerleşme gösteren atomları temsil etmektedir. Nano telin (010) düzlem kesitinden alınan atomik görüntüsü $\epsilon=0$ için gerilme uygulanmadan önceki zor-zorlanma eğrisindeki A noktasına aittir. Yapının %61.6 sını bcc ve %38.4 u diğer yapılar olarak belirlenmiştir. Nano telin y ve z doğrultularında periyodik sınır şartları uygulanmadığından telin yüzeyindeki ve yüzeye yakın atomlar bcc birim hücre yapısı olarak değerlendirilmemiştir. $\epsilon=0.06$ değeri ile en yüksek zor değerine karşılık gelen $\epsilon=0.107$ değeri arasındaki elastik bölgenin doğrusallıktan bir miktar saptığı bölgede zorlanmanın artışı ile yapı içerisinde fcc birim hücreli bölgelerin arttığı görülmektedir. Zorlanmanın artması ile örgü içi zorların, yapının bcc birim hücreli yapıdan fcc birim hücreli yapıya bir dönüşüm göstermesine sebep olduğu söylenebilir. Bununla birlikte zorun ulaştığı en yüksek değer olarak adlandırılan akma zoru noktasında (B noktası) model nano telin %58.9 unun fcc ve kalan %41.1 lik bölümünün de diğer yapılardan oluştuğu aCNA analizinden görülmektedir. Zorlanmanın artırılmasıyla akma zor değeri olan B noktasından C noktasına ani bir düşme sonucu yapı içerisindeki fcc birim hücreli yapıların yeniden bcc hücreli yapılara dönüştüğü açıkça belirlenmiştir. Bu ani düşüşten sonra nano telde ikizlenmelerin oluştuğu görülmektedir. Ok işaretleri yapı içerisindeki ikizlenme sınırlarını göstermektedir. $\epsilon=0.13$ den $\epsilon=0.57$ ye kadar artan zorlanma değerlerinde nano teldeki ikizlenmelerin

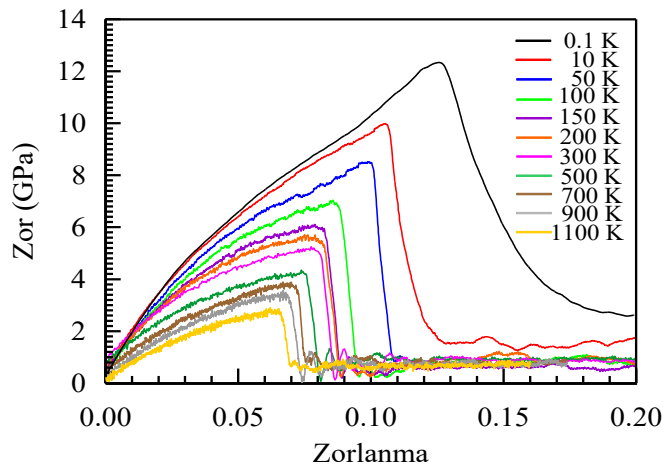
hareket ettiği ve nano telin kristalografik olarak yeniden yönelim içerisine girdiği belirlenmiştir (Ikeda ve ark., 1999). Bu durumda nano tel plastik şekil değişimine maruz kalmaktadır. $\varepsilon = 0.74$ değerine ulaştığında ikizlenmeler kaybolmuş ve yeniden yönelimin tamamlanmıştır. $\varepsilon = 0.74$ değerinde nano telin şekilde daire içerisinde gösterilen bölgesinde boyun verdiği, $\varepsilon = 0.76$ değerinde ise büzülme meydana geldiği görülmektedir. $\varepsilon = 0.77$ değerinde zor sıfırdır ve kopma gerçekleşir. Bu çalışmada model sistem, uygulanan tek eksenli çekme sonucu ikizlenme mekanizmasıyla deformasyona uğramış, bu sıcaklık değerinde kayma davranışı ve dislokasyonlar gözlenmemiştir.



Şekil 3. 10 K sıcaklık değerinde $1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ zorlanma oranında Nb nano teli için (a) zor zorlanma eğrisi, (b) farklı zorlanma değerlerinde aCNA yönteminden elde edilen atomik görüntüler

Şekil 4'te 0.1 K-1100 K aralığında 11 farklı sıcaklık değeri için tek kristal Nb nano teline [100] doğrultusu boyunca uygulanan çekme işlemi sonucu elde edilen zor-zorlanma eğrileri verilmiştir. $1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ zorlanma oranı her sıcaklık değeri için model sisteme uygulanmıştır. Her sıcaklık değeri için zor-zorlanma grafiği düşük zorlanmalarda ($\epsilon < 0.04$) doğrusal bir değişim sergilemekte, bununla birlikte artan zorlanma ile akma meydana gelmeden önce hafifçe doğrusal olmayan bir davranış göstermektedir. Doğrusallıktan sapmanın yüksek sıcaklıklarda biraz daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bilindiği gibi termal etkili atomik titreşimler sıcaklık artışıyla baskın hale gelir ve bu da Nb-Nb bağlarının kolayca deforme olmasına sebep olur. Bu durum nano telin gerilmesi esnasında zorlanmaya karşı zorun tepkisinin doğrusal olmayan bir davranış sergilemesine sebep olur. Bu tür davranışlar diğer metalik nano tellerde de gözlemlenmiştir (Saha ve ark., 2017).

Şekil 4'ten her bir sıcaklık değeri için elastiklik modülü belirlenmiştir. Model Nb nano tel sisteminin artan sıcaklık değerleri için elastiklik modülünün, akmanın meydana geldiği maksimum zorlanmanın ve akma zorunun değişimleri Tablo 1'de verilmiştir. Artan sıcaklık elastiklik modülünün değerini azaltmaktadır (Wang ve ark., 2008). Maddeye uygulanan kuvvet altında elastik şekil değiştirmesinin bir ölçüsü olarak bilinen elastiklik modülünün yüksek değerleri o maddenin elastik özelliğinin azaldığını göstermektedir. Erime sıcaklığında atomlar arası çekim kuvveti olmadığından, elastiklik modülü değeri sıfıra yaklaşır (Koh ve ark., 2005). Elastiklik modülü, elastik bölgede zor-zorlanma eğrisinin doğrusal değişiminin regresyon analizi sonucu belirlenmiştir. 0.1 K sıcaklık değeri için bu işlem doğrusal değişim sergilendiği 0-0.025 zorlanma aralığında gerçekleştirildi. Diğer sıcaklık değerleri içinde bu doğrusal değişim aralıkları tespit edilerek elastik modülü değerleri hesaplanmıştır. Zorun hızlı bir düşüş gösterdiği kritik zorlanma değerinde model sistem plastik deformasyona uğramaktadır. Dislokasyon çekirdeklenmesinin, kayma ve ikizlenmelerin meydana gelmeye başladığı bu maksimum zor değeri akma zoru olarak bilinmektedir (Zhang ve ark., 2018). Önemli materyal özelliklerinden olan akma zoru, geri çevrilemeyen plastik deformasyonun başlangıcıyla ilişkili bir zor seviyesidir (Schiotz ve ark., 1998). Tablo 1'den sıcaklığın artmasıyla akma zoru değerinin azaldığı açıkça görülmektedir. Yüksek sıcaklık değerlerinde atomik yapı yüksek entropiye sahiptir. Atomlar denge konumları etrafında sıcaklığa bağlı olarak büyük genliklerle titreşirler. Düşük sıcaklık değerleriyle karşılaştırıldığında yüksek sıcaklıklarda yeterli kinetik enerjiyi kazanan çok sayıda atom aktivasyon enerji engelini aşar ve deformasyon meydana gelir. Bu durum ikizlenmelerin yayılması ve yok olmasına sebep olduğundan dolayı zor değerinde bir azalmaya neden olur. Elde edilen sonuçlardan termal sürecin Nb nano telinin uzamasında aktif bir rol oynadığı söylenebilir (Wen ve ark., 2008; Jing ve ark., 2009).



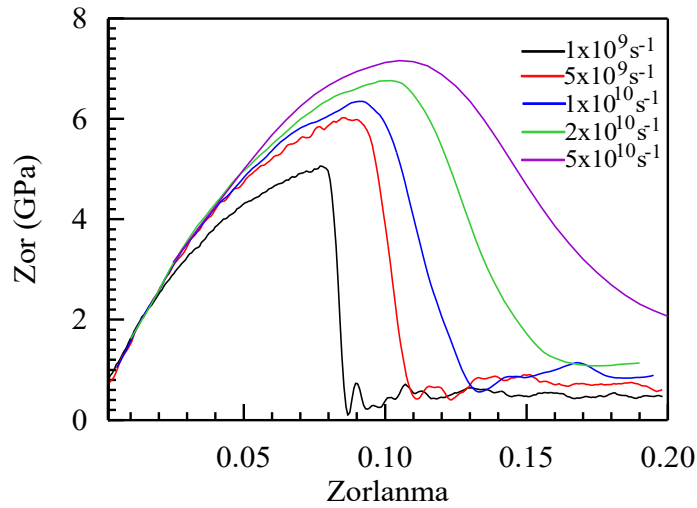
Şekil 4. 11 farklı sıcaklık değeri için $1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ zorlanma oranında elde edilmiş zor-zorlanma eğrisi

Tablo 1. Nb nano telinin $1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ zorlanma oranı için farklı sıcaklık değerlerinde bazı mekanik özelliklerin değerleri

T (K)	Elastiklik Modülü (GPa)	Maksimum zorlanma	Akma Zoru (GPa)
0.1	137.3	0.126	12.46
10	127.4	0.105	10.26
50	120.1	0.099	8.65
100	112.1	0.085	7.22
150	106.1	0.081	6.21
200	99.3	0.079	5.85
300	92.1	0.075	5.17
500	77.1	0.073	4.48
700	64.5	0.071	4.02
900	60.1	0.068	3.78
1100	58.1	0.056	2.81

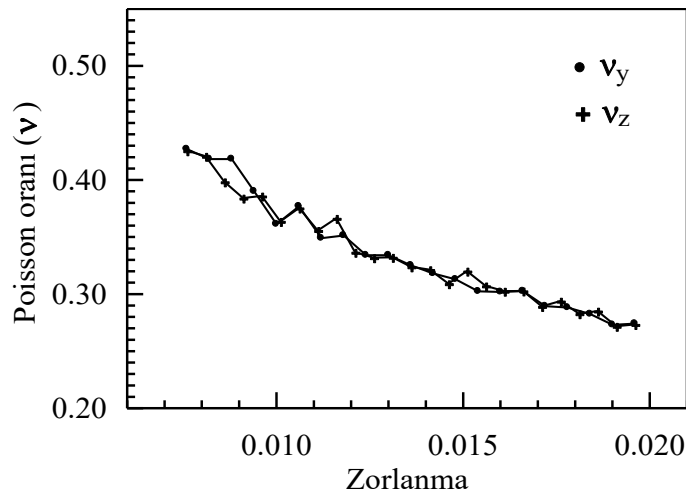
Akma zorunun 300 K sıcaklığında 5.38 GPa olan değeri hacimsel yapıdaki (bulk) Nb elementinin deneysel akma zoru değeri olan 0.07 GPa değerinden oldukça yüksek değerde tespit edilmiştir. Benzetim çalışmaları sonucu elde edilen akma zoru değerinin deneysel değerden farklı çıkmasında en büyük etken benzetim çalışmalarında kullanılan Nb model sisteminde deformasyon sürecini destekleyen herhangi bir kusur, dislokasyon, boşluk ve safsızlık bulunmaması gösterilebilir. Bununla birlikte nano telin boyutları da akma zorunu etkileyen faktörlerden biridir. Ayrıca bu çalışmada deneysel değerlerle karşılaştırıldığında kullanılan zorlanma oranları oldukça yüksektir. Çünkü MD nin zaman ölçeği atomik hareketlilik tarafından belirlendiği için çok kısa bir süre benzetim yapılabilir. Kısa zaman ölçeğinin bir sonucu olarak mevcut zamanda uygun bir deformasyon için yüksek bir zorlanma oranı gereklidir (Wen ve ark., 2008).

Nb nano tel model sisteminin $1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$, $5 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$, $1 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$, $2 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$ ve $5 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$ zorlanma oranları için elde edilen zor-zorlanma eğrileri 300 K sıcaklık değeri için Şekil 5'te verilmiştir. Bütün zorlanma oranları için zor değerinin, zorlanmanın 0.03 değerine kadar doğrusal olarak arttığı açıkça görülmektedir. Elastik bölge olarak bilinen bu bölgede zor-zorlanma eğrisi uygulanan bütün zorlanma oranları için aynıdır. Bundan dolayı model sistem için elastik özelliklerin zorlanma oranına bağlı olmadığı ifade edilebilir. Ayrıca elastiklik modülünün zorlanma oranına bağlı olmaması, tek kristallerde aynı kristalografik yönlerde oluşan elastik deformasyon esnasında bağların aynı gerilme değerleri için aynı atomlararası kuvvete ihtiyaç duymasından kaynaklandığını göstermektedir. Benzer şekilde farklı zorlanma oranlarında olsa bile aynı kristal doğrultularında ikizlenmelerin çekirdeklenmesi için aynı zor gereklidir. Bu nedenle de elastiklik modülünün zorlanma oranından bağımsız olduğu söylenebilir (Karimi ve ark., 1997). Zor-zorlanma grafiğinde elastik deformasyonun meydana geldiği doğrusal bölgenin regrasyon analizi sonucu elastiklik modülü 92.1 GPa olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte Nb nano teli için akma zoru $1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$, $5 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$, $1 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$, $2 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$ ve $5 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$ zorlanma oranları için sırasıyla 5.17 GPa, 6.02 GPa, 6.39 GPa, 6.78 GPa ve 7.18 GPa olarak belirlenmiştir. Zorlanma oranının artmasıyla akma zor değerinin arttığı açıkça görülmektedir. Zorlanma oranının artmasıyla model sistemin plastik deformasyona uğraması için daha yüksek zorlara ihtiyaç duyulduğu söylenebilir.



Şekil 5. 5 farklı zorlanma oranı için 300 K sıcaklık değerinde belirlenen zor-zorlanma eğrisi

Maddelerin deformasyonunu belirleyen önemli bir parametre de Poisson oranı (ν) dır. Bir maddeye elastik bölge sınırları içinde çekme ve sıkıştırma şeklinde bir zor uygulandığında atomlar birbirine yaklaşacak veya uzaklaşacağından hacimde bir değişiklik meydana gelecektir. Zorlanma yönüne dik yöndeki doğrultularda meydana gelen değişim Poisson oranı ile hesaplanır. Eğer malzemeye x yönünde bir çekme uygulanırsa y ve z yönlerindeki Poisson oranı $\nu_y = -\varepsilon_y/\varepsilon_x$ ve $\nu_z = -\varepsilon_z/\varepsilon_x$ olarak hesaplanır. Burada ε_x , ε_y ve ε_z sırasıyla x, y ve z yönlerindeki zorlanmaları göstermektedir. Poisson oranı bütün metaller için hemen hemen 0.28 ile 0.34 arasında değer almaktadır (Yang ve ark., 2017). Malzeme plastik deformasyona maruz kaldıktan sonra birim hücrede bir sıkışma veya genleşme meydana gelmediğinden dolayı hacim sabit kalmaktadır ve bu durumda Poisson oranı 0.5 değerini alır. Şekil 6 te Nb model sistemine elastik sınırları içinde uygulanan zorlanmaya karşı y ve z yönlerinde hesaplanan Poisson oranının değişimi görülmektedir. Bu değişimin ortalama değerleri alındığında y ve z yönlerindeki Poisson oranları $\nu_y = 0.381$ ve $\nu_z = 0.379$ olarak belirlenmiştir. Deneysel olarak Nb nano telinin Poisson oranı bulunmamakla birlikte hacimsel yapıdaki Nb için Poisson oranı 0.40 değerindedir.



Şekil 6: 300 K sıcaklık ve $1 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ zorlanma oranı için elastik bölgede elde edilen Poisson oranının zorlanma değeri ile değişimi

SONUÇ

Atomlar arası etkileşmelerin GAM potansiyel fonksiyonu ile temsil edildiği Nb nano tel sisteminin [100] doğrultusu boyunca farklı sıcaklık ve zorlanma oranları altındaki mekanik davranışları MD benzetim yöntemi kullanılarak incelendi. Model sistemin mekanik davranışlarına sıcaklık ve zorlanma oranı etki etmektedir. Sıcaklık artışı, atomların büyük genlikli termal titreşimlerini önemli derecede arttırdığından bağ kuvvetlerini zayıflatmakta ve elastik modülünü azaltmaktadır. Bununla birlikte akma zorunun, sıcaklığın artmasıyla ve zorlanma oranının azalmasıyla azaldığı belirlenmiştir. Farklı zorlanma oranlarının elastik bölge sınırları içerisinde nano telin elastiklik modülü üzerinde bir etkisi yoktur. Nano teldeki plastik deformasyonun ikizlenmelerin çekirdeklenmesi ve yayılmasından dolayı meydana geldiği söylenebilir.

Çıkar Çatışması

Çalışma hazırlanırken; veri toplanması, sonuçların yorumlanması ve makalenin yazılması aşamalarında herhangi bir çıkar çatışması alanı bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

Çalışma hazırlanması; veri toplanması, sonuçların yorumlanması ve makalenin yazılması gibi tüm aşamalarda katkı tamamen yazara aittir.

KAYNAKLAR

- Abdeslam S, Chihi T, 2018. Molecular dynamics study of size and cooling rate effects on physical properties of Niobium nanoclusters. *Chinese Journal of Physics*, 56: 2710–2717.
- Arnold MS, Avouris P, Pan ZW, Wang ZL, 2003. Field-effect transistors based on single semiconducting oxide nanobelts. *Journal of Physical Chemistry B*, 107(3): 659-663.
- Bañuelos EU, Aburto CC, Arce AM, 2016. A common neighbor analysis of crystallization kinetics and excess entropy of charged spherical colloids. *The Journal of Chemical Physics*, 144: 094504.
- Cai J, Ye YY, 1996. Simple analytical embedded-atom-potential model including a long-range force for fcc metals and their alloys. *Physical Review B*, 54: 8398.
- Changwook K, Wenhua G, Martha B, Ian MR, Hyungsoo C, Kyekyoon K, 2008. Copper Nanowires with a Five-Twinned Structure Grown by Chemical Vapor Deposition. *Advanced Materials*, 20: 1859–1863.
- da Silva EZ, Novaes FD, da Silva AJR, 2004. Theoretical study of the formation, evolution, and breaking of gold nanowires. *Physical Review B*, 69: 115411.
- Davoodi J, Ahmadi M, 2012. Molecular Dynamics simulation of elastic properties of CuPd nanowire. *Composites: Part B*, 43: 10-14.
- Divya S, Avinash P, 2018. Effect of symmetric and asymmetric tilt grain boundaries on the tensile behaviour of bcc-Niobium. *Computational Materials Science*, 143: 126-132.
- Fanga R, Wanga W, Guoa L, Zhanga K, Zhanga X, Lib H, 2020. Atomic insight into the solidification of Cu melt confined in graphene Nanoslits. *Journal of Crystal Growth*, 532: 125382.
- Fellinger MR, Park H, Wilkins JW, 2010. Force-matched embedded-atom method potential for niobium. *Physical Review B*, 81: 144119.
- Finnis MW, Sinclair JE, 1984. A simple empirical N-body potential for transition metals. *Philosophical Magazine*, 50: 45-55.

- Gan Y, Chen JK, 2009. Molecular dynamics study of size, temperature and rate dependent thermomechanical properties of copper nanofilms. *Mechanics Research Communications*, 36: 838-844.
- Gao Y, Sun Y, Yang X, Sun Q, Zhao J, 2016. Investigation on the mechanical behaviour of faceted Ag nanowires. *Molecular Simulation*, 42(3): 220-228.
- Godet J, Pizzagalli L, Guillotte M, 2019. Molecular dynamics study of mechanical behavior of gold-silicon core-shell nanowires under cyclic loading. *Acta Materialia*, 5: 100204.
- Grill R, Gnadenberger A, 2006. Niobium as mint metal: Production-properties-processing. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*, 24(4): 275-282.
- Güder V, Çeltek M, 2020. CuTi nanotellerinin germe oranı ve boyuta bağlı mekanik davranışı. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9(2): 24-34.
- Horstemeyer MF, Baskes MI, Plimpton SJ, 2001. Length scale and time scale effects on the plastic flow of fcc metals. *Acta Materialia*, 49: 4363-4374.
- Huang MH, Mao S, 2001. Room-temperature ultraviolet nanowire nanolasers. *Science*, 292: 5523.
- Ikeda H, Qi Y, Çagin T, Samwer K, Johnson WL, Goddard WA, 1999. Strain rate induced amorphization in metallic nanowires. *Physical Review Letters*, 82: 2900-2903.
- Ishikawa T, Paradis PF, Itami T, Yoda S, 2003, Non-contact thermophysical property measurements of refractory metals using an electrostatic levitator. *The Journal of Chemical Physics*, 118: 7912–7920.
- Jacobus K, Sehitoglu H, Balzer M, 1996. Effect of stress state on the stress-induced martensitic transformation in polycrystalline Ni-Ti alloy. *Metallurgical and Materials Transactions A*, 27(A): 3066-3073.
- Jing Y, Meng Q, Zhao W, 2009. Molecular dynamics simulations of the tensile and melting behaviours of silicon nanowires. *Physica E*, 41: 685-689.
- Karimi M, Stapay G, Kaplan T, Mostoller M, 1997. Temperature dependence of the elastic constants of Ni: reliability of EAM in predicting thermal properties. *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering*, 5: 337.
- Koh SJA, Lee HP, Lu C, Cheng QH, 2005. Molecular dynamics simulation of a solid platinum nanowire under uniaxial tensile strain: Temperature and strain-rate effects. *Physical Review B*, 72: 085414.
- Krüger D, Fuchs H, Rousseau R, Marx D, Parrinello M, 2002. Pulling Monatomic Gold Wires with Single Molecules: An Ab Initio Simulation. *Physical Review Letters*, 89: 186402.
- LAMMPS, <http://lammps.sandia.gov/>. LAMMPS Molecular Dynamics Simulator (Erişim Tarihi:02.04.2021).
- Landman U, Luedtke WD, Salisbury BE, Whetten RL, 1996. Reversible Manipulations of Room Temperature Mechanical and Quantum Transport Properties in Nanowire Junctions. *Physical Review Letters*, 77: 1362.
- Lee K, Wu Z, Chen Z, Ren F, Pearton SJ, Rinzler AG, 2004. Single wall carbon nanotubes for p-type ohmic contacts to GaN light-emitting diodes. *Nano Letters*, 4: 911-914.
- Legoas SB, Galvao DS, Rodrigues V, Ugarte D, 2002. Origin of Anomalously Long Interatomic Distances in Suspended Gold Chains. *Physical Review Letters*, 88: 076105.
- Li H, Pederiva F, Wang BL, Wang JL, Wang GH, 2005. How does the nickel nanowire melt? *Applied Physics Letters*, 86: 011913.

- Li J, Hu L, Wang L, Zhou Y, Gruner G, Marks TJ, 2006. Organic light-emitting diodes having carbon nanotube anodes. *Nano Letters*, 6: 2472-2477.
- Li S, Ding X, Deng J, 2010. Superelasticity in bcc nanowires by a reversible twinning mechanism. *Physical Review B*, 82: 205435.
- Liang WW, Zhou M, 2003. Size and strain rate effects in tensile deformation of Cu nanowires. *Nanotechnology*, 2: 452-455.
- Locharoenrat K, Sano H, Mizutani G, 2007. Phenomenological studies of optical properties of Cu nanowires. *Science and Technology of Advanced Materials*, 8: 277-281.
- Malins A, Williams SR, Eggers J, Royall CP, 2013. Identification of structure in condensed matter with the topological cluster classification. *The Journal of Chemical Physics*, 139: 234506.
- Marszalek PE, Greenleaf WJ, Li HB, Oberhauser AF, Fernandez JM, 2000. Atomic force microscopy captures quantized plastic deformation in gold nanowires. *PNAS*, 97: 6282-6286.
- Park HS, Gall K, Zimmerman JA, 2005. Shape Memory and Pseudoelasticity in Metal Nanowires. *Physical Review Letters*, 95: 255504.
- Park HS, Ji C, 2006. On the thermomechanical deformation of silver shape memory nanowires. *Acta Materialia*, 54: 2645.
- Park HS, Zimmerman JA, 2005. Modeling inelasticity and failure in gold nanowires. *Physical Review B*, 72: 054106.
- Parrinello M, Rahman A, 1980. Crystal structure and pair potentials: a molecular-dynamics study. *Physical Review Letters*, 45(11): 1196.
- Parrinello M, Rahman A, 1981. Polymorphic transitions in single crystals: a new molecular dynamics method. *Journal of Applied Physics*, 52(12): 7182-7190.
- Pasquier A, Unalan HE, Kanwal A, Miller S, Chhowalla M, 2005. Conducting and transparent single-wall carbon nanotube electrodes for polymer-fullerene solar cells. *Applied Physics Letters*, 87: 203511.
- Pullini D, Innocenti G, Busquets D, Ruotolo A, 2007. Investigation of multilayer local tilt within long portion of single Co/Cu nanowires. *Applied Physics Letters*, 90: 133106.
- Rawat S, Mitra N, 2020. Twinning, phase transformation and dislocation evolution in single crystal titanium under uniaxial strain conditions: A molecular dynamics study. *Computational Materials Science*, 172: 109325.
- Saha S, Motalab M, Mahboob M, 2017. Investigation on mechanical properties of polycrystalline W nanowire. *Computational Materials Science*, 136: 52-59.
- Sainath G, Choudhary BK, 2016. Orientation dependent deformation behavior of bcc iron nanowires. *Computational Materials Science*, 111: 406-415.
- Saitoh KI, Liu WK, 2009. Molecular dynamics study of surface effect on martensitic cubic-to-tetragonal transformation in Ni-Al alloy. *Computational Materials Science*, 46: 531-544.
- Salehinia I, Bahr DF, 2014. Crystal orientation effect on dislocation nucleation and multiplication in fcc single crystal under uniaxial loading. *International Journal of Plasticity*, 52: 133-146.
- Schiotz J, Tolla FDD, Jacobsen KW, 1998. Softening of nanocrystalline metals at very small grain sizes. *Nature*, 391: 561-563.
- Singh D, Sharma P, Jindal S, Kumar P, Kumar P, Parashar A, 2019. Atomistic simulations to study crack tip behaviour in single crystal of bcc niobium and hcp zirconium. *Current Applied Physics*, 19:37-43.

- Singh D, Sharma P, Parashar A, 2020. Atomistic simulations to study point defect dynamics in bi-crystalline niobium. *Materials Chemistry and Physics*, 255: 123628.
- Stukowski A, 2010. Visualization and analysis of atomistic simulation data with OVITO—the Open Visualization Tool. *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering*, 18(1): 015012.
- Stukowski A, 2012. Structure identification methods for atomistic simulations of crystalline materials. *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering*, 20: 045021.
- Suresh S, Li J, 2008. Deformation of the ultra-strong. *Nature*, 456: 716–717.
- Sutton AP, Chen J, 1990. Long-range Finnis-Sinclair potentials. *J. Philosophical Magazine Letter*, 61: 139-146.
- Voter AF, Chen SP, 1987. Accurate Interatomic Potentials for Ni, Al, and Ni₃Al. *Materials Research Society Symposium Proceedings*, 82: 175.
- Wang BL, Wang GH, Chen XS, Zhao JJ, 2003. Melting behavior of ultrathin titanium nanowires. *Physical Review B*, 67: 193403.
- Wang J, Huang QA, Yu H, 2008. Size and temperature dependence of Young's modulus of a silicon nano-plate. *Journal of Physics D*, 41: 165406.
- Wen YH, Zhang Y, Wang Q, Zheng JC, Zhu ZZ, 2010. Orientation- dependent mechanical properties of Au nanowires under uniaxial loading. *Computational Materials Science*, 48: 513-519.
- Wen YH, Zhu ZZ, Zhu RZ, 2008. Molecular dynamics study of the mechanical behavior of nickel nanowire: Strain rate effects. *Computational Materials Science*, 41: 553-560.
- Yang C, Qi L, 2019. Modified embedded-atom method potential of niobium for studies on mechanical properties. *Computational Materials Science*, 161: 351-363.
- Yang XY, Wu D, 2010. The melting behaviors of the Nb(1 1 0) nanofilm: a molecular dynamics study. *Applied Surface Science*, 256: 3197-3203.
- Yang Z, Yang Q, Zhang G, 2017. Poisson's ratio and Young's modulus in single-crystal copper nanorods under uniaxial tensile loading by molecular Dynamics. *Physics Letters A*, 381: 280-283.
- Yıldız YO, 2021. Ni nanoteller için mühendislik parametreleri ölçeklendirme kuralı. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 26(1): 315-324.
- Zhang L, Lu C, Tieu AK, 2018. Nonlinear elastic response of single crystal Cu under uniaxial loading by molecular dynamics study. *Materials Letters*, 227: 236-239.
- Zhang L, Lua C, Tieu K, Sua L, Zhao X, Peib L, 2017. Stacking fault tetrahedron induced plasticity in copper single crystal. *Materials Science and Engineering A*, 680: 27-38.
- Zhu J, Shi D, 2011. Reorientation mechanisms and pseudoelasticity in iron nanowires. *Journal of Physics D*, 44: 055404.

Atf İçin: Çakır R, 2021. Polarization Effects on Intersubband Absorption in GaN/ZnGeN₂ Quantum Wells. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2772-2781.

To Cite: Çakır R, 2021. Polarization Effects on Intersubband Absorption in GaN/ZnGeN₂ Quantum Wells. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2772-2781.

Polarization Effects on Intersubband Absorption in GaN/ZnGeN₂ Quantum Wells

Raşit ÇAKIR^{1*}

ABSTRACT: The effects of spontaneous and piezoelectric polarizations on the intersubband absorption in the GaN/ZnGeN₂ quantum well are studied. Schrödinger and Poisson equations are solved self-consistently. The first order linear and third order nonlinear absorption coefficients of the intersubband transitions originating from ground and first excited states are calculated. We have presented the results relative to polarization, doping level and well length. The polarization causes the absorption peak to be reduced and shifted to higher energies, and the nonlinear absorption to become weaker, but this effect is slightly reversed with doping. The effect of polarization or doping increases with well length, but they are observed after 26 Å.

Keywords: Quantum well, GaN, ZnGeN₂, piezoelectric polarization, intersubband absorption.

¹Raşit ÇAKIR ([Orcid ID: 0000-0002-7104-9069](https://orcid.org/0000-0002-7104-9069)), Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Rize, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Raşit ÇAKIR, e-mail: rasit.cakir@erdogan.edu.tr

INTRODUCTION

The Zn-IV-N₂ compounds, with the group-IV element Si, Ge, and Sn, have become of interest in recent years. They have potential benefits for photovoltaic applications (Punya and Lambrecht, 2013; Jaroenjittichai et al., 2017), and show promising results for optoelectronic applications (Punya et al., 2011). Their piezoelectric coefficients are comparable in magnitude to those in III-N materials (Paudel and Lambrecht, 2009; Paudel and Lambrecht, 2017), but they have more complex phonon structures (Paudel and Lambrecht, 2008; Paudel and Lambrecht, 2013). The ZnGeN₂ syntheses have been studied by several groups (Zhu et al., 1999; Du et al., 2008; Martinez et al., 2017; Häusler et al., 2017; Tellekamp et al., 2020). The electronic and elastic properties of ZnGeN₂ are similar to those of GaN (Chandra and Kumar, 1999). The calculations using the local density approximation and a GW correction by (Punya and Lambrecht, 2013; Jaroenjittichai et al., 2017) shows that the conduction band minimum of ZnGeN₂ is 1 eV higher than that of GaN, even though the hybrid density functional theory by (Adamski et al., 2020) shows different band alignment properties. The recent studies on the GaN/ZnGeN₂ quantum well have shown positive results. The donor binding energies of the GaN/ZnGeN₂ quantum well is studied by (Yıldırım, 2017). The scattering rate calculations by (Han et al., 2017) shows that the coupled quantum well structure of GaN/ZnGeN₂ is promising for the intersubband transitions in the near-IR. The GaN/ZnGeN₂ quantum multiwells can take high value of absorption coefficient (Laidouci et al., 2018).

Intersubband transitions in quantum wells, that is, the transitions between the states within the conduction band, have been the subject of extensive research, and are used in several devices such as infrared detectors, quantum cascade lasers and nonlinear waveguides for optical switching (Hofstetter et al., 2003; Hamazaki et al., 2004; Sun et al., 2005). The GaN/ZnGeN₂ quantum wells have large conduction band discontinuities, and can show intersubband transitions at short wavelengths. On the other hand, these materials have spontaneous and piezoelectric polarizations, which result in large interface charge densities, and the built-in electric field can affect the intersubband transitions (Gunna et al., 2007).

To understand electronic and optical characteristics, a study on the electron states and the optical absorption is necessary. Various studies show that large optical nonlinearities as compared to the bulk material can be obtained because of the quantum confinement effects (Goldys EM and Shi JJ, 1998; Yılmaz S and Şahin M, 2010; Mora-Ramos ME et al., 2012). The purpose of this paper is to give such a description of intersubband optical absorption in the single GaN/ZnGeN₂ quantum well having the built-in electric field. The effect of incident optical intensity upon the nonlinear optical properties is studied. We investigate the intersubband optical absorption in the presence of optical radiation at the angular frequency ω and with polarization vector along z direction. We focus on the first order linear and third order nonlinear absorption coefficients, which were derived by using the density matrix formalism and perturbation expansion method by Ahn and Chuang, 1987. To the best of our knowledge, there is no report on the nonlinear optical properties of such a quantum well structure. Therefore it would be useful to study the linear and nonlinear optical properties of this structure.

We have studied the single GaN/ZnGeN₂ quantum well with spontaneous and piezoelectric polarizations and doping in the well, and obtained energy eigenvalues and eigenfunctions, dipole matrix elements, and the linear and the third order nonlinear optical intersubband absorption coefficients. The Schrödinger equation and the Poisson equation are discretized by means of finite differences and they are solved self-consistently. We have presented the results relative to well length, doping level and polarization.

MATERIALS AND METHODS

The Hamiltonian for the electrons inside the potential $U(z)$ within the effective mass and envelope function approximation is

$$H = -\frac{\hbar^2}{2m^*} \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \right) + U(z) \quad (1)$$

where m^* is the effective mass and z is the growth direction. The potential term

$$U(z) = \Delta E_c(z) + U_\epsilon(z) - e V_H(z) \quad (2)$$

includes the conduction band offset $\Delta E_c(z)$, the strain induced contribution $U_\epsilon(z)$, and the Hartree potential $V_H(z)$, where $e = |e|$ is the elementary charge. The energy eigenvalues $E_{n,k}$ and eigenfunctions $\psi_{n,k}$ for this Hamiltonian are given as

$$E_{n,k} = E_n + \frac{\hbar^2}{2m^*} |\mathbf{k}_\parallel|^2 \quad (3)$$

$$\psi_{n,k}(\mathbf{r}) = \psi_n(z) \exp(i \mathbf{k}_\parallel \cdot \mathbf{r}_\parallel) \quad (4)$$

where \mathbf{k}_\parallel and \mathbf{r}_\parallel are the wave and position vectors in the xy plane, and E_n is the energy and $\psi_n(z)$ is the wave function of the n th subband in the growth direction (Flügge, 1971).

We solve numerically the Schrödinger equation

$$H_z \psi_n(z) = -\frac{\hbar^2}{2} \frac{\partial}{\partial z} \frac{1}{m^*(z)} \frac{\partial}{\partial z} \psi_n(z) + U(z) \psi_n(z) = E_n \psi_n(z) \quad (5)$$

in the growth direction, where H_z is the z component of the Hamiltonian and $m^* = m^*(z)$ is position dependent. Potential due to the strain is

$$U_\epsilon = 2 \epsilon_1 \left(a_{c\perp} - a_{c\parallel} \frac{C_{13}}{C_{33}} \right) \quad (6)$$

where ϵ_1 is in-plane strain, $a_{c\perp}$ and $a_{c\parallel}$ are deformation potential constants, and C_{13} and C_{33} are elastic stiffness constants. The in-plane strain is

$$\epsilon_1 = \frac{a_0 - a_1}{a_1} \quad (7)$$

where a_0 and a_1 are the lattice constants of the substrate and the material grown.

To get the Hartree potential $V_H(z)$, we solve the Poisson equation

$$\frac{\partial}{\partial z} \epsilon(z) \frac{\partial}{\partial z} V_H(z) = -\rho(z) \quad (8)$$

where the permittivity $\epsilon(z) = \epsilon_0 \epsilon_r(z)$ depends on the position. The volume charge density

$$\rho(z) = e N_D(z) - e n(z) + \rho_{pol}(z) \quad (9)$$

includes the doping density $N_D(z)$, the electron density $n(z)$, and the polarization volume density $\rho_{pol}(z)$. The electron density is obtained by

$$n(z) = \sum_n \frac{k_B T}{\pi \hbar^2} m^*(z) \ln \left[1 + \exp \left(\frac{E_F - E_n}{k_B T} \right) \right] |\psi_n(z)|^2 \quad (10)$$

where the wave functions ψ_n are obtained from the Schrödinger equation, the summation is over the energy levels, E_F is the Fermi energy, k_B is the Boltzmann constant and T is temperature. Polarization volume density is

$$\rho_{pol}(z) = -\frac{\partial P}{\partial z} \quad (11)$$

where $P(z) = P_{SP}(z) + P_{PZ}(z)$ is the total polarization due to the spontaneous polarization and piezoelectric polarization, respectively. The piezoelectric polarization in the growth direction in a wurtzite layer under biaxial strain is

$$P_{PZ} = 2 \epsilon_1 \left(e_{31} - e_{33} \frac{C_{13}}{C_{33}} \right) \quad (12)$$

where e_{31} and e_{33} are the piezoelectric constants (Harrison and Jovanović, 2016).

The first order linear and third order nonlinear absorption coefficients are given, respectively, as

$$\alpha^{(1)} = \frac{\omega}{n_r c \epsilon_0} |\mu_{10}|^2 \frac{\sigma_s \hbar \Gamma_0}{(E_{10} - \hbar\omega)^2 + (\hbar\Gamma_0)^2} \quad (13)$$

$$\alpha^{(3)} = -2\omega \left(\frac{1}{n_r c \epsilon_0} \right)^2 |\mu_{10}|^4 \frac{I \sigma_s \hbar \Gamma_0}{[(E_{10} - \hbar\omega)^2 + (\hbar\Gamma_0)^2]^2} \times \left\{ 1 - \frac{|\mu_{11} - \mu_{00}|^2 (E_{10} - \hbar\omega)^2 - (\hbar\Gamma_0)^2 + 2E_{10}(E_{10} - \hbar\omega)}{4|\mu_{10}|^2 E_{10}^2 + (\hbar\Gamma_0)^2} \right\} \quad (14)$$

where $|\mu_{ij}| = e |\langle \psi_i | z | \psi_j \rangle|$, ($i, j = 0, 1$), are the dipole matrix elements, $E_{10} = E_1 - E_0$ is the energy difference, σ_s is the electron density in the well, Γ_0 is the inverse of the relaxation time, $n_r = \sqrt{\epsilon_r}$ is the refractive index of the well, I is the intensity of the incident light having the frequency of ω , ϵ_0 is the vacuum permittivity, and c is the speed of light in vacuum (Ahn and Chuang, 1987; Yıldırım and Tomak, 2005; Boyd, 2020).

RESULTS AND DISCUSSION

The potential energy profile of the GaN/ZnGeN₂ quantum well and the squared electronic wave functions of the ground and first excited states are shown in Figure 1(a) for the well length of $L_w = 50 \text{ \AA}$ and for the doping density of $N_D = 2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ in the well and zero in the barriers. Each barrier is taken as 400 \AA in all calculations. The conduction band minimum of GaN is 1 eV less than that of ZnGeN₂ (Jaroenjittichai et al., 2017). The parameters used in the calculations can be seen in Table 1. The GaN parameters are from Piprek J, 2007 and the ZnGeN₂ parameters are from Jaroenjittichai et al., 2017; Punya et al., 2011; Punya A, Lambrecht WRL, 2013; Paudel TR, Lambrecht WRL, 2008; Paudel TR, Lambrecht WRL, 2009. Because deformation potential constants of ZnGeN₂ are not available, those of GaN are used in the calculations instead. The effect of the doping is a small curvature in the well, which is hardly seen in the figure, while the polarization causes the potential to be inclined. The curvatures due to doping can be seen clearly in another potential profile in Figure 2(b), drawn for various doping values.

We consider the wurtzite GaN grown on the orthorhombic ZnGeN₂ thick layer in the [0001] direction at $T = 300 \text{ K}$. We take half of the lattice constant of ZnGeN₂ as explained in (Adamski et al., 2020). The well is under tensile strain since $\epsilon_1 = 0.00031 > 0$ and its piezoelectric polarization is $P_{PZ} = -0.00032 \text{ C m}^{-2}$ in the growth direction while the barriers are unstrained and without piezoelectric polarization. The well and the barriers have also their spontaneous polarization values as seen in Table 1.

The electric field and the areal charge density in Figure 1(b) are calculated from $U(z)$ in Eq. (2) as $F = 1/e (dU/dz)$ and $\delta\sigma = \rho\delta z = \epsilon/e (d^2U/dz^2)\delta z$ since ΔE_c , which equals 1 eV on the barriers and zero on the well, and U_e , which equals -3.35 meV on the well and zero on the barriers, are constants except the boundaries. The curvature on the electric field happens due to the doping, and so the charge in the figure is caused by the doping only. The electric field value due to the total polarization only are seen as dashed blue lines in the figure, which are $F_b = -0.72 \times 10^7 \text{ V m}^{-1}$ in the barriers and $F_w = 11.5610^7 \text{ V m}^{-1}$ in the well. The charges due to the total polarization are on the boundaries only, and they have high values as $\pm 706.75 \times 10^{14} \text{ e m}^{-2}$, which cannot be seen on the graph.

Table 1. Material Properties of GaN and ZnGeN₂

Properties	Symbol (unit)	GaN	ZnGeN ₂
Energy gap	E_g (eV)	3.51	3.4
Lattice constant	a_l (Å)	3.189	6.38
Effective mass ratio	m^*/m_0	0.20	0.15
Dielectric constant	ϵ_r	10.4	10.61
Spontaneous polarization	P_{SP} (C m ⁻²)	-0.0339	-0.023
Elastic stiffness constants			
	C_{13} (GPa)	106	103
	C_{33} (GPa)	398	401
Piezoelectric constants			
	e_{31} (C m ⁻²)	-0.338	-0.43
	e_{33} (C m ⁻²)	0.667	0.73
Deformation potential constants			
in growth plane	$a_{c\perp}$ (eV)	-8.2	-8.2
in growth direction	$a_{c\parallel}$ (eV)	-10.7	-10.7

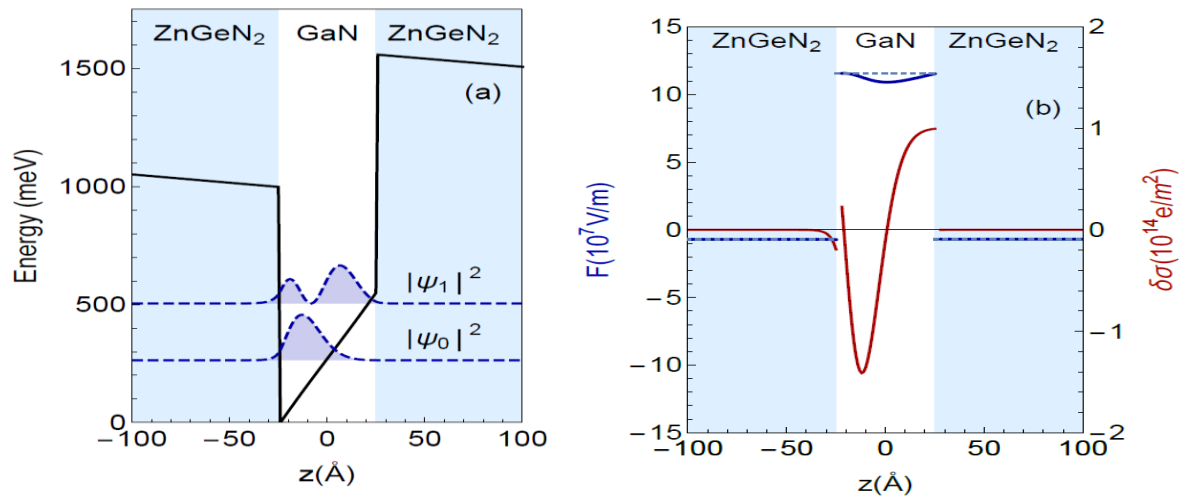


Figure 1. a) The squared electronic wave functions (dashed blue) of the ground and first excited states on the quantum well potential (black), b) the total electric field strength F (solid blue), the electric field value due to the total polarization only (dashed blue), and the areal charge density $\delta\sigma$ (red), for the well length of 50 Å and the doping density of $2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ in the well

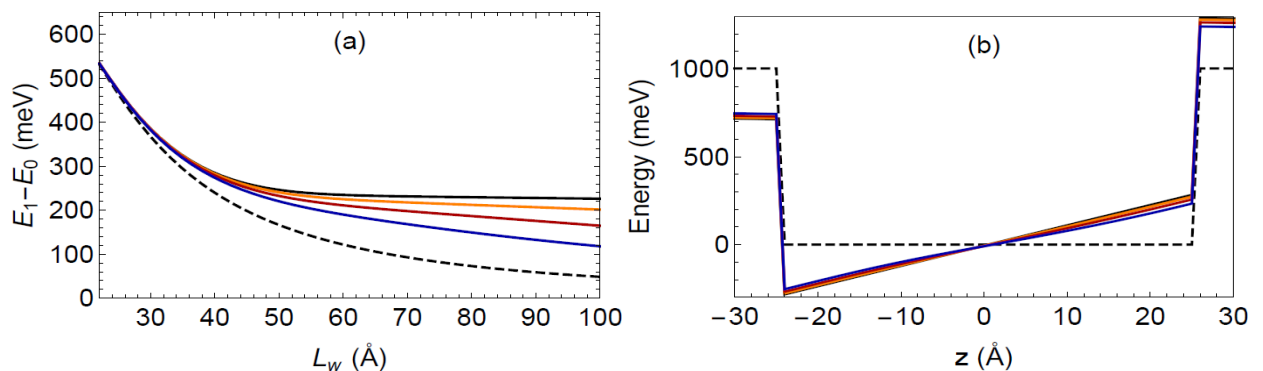


Figure 2. a) The energy difference values between the ground and first excited states $E_1 - E_0$ relative to the well length and b) the potential profiles for the well length $L_w = 50 \text{ Å}$, for the well without polarization or doping (dashed), with polarization but without doping (black), and with polarization and the doping values of $2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ (orange), $5 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ (red) and 10^{25} m^{-3} (blue)

The energy differences between ground and first excited states relative to the well length can be seen in Figure 2(a) for the doping values of $2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$, $5 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ and 10^{25} m^{-3} , additionally for the finite square well (without polarization or doping) and for the triangular well (with polarization only). We can see the effects of polarization and doping on the well potentials in Figure 2(b), and compare these effects with the energy differences. Until the well length of $L_w = 22 \text{ \AA}$, the first excited state wave function is not confined in the well so we have started the well length from that value. From 22 \AA to 26 \AA , the ground state energy is above the band edge so the energy differences are not affected by the triangular shape and they do not differ from that of the finite square well. Greater than 26 \AA , the ground state wave functions position in the triangular region of the potential and these values start to differ. In the triangular potential without doping, the energy difference value reaches a constant value, because the ground and first excited state wave functions do not touch the right interface and they see the same triangular potential shape as the well width increases. However, the energy differences of the doped wells are not constant, and their values differ from each other because of the curvatures on the well bottom.

Figure 3 shows the dipole matrix elements $|\mu_{ij}|$ of the ground and first excited states for the same doping values, and also comparing them with the finite square and triangular wells. The polarization clearly changes the values of the dipole matrix elements, and so reduces the magnitude of $|\mu_{01}|$, even though the doping slightly reduces this effect. When there is doping without any polarization, there is no visible change in the energy difference and the dipole matrix elements from those of the finite square well, which are not shown in the figures, so we can say that these effects are due to the polarization only.

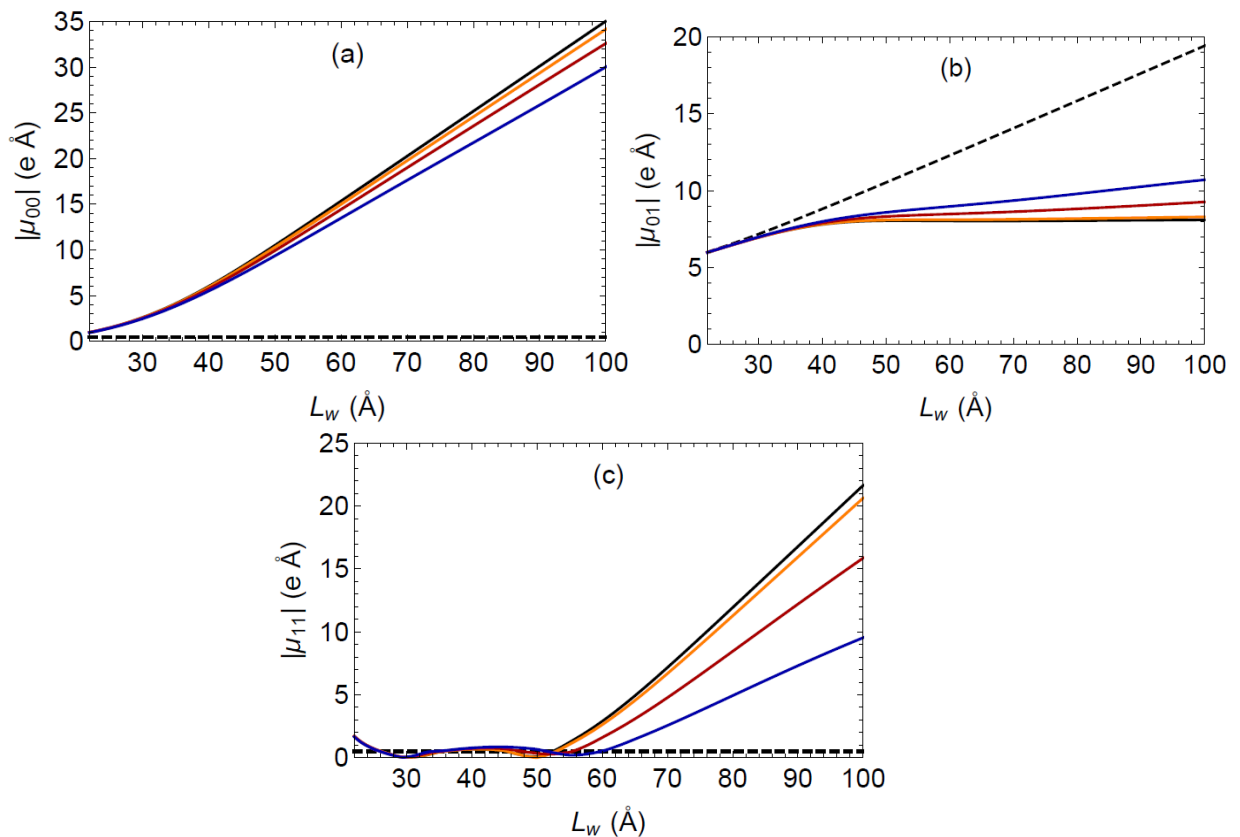


Figure 3. The dipole matrix elements, a) $|\mu_{00}|$, b) $|\mu_{01}|$ and c) $|\mu_{11}|$ between the ground and first excited states, for the well without polarization or doping (dashed), with polarization but without doping (black), and with with polarization and the doping values of $2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ (orange), $5 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ (red) and 10^{25} m^{-3} (blue)

For the calculations of the absorption coefficients, we used $I = 10^{10} \text{ W m}^{-2}$, $n_r = \sqrt{10.4}$ and σ_s as the doping density. In Figure 4 and Figure 5, we can see the total absorption coefficients $\alpha = \alpha^{(1)} + \alpha^{(3)}$ together with the nonlinear coefficients $\alpha^{(3)}$ for $\hbar\Gamma_0 = 60 \text{ meV}$. The nonlinear contribution of $\alpha^{(3)}$ is negligible since it is much smaller than $\alpha^{(1)}$ and so we get $\alpha \approx \alpha^{(1)}$. Figure 4 shows the absorption for the electron densities σ_s of $2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$, $5 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ and 10^{25} m^{-3} , and for the well lengths L_w of 25 Å, 50 Å, 75 Å and 100 Å. The absorption peak shifts to lower energies as the well length or doping increases, since the energy difference values decrease. The peak values are at the $\hbar\omega = E_{10}$ energy values of the corresponding well length as seen in Figure 2(a). We also consider the case with total polarization and the case without any polarization in Figure 5, showing the absorption for the electron density of $\sigma_s = 2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ and for the same L_w values as before. The peak values of the total absorption decrease and shift to higher energies due to the polarization, and the nonlinear absorption is reduced greatly. However, these effects are hardly seen for the case of $L_w = 20 \text{ Å}$ because, until 26 Å, the wave functions behave like the square well wave functions as explained before. The dependency on Γ_0 is obvious in Eq. (13) and (14). The absorption peak value decreases and the curve expands as Γ_0 increases.

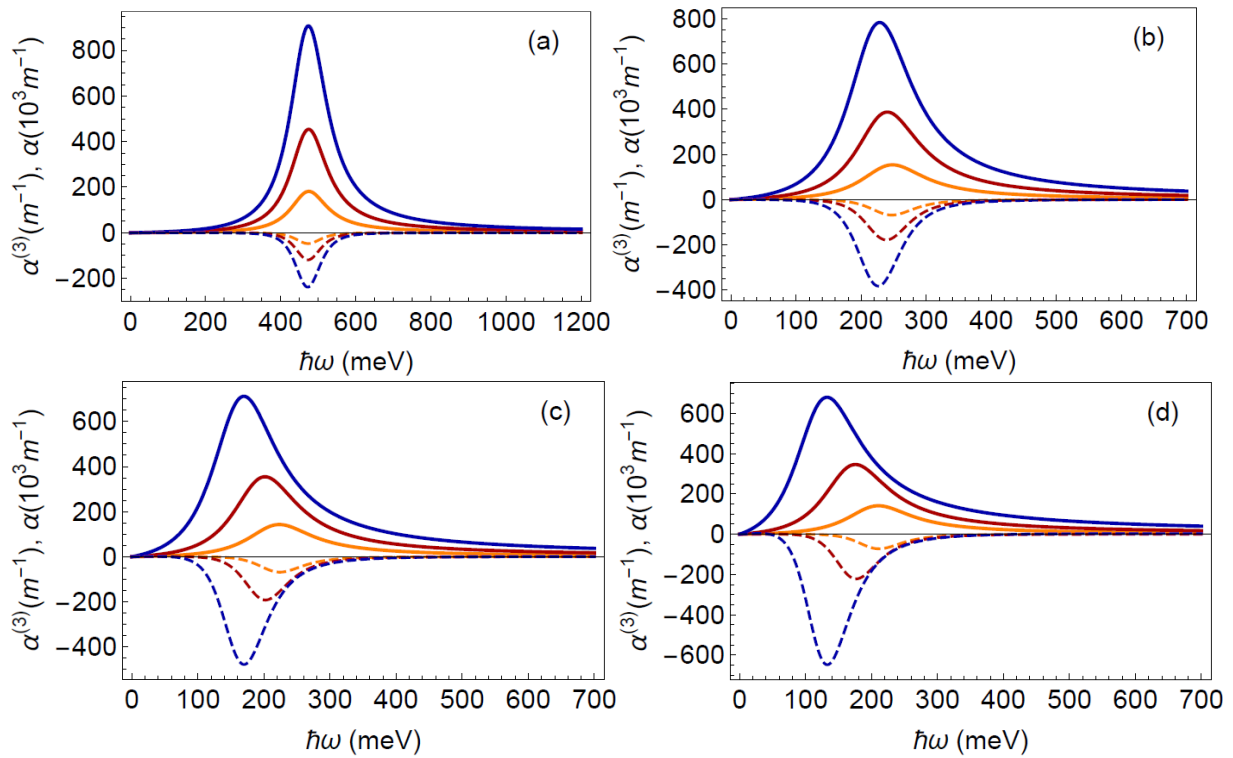


Figure 4. The total absorption coefficients α (solid lines) and $\alpha^{(3)}$ (dashed lines) relative to the incident light energy $\hbar\omega$ for $\hbar\Gamma_0 = 60 \text{ meV}$, for the electron densities σ_s of $2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ (orange), $5 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$ (red) and 10^{25} m^{-3} (blue), and for the well lengths L_w of a) 25 Å, b) 50 Å c) 75 Å, and d) 100 Å

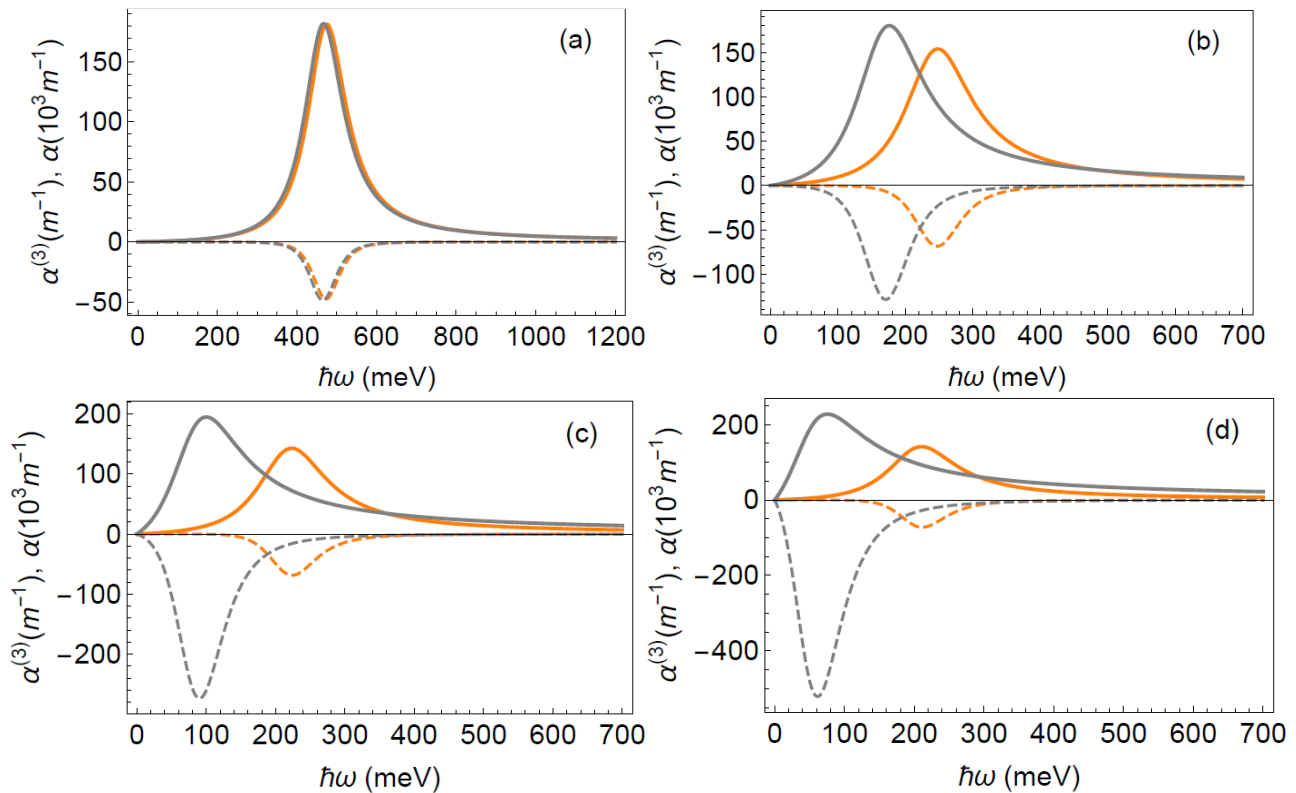


Figure 5. The total absorption coefficients α (solid lines) and $\alpha^{(3)}$ (dashed lines) relative to the incident light energy $\hbar\omega$ for $\hbar\Gamma_0 = 60 \text{ meV}$, for the electron density σ_s of $2 \times 10^{24} \text{ m}^{-3}$, with total polarization (orange) and without any polarization (gray), and for the well lengths L_w of a) 25 \AA , b) 50 \AA c) 75 \AA , and d) 100 \AA

CONCLUSION

We have studied the effects of piezoelectric and spontaneous polarizations on the GaN/ZnGeN₂ quantum well, as well as the effects of doping in the well. Polarization charges accumulated on the boundaries of the well and causes the potential to be inclined while doping charges are mainly in the well and makes the well bottom get curved. Their effects to the energy difference values and dipole matrix elements are minimum until the well length of $L_w = 26 \text{ \AA}$ because they are not affected by the changes of the potential profile very much. After that length, the energy difference values get higher with the polarization and the intersubband transition rates drops, but doping reduces these effects to some extent. We also present the changes in the absorption coefficients. The total absorption is reduced and blue shifted due to the polarization, while doping can increase the absorption and red shifts it. Nonlinear absorption is reduced because of the polarization and its contribution to the absorption rate is minimal. We hope that these results can be useful for possible device applications based on GaN/ZnGeN₂ material.

REFERENCES

- Adamski NL, Wickramaratne D, de Walle CGV, 2020. Band alignments and polarization properties of the Zn-IV-nitrides. *Journal of Materials Chemistry C*, 8:7890–7898.
- Ahn D, Chuang SL, 1987. Calculation of linear and nonlinear intersubband optical absorptions in a quantum well model with an applied electric field. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 23(12):2196–2204.
- Boyd RW, 2020. *Nonlinear Optics (Fourth Edition)*, Elsevier.

- Chandra S, Kumar V, 2019. Structural, electronic and elastic properties of ZnGeN₂ and WZ-GaN under different hydrostatic pressures: A first-principle study. *International Journal of Modern Physics B*, 33(25):1950297.
- Flügge S, 1971. *Practical Quantum Mechanics*. Springer Berlin Heidelberg.
- Goldys EM, Shi JJ, 1998. Linear and Nonlinear Intersubband Optical Absorption in a Strained Double Barrier Quantum Well. *Physica Status Solidi B*, 210, 237.
- Gunna S, Bertazzi F, Paiella R, Bellotti E, 2007. *Nitride Semiconductor Devices: Principles and Simulation*. John Wiley & Sons Ltd. p117-143.
- Hamazaki J, Matsui S, Kunugita H, Ema K, Kanazawa H, Tachibana T, Kikuchi A, Kishino K, 2004. Ultrafast intersubband relaxation and nonlinear susceptibility at 1.55 μm in GaN/AlN multiple-quantum wells. *Applied Physics Letters*, 84(2):1102–1104.
- Han L, Lieberman C, Zhao H, 2017. Study of intersubband transitions in GaN-ZnGeN₂ coupled quantum wells. *Journal of Applied Physics*, 121(3):093101.
- Harrison P, Jovanović VD, 2016. *Quantum Wells Wires and Dots*, John Wiley & Sons Ltd. p223-248.
- Häusler J, Schimmel S, Wellmann P, Schnick W, 2017. Ammonothermal synthesis of earth-abundant nitride semiconductors ZnSiN₂ and ZnGeN₂ and dissolution monitoring by in situ X-ray imaging. *Chemistry - A European Journal*, 23(50):12275–12282.
- Hofstetter D, Schad SS, Wu H, Schaff HW, Eastman LF, 2003. GaN/AlN-based quantum-well infrared photodetector for 1.55 μm. *Applied Physics Letters*, 83(7):572–574.
- Jaroenjittichai AP, Lyu S, Lambrecht WRL, 2017. Erratum: Band offsets between ZnGeN₂, GaN, ZnO, and ZnSnN₂ and their potential impact for solar cells [*Phys. Rev. B* 88, 075302 (2013)]. *Physical Review B*, 96:079907.
- Du K, Bekele C, Hayman CC, Angus JC, Pirouz P, Kash K, 2008. Synthesis and characterization of ZnGeN₂ grown from elemental Zn and Ge sources, *Journal of Crystal Growth*, 310(6), 1057–1061.
- Laidouci A, Aissat A, Vilcot JP, 2018. Temperature Effect on ZnGeN₂/GaN Multiwell Quantum Solar Cells. 6th International Renewable and Sustainable Energy Conference (IRSEC), 5-8 Dec. 2018, Rabat, Morocco.
- Martinez AD, Fioretti AN, Toberer ES, Tamboli AC, 2017. Synthesis, structure, and optoelectronic properties of II-IV-V materials. *Journal of Materials Chemistry A*, 5:11418–11435.
- Mora-Ramos ME, Duque CA, Kasapoğlu E, Sarı H, Sökmen I, 2012. Linear and nonlinear optical properties in a semiconductor quantumwell under intense laser radiation: Effects of applied electromagnetic fields. *Journal of Luminescence*, 132, 901–913.
- Paudel TR, Lambrecht WRL, 2008. First-principles study of phonons and related ground-state properties and spectra in Zn-IV-N₂ compounds. *Physical Review B*, 78:1152024.
- Paudel TR, Lambrecht WRL, 2009. First-principles calculations of elasticity, polarization-related properties, and nonlinear optical coefficients in Zn-IV-N₂ compounds. *Physical Review B*, 79:245205.
- Paudel TR, Lambrecht WRL, 2013. Erratum: First-principles study of phonons and related ground-state properties and spectra in Zn-IV-N₂ compounds [*Phys. Rev. B* 78, 115204 (2008)]. *Physical Review B*, 87:039901.
- Paudel TR, Lambrecht WRL, 2017. Erratum: First-principles calculations of elasticity, polarization-related properties, and nonlinear optical coefficients in Zn-IV-N₂ compounds [*Phys. Rev. B* 79, 245205 (2009)]. *Physical Review B*, 96:079906.
- Piprek J, 2007. *Nitride Semiconductor Devices*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, pp. 24, 53, 58, Weinheim.

- Punya A, Lambrecht WRL, van Schilfhaarde M, 2011. Quasiparticle band structure of Zn-IV-N₂ compounds. *Physical Review B*, 84:165204.
- Punya A, Lambrecht WRL, 2013. Band offsets between ZnGeN₂, GaN, ZnO, and ZnSnN₂ and their potential impact for solar cells. *Physical Review B*, 88:075302.
- Sun G, Soref RA, Khurgin JB, 2005. Active region design of a terahertz GaN/Al_{0.15}Ga_{0.85}N quantum cascade laser. *Superlattices and Microstructures*, 37(2)107–113.
- Tellekamp MB, Melamed LC, Norman AG, Tamboli A, 2020. Heteroepitaxial Integration of ZnGeN₂ on GaN Buffers Using Molecular Beam Epitaxy. *Crystal Growth & Design*, 20(3):1868–1875.
- Yıldırım H, Tomak M, 2005. Nonlinear optical properties of a Pöschl-Teller quantum well. *Physical Review B*, 72:115340.
- Yıldırım H, 2017. Donor binding energies in a GaN/ZnGeN₂ quantum well. *Superlattices and Microstructures*, 111(11):529–535.
- Yılmaz S, Şahin M, 2010. Third-order nonlinear absorption spectra of an impurity in a spherical quantum dot with different confining potential. *Physica Status Solidi B*, 247, No. 2, 371–374.
- Zhu LD, Maruska PH, Norris PE, Yip PW, Bouthillette LO, 1999. Epitaxial Growth and Structural Characterization of Single Crystalline ZnGeN₂. *MRS Internet Journal of Nitride Semiconductor Research*, 4:149–154.

Atf İçin: Bilekkaya A, 2021. Eş-eksenli Al, As ve Ga Alaşım Katmanlarından Oluşan Silindirik Kuantum Tellerinde Eksiton Bağlanma Enerjilerinin Dış Elektrik Alanlar Altında İncelenmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2782-2789.

To Cite: Bilekkaya A, 2021. An Investigation of Exciton Binding Energies in Cylindrical Quantum Wires Consist of Various Coaxial Al, As and Ga Alloys under External Electric Fields. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2782-2789.

Eş-eksenli Al, As ve Ga Alaşım Katmanlarından Oluşan Silindirik Kuantum Tellerinde Eksiton Bağlanma Enerjilerinin Dış Elektrik Alanlar Altında İncelenmesi

Abdullah BİLEKKAYA

ÖZET: İçten dışa eş-eksenli silindirik $AlAs/GaAs/Al_{x_1}Ga_{1-x_1}As/GaAs/Al_{x_2}Ga_{1-x_2}As$ katmanlarından oluşan bir kuantum telindeki ağır-deşik ve hafif-deşik eksitonlarının bağlanma enerjileri dış elektrik alan etkisi altında elde edilmiştir. Hesaplamalar sayısal olarak 4. Derece Runge-Kutta ve varyasyonel yaklaşım yöntemlerinin birleşimi kullanılarak yapılmıştır. Eksiton bağlanma enerjileri yapıdaki $GaAs$ tel kalınlıklarına ve uygulanan dış elektrik alan şiddetine bağlı olarak bulunmuştur. Sonuçlar eksiton bağlanma enerjilerinin belli yapısal parametre değerlerinde teknolojiye kullanışlı olabileceği düşünülen keskin değişimler gösterdiği ve elektrik alanının da bağlanma enerjileri üzerinde önemli etkilere sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Eksiton, kuantum teli, elektrik alan

An Investigation of Exciton Binding Energies in Cylindrical Quantum Wires Consist of Various Coaxial Al, As and Ga Alloys under External Electric Fields

ABSTRACT: The binding energies of the heavy-hole and light-hole excitons in a cylindrical quantum wires composed of coaxial $AlAs/GaAs/Al_{x_1}Ga_{1-x_1}As/GaAs/Al_{x_2}Ga_{1-x_2}As$ layers from inside to outside are calculated under the external electric fields. The numerical calculations were carried out by combining 4th order Runge-Kutta method and variational approaches. The exciton binding energies were found as functions of inner $GaAs$ wire thicknesses and the external electric field strengths. The results show that, the exciton binding energies exhibit sharp changes at the certain values of structural parameters and the electric field has significant effects on the binding energies. These properties are thought to be useful technological applications.

Keywords: Exciton, quantum wire, electric field

¹Abdullah BİLEKKAYA ([Orcid ID: 0000-0003-4153-8686](https://orcid.org/0000-0003-4153-8686)), Trakya Üniversitesi, Edirne Teknik Bilimler MYO, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, Edirne, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Abdullah BİLEKKAYA, e-mail: abdullahbilekkaya@trakya.edu.tr

GİRİŞ

Bir eksiton, iletim bandındaki bir elektron ile valans bandındaki bir deşğin bağı durumudur. Düşük boyutlu yarıiletken sistemlerdeki eksitonların fiziksel özellikleri elektronik ve optoelektronik cihazlarda yüksek kullanım potansiyeline sahip olmasından dolayı son yıllarda geniş bir biçimde araştırılmaktadır (Zhai ve ark., 2011; Lopes ve ark., 2013; Harris ve ark., 2015; Rojas ve ark., 2017). Yarıiletken kuantum noktalarındaki bir eksitonun temel optik kontrol özellikleri Kolodka ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır (Kolodka ve ark., 2020). Ayrıca *InAs/AlGaAs* kuantum noktalarındaki eksiton kuantum durumlarının spektrumu Galimov ve arkadaşları tarafından deneysel olarak incelenmiştir (Galimov ve ark., 2019). Chafaia ve arkadaşları bir *GaN/AlN* kuantum noktasında boyutsal sınırlamaların ve uygulanan dış elektrik alanın eksiton bağlanma enerjileri üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve bu etkilerin tek ve ilişkili parçacıkları modüle etmek için iyi bir yol oluşturduğunu göstermişlerdir (Chafaia ve ark., 2019). Aktürk ve arkadaşları çok kabuklu bir kuantum nanokristalindeki eksiton, bieksiton ve yüklü eksitonların elektronik ve optik özelliklerinin ayrıntılı bir araştırmasını sunmuşlardır (Aktürk ve ark., 2014).

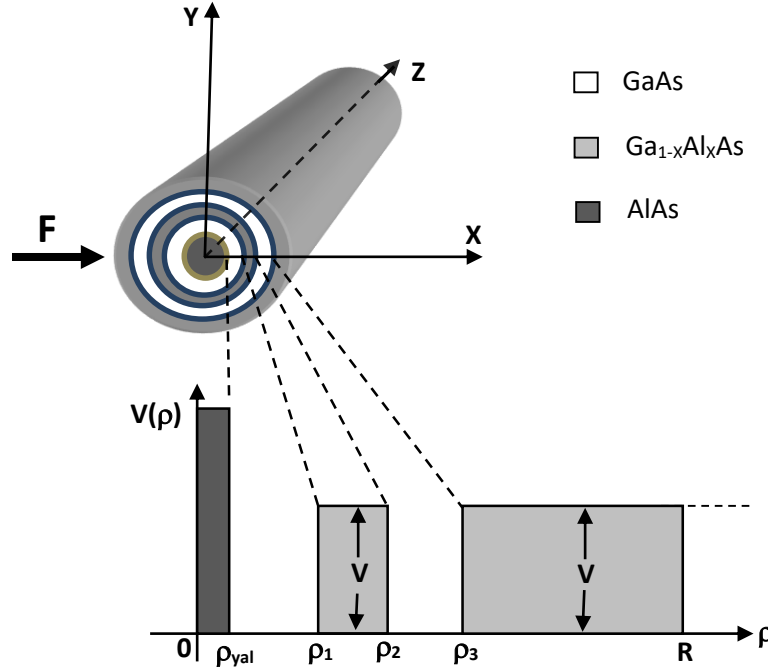
Uygulanan dış elektrik ve manyetik alanlar ile boyutsal sınırlandırmalar eksitonların fiziksel özellikleri üzerinde belirgin etkilere sahiptir. Yapılan çalışmalarda elektrik alanın eksiton bağlanma enerjisi üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (Wu, 2011; Saravanan ve ark., 2015). Kuantum tellerindeki eksitonların bağlanma enerjileri ve bantlar arası optik soğurma Kasapoğlu ve arkadaşları tarafından incelenmiş, eksiton bağlanma enerjisinin telin boyutlarına ve uygulanan elektrik alana bağı olarak deştiği gösterilmiştir (Kasapoğlu ve ark., 2003). Wang ve arkadaşları *InGaAsP/InP* silindirik kuantum tellerinde eksiton durumlarını inceledikleri bir çalışmada tel yarıçapının, malzeme bileşiminin ve uygulanan elektrik alanın eksiton bağlanma enerjisi üzerinde çok etkili olduğunu göstermişlerdir (Wang ve ark., 2016).

Çok katmanlı kuantum teli ve kuantum noktalarındaki yabancı atom bağlanma enerjileri üzerindeki geometrik etkiler, elektrik ve manyetik alan etkileri daha önce bir kaç çalışmada ele alınmıştır (Boz ve ark., 2005, 2009, 2010, Aktaş ve ark., 2005, 2008, 2009, Karki ve ark., 2007, Kes ve ark., 2017). Yakın zamanda ise Kes ve arkadaşları çok katmanlı kuantum telinde eksitonları ve manyetik alan etkilerini araştırmışlar, manyetik alanın eksitonların elektronik özelliklerini belirgin biçimde etkilediğini göstermişlerdir (Kes ve ark., 2020).

Bu çalışmada silindirik *AlAs* malzemesi *GaAs* ve *AlGaAs* malzemeleriyle sırasıyla tabakalar halinde sarılmıştır. Eş-eksenli *Al*, *As* ve *Ga* alaşım katmanlarından oluşan silindirik kuantum telinde eksiton bağlanma enerjileri farklı yapısal parametre değerlerinde ve farklı elektrik alan şiddetleri altında incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Göz önüne alınan eş eksenli düşük boyutlu yapı şematik olarak Şekil 1' de gösterilmektedir. Bu yapı; yalıtkan bir *AlAs* silindirinin sırasıyla, *GaAs*, $Al_{x_1}Ga_{1-x_1}As$, *GaAs*, $Al_{x_2}Ga_{1-x_2}As$ tabakaları ile çevrenmesiyle oluşturulmuştur. Bu yapıdaki *GaAs* tabakaları kuantum kuyu telleri olarak görev yaparken, $Al_{x_1}Ga_{1-x_1}As$ ve $Al_{x_2}Ga_{1-x_2}As$ tabakaları sonlu potansiyel bariyerlerini oluşturmaktadır.



Şekil 1. Eş-eksenli Al, As ve Ga alaşım katmanlarından oluşan silindirik kuantum telinin şematik gösterimi ve potansiyel profili

Etkin kütle yaklaşımı içinde, çok katmanlı kuantum telinde bir ağır-deşik (İng.: heavy-hole) eksitonun x yönünde uygulanan F elektrik alanı altındaki Hamiltonyeni silindirik koordinatlarda

$$H = \frac{p_e^2}{2m_e^*(\rho_e)} + V_e(\rho_e) + \eta \rho_e \cos \varphi + \frac{p^2}{2m_{hh}(\rho_{hh})} + V_{hh}(\rho_{hh}) - \eta \rho_{hh} \cos \varphi - \frac{e^2}{\epsilon |\vec{r}_e - \vec{r}_{hh}|}, \quad (1)$$

olarak verilir. Bu denklemden e alt indisi iletkenlik bandı elektronlarını ve hh alt indisi ise uluslararası bilimsel notasyona uygun biçimde ağır-deşiği göstermektedir. \vec{P}_e ve \vec{P}_{hh} momentum operatörleri, ϵ , statik dielektrik sabitidir ve $\eta = |e| \cdot F$ olarak verilir.

Yukarıdaki denklemden $|\vec{r}_e - \vec{r}_{hh}|$ elektron-deşik çifti arasındaki uzaklığı tanımlayan parametredir ve $\sqrt{\rho_e^2 + \rho_{hh}^2 - 2\rho_e\rho_{hh} \cos(\varphi_e - \varphi_{hh}) + (z_e - z_{hh})^2}$ ile ifade edilir.

Hafif-deşik (İng.: light-hole) eksitonları için hesaplamalar Denklem 1 ve aşağıda izleyen tüm denklemlerde hh alt indisi yine uluslararası bilimsel notasyonda hafif-deşikleri temsil edecek biçimde lh alt indisi ile değiştirilerek hafif-deşik eksitonlarını incelemek için gerçekleştirilmiştir.

Denklem 1'deki Hamiltonyen aşağıdaki gibi elektron ve ağır-deşik için taban durumlarında ayrı ayrı

$$\left[\frac{p_e^2}{2m_e(\rho_e)} + V_e(\rho_e) + \eta \rho_e \cos \varphi \right] \psi_{0e}(\rho_e) = E_{0e} \psi_{0e}(\rho_e) \quad (2a)$$

$$\left[\frac{p_{hh}^2}{2m_{hh}(\rho_{hh})} + V_{hh}(\rho_{hh}) - \eta \rho_{hh} \cos \varphi \right] \psi_{0h}(\rho_{hh}) = E_{0h} \psi_{0h}(\rho_{hh}) \quad (2b)$$

olarak ifade edilir. Elektrik alan yokken $\eta=0$ Denklem 2a yardımıyla elektron taban durum dalga fonksiyonu $\psi_{0e}(\rho_e)$ taban durum enerjisi E_{0e} nümerik olarak 4. Derece Runge-Kutta metodu kullanılarak hesaplanır (Kes ve ark., 2017). Aynı hesaplamalar Denklem 2b üzerinden ağır-deşik için $\psi_{0h}(\rho_{hh})$ taban durum dalga fonksiyonunu ve E_{0h} taban durum enerjilerini bulmak için tekrarlanır.

Tel eksenine dik olarak pozitif x -ekseni boyunca uygulanan elektrik alan altında elektronun değişen enerjisiyle Denklem 2a Hamiltonyeni üzerinden

$$\psi_e^F(\rho, \varphi) = N_F \psi_{0e}(\rho_e) e^{-\rho_e \cos \varphi / a_e} \quad (3a)$$

elektrik alan etkisini içeren deneme dalga fonksiyonunu kullanarak, ancak bu defa varyasyon yöntemiyle a_e varyasyon parametresi ile E_e enerji beklenen değeri minimize edilir.

Denklem 3a'da N_F normalizasyon sabiti, φ silindirik koordinatlarda açılı parametresidir. Ağır-deşikler için ise Denklem 2b hamiltonyeni

$$\psi_{hh}^F(\rho, \varphi) = N_F \psi_{0hh}(\rho_{hh}) e^{-\rho_{hh} \cos \varphi / a_{hh}} \quad (3b)$$

deneme dalga fonksiyonunu kullanarak a_{hh} üzerinden E_{hh} enerji beklenen değeri bulunur.

Elektron ve ağır-deşik arasındaki Coulomb etkileşmesinin dahil edilmesiyle, varyasyonel çözümde kullanılan eksitonik deneme dalga fonksiyonu

$$\psi_{e-hh} = N \psi_e^F(\rho_e) \psi_{hh}^F(\rho_{hh}) e^{-|\vec{r}_e - \vec{r}_{hh}| / \lambda} \quad (4)$$

olarak seçilmiştir. Burada N normalizasyon sabiti ve Bohr yarıçapı olan λ sistemin toplam enerjisini minimize etmek için sistematik biçimde değiştirilen varyasyonel bir parametre olarak kullanılmıştır (Wang ve ark., 2016). Toplam eksiton enerjisinin beklenen değeri

$$E_{e-h} = \min_{\lambda} \frac{\langle \psi_{e-h} | H | \psi_{e-h} \rangle}{\langle \psi_{e-h} | \psi_{e-h} \rangle} \quad (5)$$

denklemden bulunur. Eksiton bağlanma enerjisi

$$E_{e-h}^{bağ} = E_e + E_h - E_{e-h} \quad (6)$$

bağıntısından hesaplanır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Şekil 1'deki eş-eksenli kuantum tellerinde yalıtkan AlAs telinin yarıçapı ρ_{yal} ve tüm yapının dış yarıçapı R ile gösterilmiştir. İç GaAs tabaka tel kalınlığı $R_1 = \rho_1 - \rho_{yal}$, bunu izleyen engel potansiyeli oluşturan $Al_{x_1}Ga_{1-x_1}As$ tabaka tel kalınlığını $R_2 = \rho_2 - \rho_1$, dış GaAs tabaka tel kalınlığını $R_3 = \rho_3 - \rho_2$ ve son olarak tüm yapıyı çevreleyen engel potansiyeli $Al_{x_2}Ga_{1-x_2}As$ tabaka kalınlığını da $R_4 = R - \rho_3$ parametreleri ile tanımlayalım.

Eksiton bağlanma enerjileri elektrik alan altında kuantum telinde potansiyel kuyusu işlevi gören iç telin kalınlığına bağlı olarak hesaplanmıştır. Al konsantrasyon değeri $x=0.3$ olarak alınmıştır. Hesaplamalarda kullanılan yapı parametreleri $\rho_{yal}=40 \text{ \AA}$, $R_1=50 \text{ \AA}$, $R_2=60 \text{ \AA}$, $R_3=40 \text{ \AA}$ dır. Ağır-deşik (hh) eksitonlar için $R^* = 3.7401 meV$, $a^*=155.2408 \text{ \AA}$ ve hafif-deşik (lh) eksitonlar için $R^*=4.4525 meV$, $a^*=130.4038 \text{ \AA}$ olarak alınmıştır. Farklı tabakalardaki elektron ve deşik kütleleri ve potansiyelleri Tablo 1' de verilmiştir (Kes ve ark. 2020).

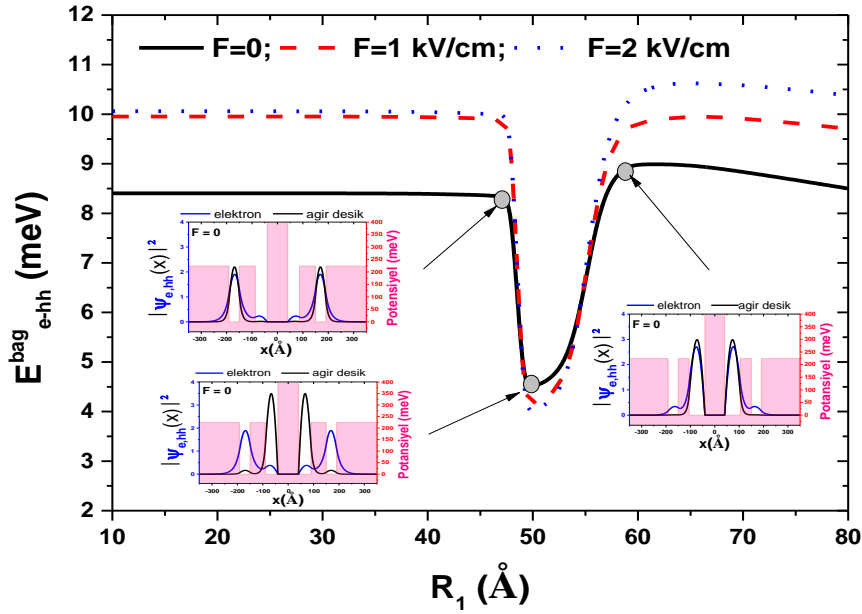
Tablo 1. Tabakalardaki elektron, ağır-deşik (hh) ve hafif-deşik (lh) kütleleri ve potansiyelleri. ($m_0=9.11 \times 10^{-31} \text{ kg}$).

Tabaka	m_e^* / m_0	m_{hh}^* / m_0	m_{lh}^* / m_0	$V_e (meV)$	$V_{hh} (meV)$	$V_{lh} (meV)$
AlAs	0.180	0.500	0.149	∞	∞	∞
GaAs	0.067	0.340	0.095	0	0	0
$Al_{0.3}Ga_{0.7}As$	0.098	0.0382	0.109	224	149	149

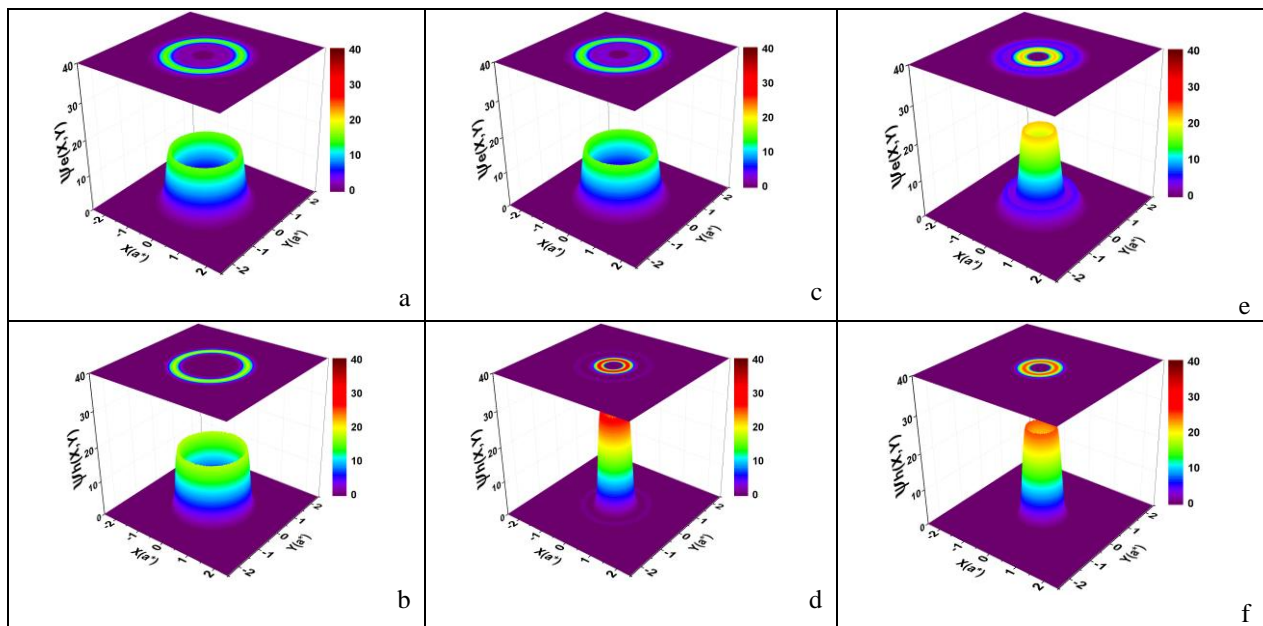
İlk önce Şekil 2'de $F=0$, $F=1 \text{ kV/cm}$ ve $F=2 \text{ kV/cm}$ değerlerinde ağır-deşik için, iç tel kalınlığının (R_1) eksiton bağlanma enerjisine etkisi gösterilmiştir. Bu inceleme sırasında yapının toplam kalınlığı sabit tutulmuştur ($R_1+R_2+R_3=150 \text{ \AA}$, $R_2=110-R_1$, $R_3=40 \text{ \AA}$). Ayrıca bu şekillerde $F=0$ değerinde eksiton bağlanma enerjilerinde çarpıcı değişimlerin görüldüğü kritik R_1 değerlerindeki ($R_1=46 \text{ \AA}$, $R_1=49 \text{ \AA}$ ve $R_1=59 \text{ \AA}$) elektron ve ağır-deşikler için olasılık dağılımları da Şekil 2 iç grafiklerinde gösterilmiştir.

$R_3=40 \text{ \AA}$ için $R_1=10 \text{ \AA}$ 'dan $R_1=80 \text{ \AA}$ 'a arttırılırken, R_2 değeri ise $R_2=100 \text{ \AA}$ 'dan $R_2=30 \text{ \AA}$ 'a kadar düşmektedir. Görüldüğü gibi bağlanma enerjisi 1. kritik değere kadar ($R_1=46 \text{ \AA}$) değişmeyip bu değerden sonra keskin bir düşüş ile minimum değerine ulaşmaktadır. İkinci kritik değerden sonra ($R_1=49 \text{ \AA}$)

bağlanma enerjisi bir maksimum değere kadar artmakta ve daha sonra hafif bir azalış göstermektedir. Bu davranışın sebebi kritik R_I değerlerine ait elektron ve ağır-deşik dalga fonksiyonlarının Şekil 3'te gösterilmesiyle açıklanmıştır. Şekil 3'te görüldüğü gibi elektron ve ağır-deşik, birinci kritik değerde hemen hemen aynı olasılık dağılımı ile dış telde lokalize olmayı tercih ederken, ikinci kritik değerde ağır-deşik iç telde, elektron da dış telde lokalize olmayı tercih etmektedir. Üçüncü kritik değerde ($R_I=59\text{\AA}$) ise elektron ve ağır boşluğun iç telde lokalize olmayı tercih ettiği ve bağlanma enerjisinin maksimum değerini aldığı görülmektedir.

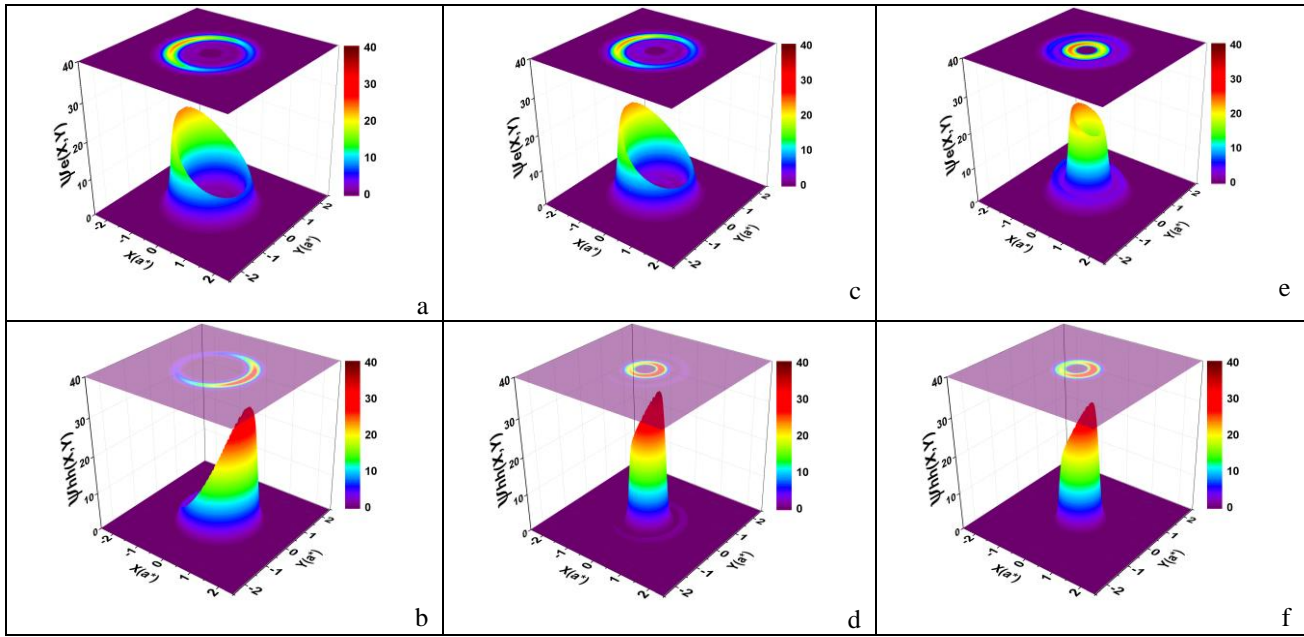


Şekil 2. Eş-eksenli çok katmanlı kuantum telindeki ağır-deşik eksiton bağlanma enerjilerinin farklı elektrik alan şiddetleri altında iç tel kalınlığı R_I ile değişimi. Düz çizgi $F=0$, kesikli çizgi $F=1 \text{ kV/cm}$ ve noktali çizgi $F=2 \text{ kV/cm}$ için verilmiştir

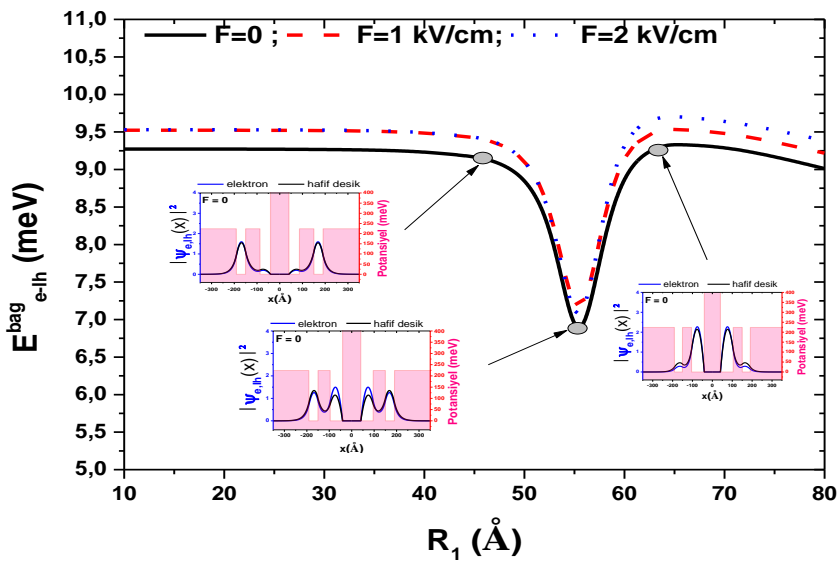


Şekil 3. $F=0$ değerinde elektron ve ağır-deşik (hh) için dalga fonksiyonları. Şekil a-b'de $R_I=46 \text{\AA}$, Şekil c-d'de $R_I=49 \text{\AA}$ ve Şekil e-f'de $R_I=59 \text{\AA}$ olarak alınmıştır

Şekil 2’de bu yapıya elektrik alan uygulandığında bağlanma enerjisinin 1. kritik değere kadar arttığı, 1. kritik noktadan 3. kritik noktaya kadar olan kısım arasında elektrik alan şiddetinin etkili olmadığı gözlenmiştir. Elektrik alan şiddeti etkisinin 3. kritik noktadan sonra belirgin biçimde ortaya çıktığı görülmüştür. Bu davranışlar Şekil 4’te gösterilen $F=2 \text{ kV/cm}$ değerindeki elektron ve ağır-deşik için gösterilen dalga fonksiyonları ile daha iyi açıklanabilir. Elektrik alan şiddetinin artmasıyla elektron ve ağır-deşik zıt yönde yönelmiş olmasına rağmen ikisi de dış telde lokalize olmuştur. Elektrik alan yokken dalga fonksiyonları x - y düzleminde homojen olarak dağılmakta iken, elektrik alan uygulandığında ise elektron ve ağır-deşik aynı telde ve x yönünde lokalize olup dalga fonksiyonları da x yönünde yoğunlaştığı için bağlanma enerjisi artmıştır.



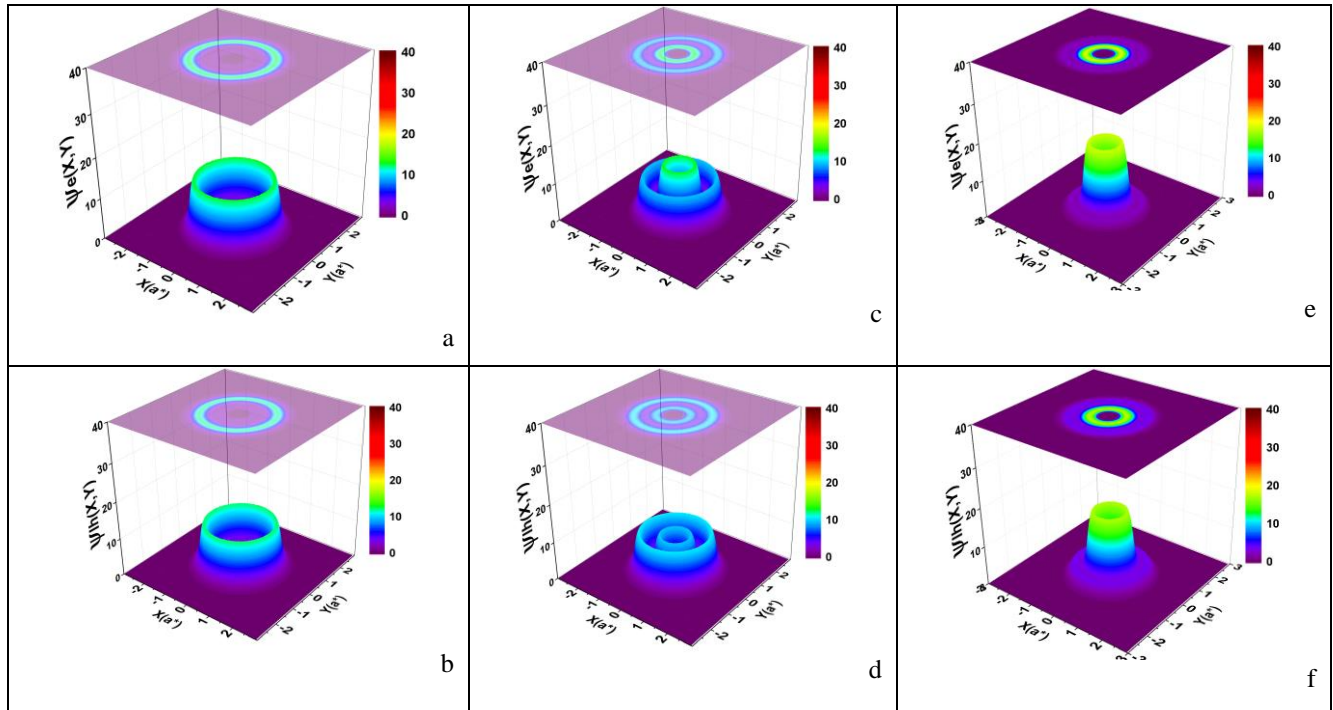
Şekil 4. $F=2 \text{ kV/cm}$ değerinde elektron ve ağır-deşik (hh) dalga fonksiyonları. Şekil a-b’de $R_1=46 \text{ Å}$, Şekil c-d’de $R_1=49 \text{ Å}$ ve Şekil e-f’de $R_1=59 \text{ Å}$ olarak alınmıştır



Şekil 5. Eş-eksenli çok katmanlı kuantum telindeki hafif-deşik eksiton bağlanma enerjilerinin farklı elektrik alan şiddetleri altında iç tel kalınlığı R_1 ile değişimi. Düz çizgi $F=0$, kesikli çizgi $F=1 \text{ kV/cm}$ ve noktalı çizgi $F=2 \text{ kV/cm}$ için verilmiştir.

Şekil 5’de elektron ile hafif-deşik arasındaki bağlanma enerjisi, iç tel kalınlığı R_1 ’e bağlı olarak incelenmiştir. Bu inceleme sırasında yapının toplam kalınlığı yine sabit tutulmuştur ($R_1+R_2+R_3=150\text{Å}$, $R_2=110-R_1$, $R_3=40\text{Å}$). $F=0$ değerinde eksiton bağlanma enerjisinde çarpıcı değişimlerin görüldüğü kritik R_1 değerlerindeki ($R_1=46\text{Å}$, $R_1=55\text{Å}$ ve $R_1=64\text{Å}$) elektron ve hafif-deşikler için olasılık dağılımları Şekil 5 iç grafiklerinde verilmiştir. Buradaki bağlanma enerjisi karakteristik olarak Şekil 3’teki elektron ve ağır-deşik bağlanma enerjisine benzese de, kritik noktalar için verilen olasılık dağılımlarından bağlanma enerjisindeki değişimlerin Şekil 3’e göre daha az keskin olduğu gözlenmiştir. Bu durum elektrik alan yokken Şekil 6’da dalga fonksiyonları 2. kritik nokta için verilen hafif-deşik ve elektron dalga fonksiyonları ile açıklanabilir. Buna göre $R_1=55\text{Å}$ değerinde elektron olasılık yoğunluğu bir miktar dış telde yer aldığı için çok keskin bir davranış göstermemiştir. $F=2\text{ kV/cm}$ için kritik noktadaki hafif-deşik ve elektron dalga fonksiyonlarına bakılmış ve bunların Şekil 4’teki durumlara benzediği görülmüştür.

Şekil 2 ve Şekil 5 birbiriyle karşılaştırılırsa elektrik alanın ağır-deşik eksiton bağlanma enerjileri üzerinde daha etkili olduğu görülebilir.



Şekil 6. $F=0$ değerinde elektron ve hafif-deşik (lh) dalga fonksiyonları. Şekil a-b’de $R_1=46\text{Å}$, Şekil c-d’de $R_1=55\text{Å}$ ve Şekil e-f’de $R_1=64\text{Å}$ olarak alınmıştır

SONUÇ

Sonuç olarak ağır-deşik ve elektron ile hafif-deşik ve elektron arasındaki bağlanma enerjileri iç tel kalınlığının artmasıyla ilginç değişimler göstermiştir. Teorik olarak ağır-deşik ve elektron arasındaki bağlanma enerjisinin elektrik alan yokken veya varken belirli bir yapısal değer aralığında keskin değişimler gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca elektron ve hafif-deşik bağlanma enerjilerinde elektrik alan etkisinin, elektron ve ağır-deşik bağlanma enerjilerinde olduğu kadar etkili olmadığı gözlenmiştir. Bu sistemlerde elektrik alan etkisi önemli olsa da ağır-deşikler üzerinde çalışmanın daha doğru olacağı görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aktas S, Boz FK, 2008. The binding energy of hydrogenic impurity in multilayered spherical quantum dot. *Physica E*, 40: 753–758.
- Aktas S, Boz FK, Bilekkaya A, Okan SE, 2009. The electronic properties of a coaxial square GaAs/Al_xGa_{1-x}As quantum well wire in an electric field. *Physica E*, 41: 1572–1576.
- Aktas S, Boz FK, Dalgic SS, 2005. Electric and magnetic field effects on the binding energy of a hydrogenic donor impurity in a coaxial quantum well wire. *Physica E*, 28: 96–105.
- Akturk A, Sahin M, Koc F, Erdinc A, 2014. A detailed investigation of electronic and optical properties of the exciton, the biexciton and charged excitons in a multi-shell quantum dot nanocrystal. *Journal of Physics D- Applied Physics*, 47:28.
- Boz FK, Aktas S, Bilekkaya A, Okan SE, 2010. The multilayered spherical quantum dot under a magnetic field. *Applied Surface Science*, 256: 3832–3836.
- Boz FK, Aktas S, 2005. Magnetic field effect on the binding energy of a hydrogenic impurity in coaxial GaAs/Al_xGa_{1-x}As quantum well wires. *Superlattices and Microstructures*, 37: 281–291.
- Boz FK, Aktas S, Bilekkaya A, Okan SE, 2009. Geometric effects on energy states of a hydrogenic impurity in multilayered spherical quantum dot. *Applied Surface Science*, 255: 6561–6564.
- Chafaia A, Essaoudi I, Ainanea A, Dujardin F, Ahuja R, 2019. Binding energy of an exciton in a GaN/AlN nanodot: Role of size and external electric field. *Physica B: Condensed Matter*, 559: 23–28.
- Galimov AI, Rakhlin MV, Belyaev KG, Klimko GV, Evropeytsev EA, Toropov AA, 2019. Investigation of the spectrum of exciton excited states in self-organized InAs/AlGaAs quantum dots. *Acta Physica Polonica A*, (136): 4.
- Harris R, Terblans J, Swart H, 2015. Exciton binding energy in an infinite potential semiconductor quantum well–wire heterostructure. *Superlattices and Microstructures*, 86: 456–466.
- Karki HD, Elagoz S, Baser P, Amca R, Sokmen I, 2007. Barrier height effect on binding energies of shallow hydrogenic impurities in coaxial GaAs/Al_xGa_{1-x}As quantum well wires under a uniform magnetic field. *Superlattices and Microstructures*, 41 (4), 227-236.
- Kasapoğlu E, Sari H, Bursal M, Sokmen I, 2003. Exciton absorption in quantum-well wires under the electric field. *Physica E*, 16: 272 – 243.
- Kes H, Bilekkaya A, Aktas S, Okan S E, 2017. Binding energy of a hydrogenic impurity in a coaxial quantum wire with an insulator layer. *Superlattices and Microstructures*, 111: 966-975.
- Kes H, Okan SE, Aktas S, 2020. The excitons in infinite potential centered multilayered coaxial quantum wire and the magnetic field effects on their properties, *Superlattices and Microstructures*, 139: 106421.
- Kolodka RS, Pundyk IP, Dmitruk I, 2020. Study of Coherent Properties of an Exciton in Semiconductor Quantum Dots. *Journal of Nano-and Electronic Physics*, 12 (3): 03022.
- Lopes EM, Cesar DF, Franchello F, Duarte JL, Dias JFL, Laureto E, Elias DC, Pereira MVM, Guimaraes PSS, Quivy AA, 2013. Exciton binding energy in a double quantum well: effect of the barrier shift. *Journal of Luminescence*, 144: 98–104.
- Rojas-Briseno JG, Miranda-Pedraza GL, Martinez-Orozco JC, 2017. Exciton binding energy in coupled double zinc blende GaN/InGaN quantum well. *Phys. Status Solidi B*, 254 (4): 1600461.
- Saravanan S, Peter AJ, Lee CW, 2015. Combined effects of magnetic and electric fields on the inter band optical transitions in InAs/InP quantum wire. *Physica E*, 67: 99–104.
- Wang H, Wang W, Gong Q, Wang S, 2016. External electric field effect on exciton binding energy in InGaAsP/InP cylindrical quantum wires. *Physica B*, 503:117–120.
- Wu S, 2011. Exciton binding energy and excitonic absorption spectra in a parabolic quantum wire under transverse electric field. *Physica B*, 406: 4634–4638.
- Zhai LX, Wang Y, Liu JJ, 2011. Exciton in an anisotropic parabolic quantum-well wire in the presence of a magnetic field. *Journal of Applied Physics*, 110: 043701.

Atf İçin: Deniz A, 2021. Cr/Indigo Carmine/p-Si/Al Heteroeklem Diyotunun I-V-T Karakteristiklerinin İncelenmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2790-2802.

To Cite: Deniz A, 2021. Investigation of I-V-T Charactersitics of Cr/Indigo Carmine/p-Si/Al Heterojunction Diode. Institute of Science and Technology, 11(4): 2790-2802.

Investigation of I-V-T Charactersitics of Cr/Indigo Carmine/p-Si/Al Heterojunction Diode

Ali Rıza DENİZ^{1*}

ABSTRACT: The subject of this study is the use of Indigo Carmine (IC) material in Schottky diode application. The *p*-Si crystal was chosen as the base material for diode fabrication. One surface of the *p*-Si metal was coated with Al metal by thermal evaporation method. Indigo carmine interface material was coated on the other surface of *p*-Si by spin coating method. Finally, Cr metal was coated on this material with DC sputtering method. So we obtained refence Cr/*p*-Si/Al diode and Cr/IC/*p*-Si/Al heterojunctions diode. When the current-voltage (*I*-*V*) measurements of these diodes at room temperature were examined, it was determined that the Indigo Carmine material improved the diode parameters. It was determined from the *I*-*V* measurements of the Cr/IC/*p*-Si/Al diode for different temperatures that the ideality factor (*n*) decreased and the barrier height (Φ_b) value increased with the increasing temperature. These changes with temperature have been attributed to the inhomogeneous distribution in the potential barrier. In addition, the change of diode parameters with temperature showed that the diode has a double Gaussian distribution.

Keywords: Indigo Carmine, Schottky diode, Thermionic Emission, Cheung, Norde, Current-Voltage.

¹Ali Rıza DENİZ ([Orcid ID: 0000-0003-3019-0522](https://orcid.org/0000-0003-3019-0522)), Hakkari Üniversitesi, Çölemerik MYO, Elektrik-Enerji Bölümü, Hakkari, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ali Rıza DENİZ, e-mail: alirizadeniz@hakkari.edu.tr

INTRODUCTION

Metal-semiconductor (MS) contacts take place in many areas in the developing electronics industry. Schottky diodes obtained from MS contacts in the electronics industry are used in many areas such as solar cells, microwave mixer detectors, varactors (capacitors whose capacities change with the applied voltage), fast switch applications (Balasubramani et al., 2020).

Schottky barrier height is the most important parameter for Schottky diodes. For this reason, many studies are carried out to increase the potential barrier. There are many studies in the literature on coating with various types of interface layers between metal and semiconductors (Reddy et al., 2020).

The use of polymers as metals and semiconductors accelerates the studies on this subject day by day. Conductive polymers are easy to prepare, easy to shape, cost effective, flexible materials. It is used in many fields due to its electrical, mechanical and physical properties. For example; Schottky diodes, fast switch applications, sensors, FETs, MESFETs, microwave circuit elements, solar cells, plastic batteries, varactors, electroluminescence devices (Güzel and Çolak, 2021).

Conjugated polymers are important for the production of solid state circuit elements. The fact that conjugated polymers have different groups in the molecular structure indicates that these polymers will cease to be an insulating material by chemical and electrochemical methods and gain metallic properties (Lim et al., 2016). In Schottky contacts made using conductive polymers, the barrier height increases while the ideality factor decreases as the temperature increases. This behavior indicates that the barrier heights at the interface have a Gaussian distribution, which means that there is no homogeneous distribution at the interface (Altan et al., 2020).

In this study, Indigo Carmine (IC) material was used as the interface material. This material is an organic salt soluble in water. IC is used as a colorant in foods, cosmetics and clothing. It is also used in medical applications. The IC material is produced by natural indigo sulfonation or fusion of N-phenylglycine in a mixture of sodamide and sodium and potassium hydroxide under ammonia pressure (Guaraldo et al., 2011; Kekes et al., 2020). IC molecules act as good electron acceptors. Due to its good electron acceptance properties, electron transfer processes take place under both intramolecular and intermolecular conditions. This material consists of donor-acceptor-donor electron groups, which provides remarkable electrical and optical properties (Pramodini and Poornesh, 2014).

Electrical measurements taken on Schottky diodes at different temperatures give a lot of information about diode parameters. Therefore, *I-V* measurements were taken at different temperature values for better understand the current transmission mechanism of the diode.

MATERIAL AND METHODS

Analyzing of The Indigo Carmine Material

The Indigo Carmine material was obtained from Sigma Aldrich Company. The molecular formula of this material is $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$ and its molecular weight is 466.35 g/mol. Fig. 1 shows the structural shape of indigo carmine material. The SEM image of IC is given in Fig. 2. The width of indigo carmine particles obtained from SEM images is around 5 ± 0.5 nm. As can be seen from the figure, these particles have a fine-sized dispersed structure and show a homogeneous distribution.

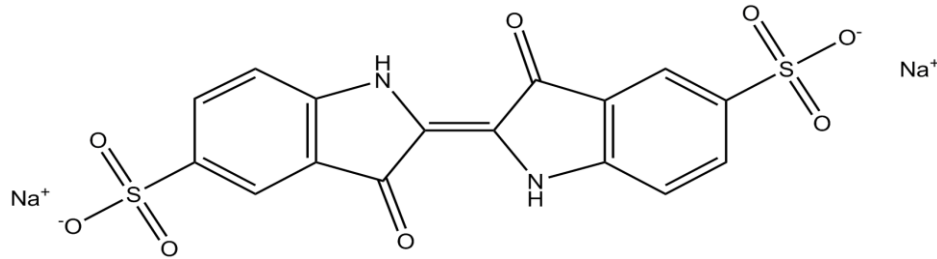


Figure 1. The schematic diagram of Indigo Carmine

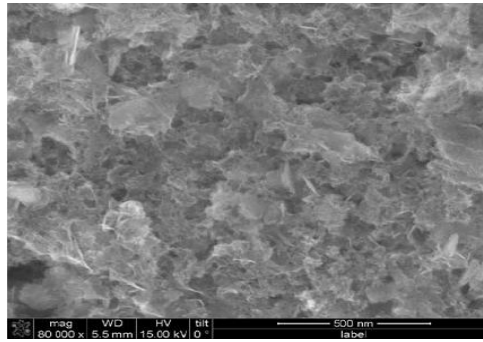


Figure 2. The SEM image of Indigo Carmine

Fabrication of The Diode

Chemical cleaning procedures RCA1 and RCA2 were applied to purify the *p*-Si crystal from surface impurities (Çaldıran, 2019). After the cleaning procedure, the matte side of the *p*-Si crystal was coated with Al metal using the thermal evaporation method. This sample was annealed at 580 °C for 3 minutes in N₂ atmosphere. Thus, Al/*p*-Si ohmic contacts were obtained. After the other surface of the *p*-Si crystal was coated with 10 nm thick IC material by spin coating method. Lastly, the Cr metal was coated on the indigo carmine material using the DC sputtering method. So, the reference Cr/*p*-Si/Al and Cr/IC/*p*-Si/Al diodes were obtained. The Fig. 3 shows the structural of Cr/IC/*p*-Si/Al diode.

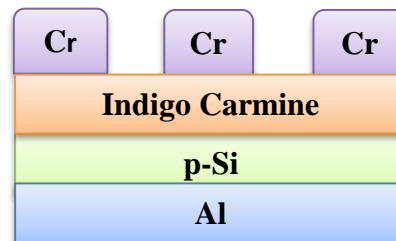


Figure 3. Schematic diagram of Cr/IC/*p*-Si/Al heterojunction

RESULTS AND DISCUSSION

The release of carriers from a hot surface due to their thermal energy is defined as thermionic emission. Electron transport through a potential barrier in Schottky contacts is explained by this theory.

According to the Thermionic Emission (TE) theory of a Schottky diode, the current in the case of forward bias is given by the following equation (1).

$$I = I_0 \left[\exp\left(\frac{eV}{nkT}\right) - 1 \right] \quad (1)$$

In this expression, if $eV \gg nkT$, "1" in the second term can be omitted. Thus, we obtain equation (2) by arranging equation (1).

$$I = I_0 \left[\exp\left(\frac{eV}{nkT}\right) \right] \quad (2)$$

If we take the natural logarithm of both sides of the expression (2) and then derive its derivative with respect to V , we get equation (3).

$$n = \frac{e}{kT} \frac{dV}{d(\ln I)} \quad (3)$$

The n expression obtained from equation (3) represents the ideality factor. The n is very important in determining the diode characteristic and has no unit. For a diode to be ideal, $n = 1$ must be. As the n value takes values greater than 1, the diode starts to move away from the ideal (Tung, 1991).

The greater value of the n may be due to the potential drop in the interfacial layer, the presence of overcurrent and recombination current through the interfacial states between the semiconductor/insulator layers (Reddy, 2014).

When we plot the $\ln I$ versus V from the I - V measurements of the diodes, a line is obtained if a fit is drawn towards the linear region in the line of supply. The $dV/d(\ln I)$ term is obtained from the slope of this line. The point where the line obtained from the drawn fit intersects the vertical axis at $V=0$ gives the saturation current density of I_0 .

$$I_0 = AA^*T^2 \exp\left(-\frac{e\Phi_b}{kT}\right) \quad (4)$$

In equation (4), if we take the natural logarithm of the terms and remove $e\Phi_b$ from the equation, we reach the equation that gives the Φ_b . This expression is calculated by equation (5).

$$e\Phi_b = kT \ln(AA^*T^2/I_0) \quad (5)$$

In the expression (5), A is the effective area of the diode ($A=0.00785 \text{ cm}^2$) A^* is the Richardson constant, and this value is $32 \text{ A K}^{-2} \text{ cm}^{-2}$ for p -Si (Rhoderich and Williams, 1988).

The I - V measurements of Cr/ p -Si/Al and Cr/IC/ p -Si/Al diodes were taken at room temperature. The **Fig.4** shows I - V graphs of these diodes. Also, the n and Φ_b values calculated and they are given in **Table 1**.

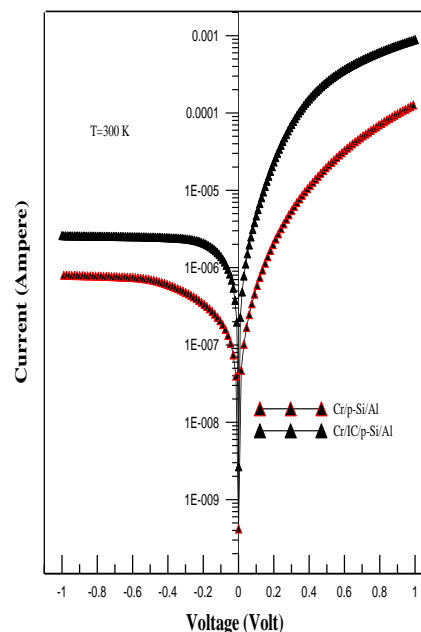


Figure4. The I - V graphs of Cr/ p -Si/Al and Cr/IC/ p -Si/Al diodes

Table 1. The n and Φ_b values of Cr/ p -Si/Al and Cr/IC/ p -Si/Al diodes

	n	Φ_b (eV)
Cr/ p -Si/Al	1.71	0.57
Cr/IC/ p -Si/Al	1.23	0.73

As can be seen from the calculated values of basic diode parameters, Indigo Carmine material made improvements in the electrical properties of the diode and contributed to the electrical conductivity of the diode. If it is considered that n value is 1 in ideal diodes, the n has decreased from 1.71 to 1.23. In addition, the Φ_b value in diodes has increased from 0.57 eV to 0.73 eV as desired. This indicates that the IC material is an electrically conductive material. IC material is frequently used in device construction due to its electrical conductivity, good film forming property and high thermal stability (Manthrammel et al., 2019).

The temperature dependent I - V graphs of the Cr/IC/p-Si/Al diode is given in **Fig. 4**. In addition, **Table 2** contains the n and Φ_b values of diode for temperature values between 120 K and 320 K ($\Delta T=20$ K).

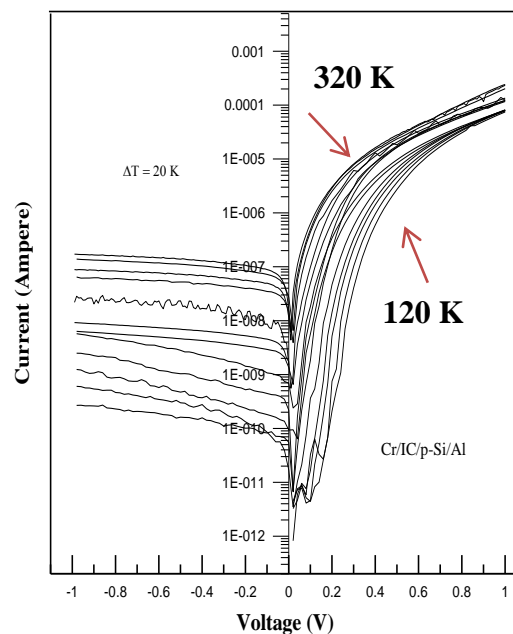


Figure 4. The I - V graphs of the Cr/IC/p-Si/Al diodes depending on temperature

Table 2. The n and Φ_b values of Cr/IC/p-Si/Al diode

Temperature (K)	n	Φ_b (eV)
120	2.08	0.27
140	1.97	0.30
160	1.85	0.37
180	1.76	0.43
200	1.67	0.52
220	1.52	0.56
240	1.44	0.61
260	1.36	0.66
280	1.29	0.69
300	1.23	0.73
320	1.21	0.75

The n - T and Φ_b - T graphs of the Cr/IC/p-Si/Al diode are given in **Figure 5**. When this graph is examined, as the temperature value increases, the n value decreases while the Φ_b value increases. It can also be observed in this graph that the I - V characteristic of the diode is strongly temperature dependent. Due to the inhomogeneous nature of the potential barrier at the MS interface, electrons pass through a low barrier at low temperatures, while at high temperatures they have the energy to cross a higher barrier. Thus, deviations from linearity occur in the I - V characteristic of the diode and the value

of the n increases (Afandiyeva et al., 2013). Also, the increase and decrease in the value of the n and Φ_b with the temperature change can be explained by the increase in inhomogeneity due to physical conditions such as surface defects, high density of interfacial state and non-homogenous doping concentration (Tung, 1992).

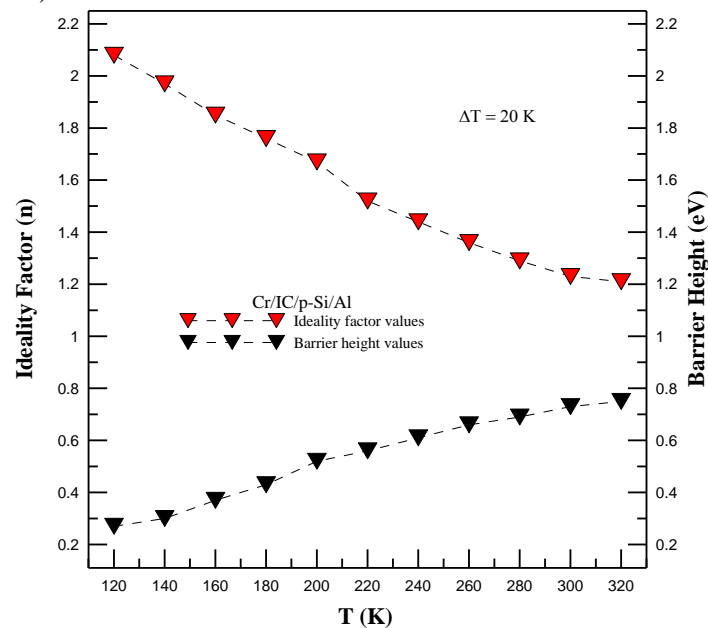


Figure 5. The n - T and Φ_b - T graphs of the Cr/IC/p-Si/Al diode

It is very important to calculate the series resistance R_s value of the diode in order to better analyze the deviations from linearity in the I - V characteristics of the diodes. The high R_s values adversely affect the electrical properties of diodes (Reddy et al., 2020). Cheung functions are the one of the most important ways to calculate the R_s value in diodes. Using the Cheung functions, we can also determine n and Φ_b values. Cheung functions are given by the following equations; (Werner and Gütter, 1991)

$$I = I_0 \exp \left[\frac{q(V - IR_s)}{nkT} \right] \quad (6)$$

$$\frac{dV}{d(\ln I)} = \frac{nkT}{q} + IR_s \quad (7)$$

$$H(I) = V - \left(\frac{nkT}{q} \right) \ln \left(\frac{I}{AA^*T^2} \right) \quad (8)$$

$$H(I) = n\Phi_b + IR_s \quad (9)$$

The $dV/d\ln I - I$ and $H(I) - I$ graphics of Cr/IC/p-Si/Al diode is given respectively **Fig. 6** and **Fig. 7**. The R_s and n values of the diode were calculated using Equation (6-7), the Φ_b and R_s values of the diode were calculated from equation (8-9). The n , Φ_b and R_s values of diode are given in **Table 3**. According to this table, the Φ_b values calculated from Cheung and TE models are close to each other. In **Fig. 8**, comparison of the n values calculated by Cheung and TE method depending on the temperature is given. According to this figure the value of n calculated from the Cheung method is greater than the value calculated by the TE method. This difference between values is attributed to the series resistance effect, interface states, and voltage drop across the interface layer (Hamdaoui et al., 2014).

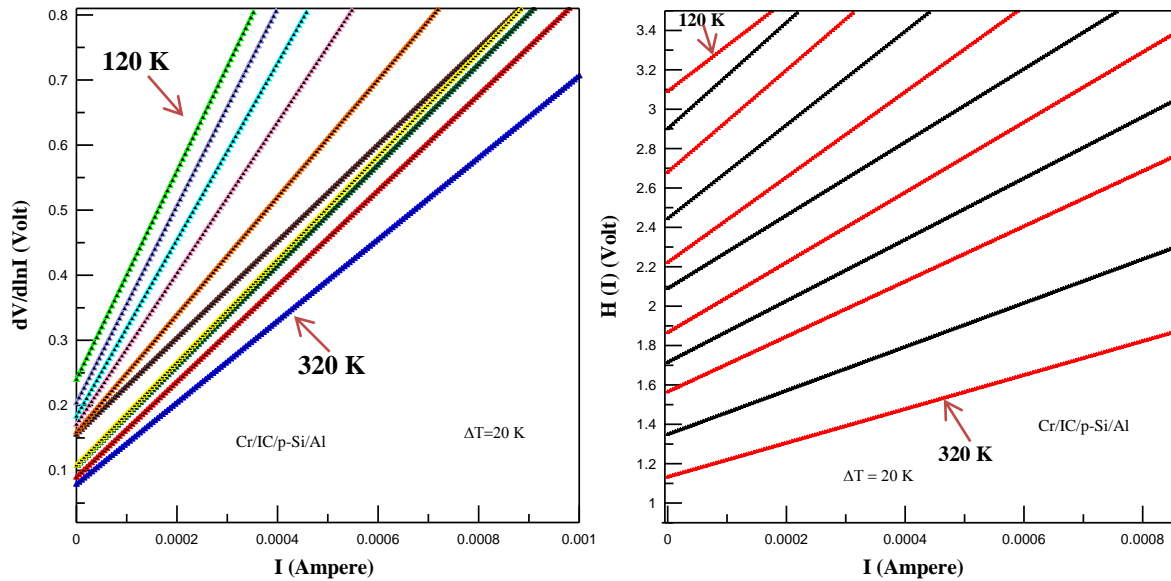


Figure 6. The $dV/d\ln I - I$ graphs of Cr/IC/p-Si/Al diode Figure 7. The $H(I) - I$ graphs of Cr/IC/p-Si/Al diode

Table 3. Basic diode parameters obtained using Cheung functions for Cr/IC/p-Si/Al diode

Temperature (K)	$dV/d\ln(I)$		$H(I)-I$	
	n	$R_s(\Omega)$	$\Phi_b(eV)$	$R_s(\Omega)$
120	4.57	5011	0.11	4565
140	4.21	4659	0.14	4016
160	3.65	4258	0.17	3755
180	3.27	3884	0.22	3304
200	2.98	3291	0.27	2999
220	2.56	2958	0.39	2690
240	2.27	2614	0.46	2388
260	2.02	2257	0.51	2001
280	1.89	2027	0.57	1846
300	1.71	1908	0.64	1733
320	1.57	1645	0.68	1385

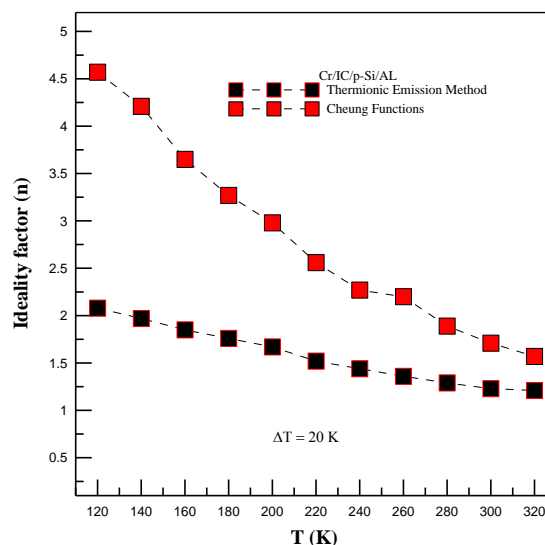


Figure 8 The comparison of n values calculated from Cheung and TE methods for Cr/IC/p-Si/Al diode

The Fig. 9 shows the temperature change graphs of the series resistance values of the Cr/IC/p-Si/Al diode. The R_s values calculated using the $dV/d(\ln I) - I$ and $H(I) - I$ curves of the diode are compatible with each other. As the temperature values increase, R_s values decrease. The reason for this

is that as the temperature increases, the number of free carrier increases with the effect of ionization and therefore more current passes through the diode (Chand and Kumar, 1996).

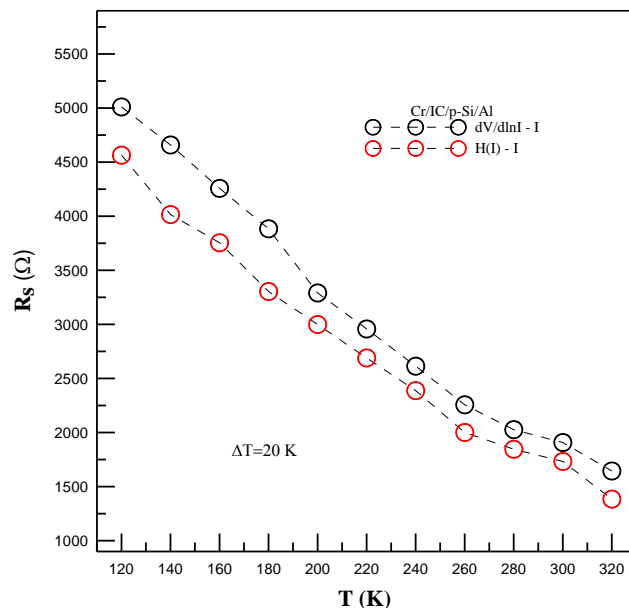


Figure 9. The $R_s - T$ graphs of Cr/IC/p-Si/Al diode (Cheung Functions)

The standard deviation and the σ_i has small value at high homogeneous barrier height gives important informations about the homogeneity of the potential barrier of diode. The σ_i value determines the size of the inhomogeneity in the barrier. For calculate the σ_i and the average barrier height $\overline{\Phi_b}$ values , we use the equation (10), which is the single Gaussian equation, is used.

$$\Phi_b = \Phi_{b1} - \frac{q\sigma_i^2}{2kT} \tag{10}$$

According to equation (10), the slope of the $\Phi_b - 1/T$ plot gives the σ_i standard deviation of the distribution and the point intersecting the y-axis gives the $\overline{\Phi_b}$ value at $V = 0$. The σ_i of a distribution determines the size of the distribution and indicates the effect and magnitude of potential barrier inhomogeneities in contact. The small σ_i and the $\overline{\Phi_b}$ value in a distribution means that the inhomogeneities present in the distribution are sufficiently small. The fact that σ_i has large values indicates that these anomalies in the contact structure are large and effective (Metin et al., 2014). One of the y-axes in **Fig. 10** shows the graphs of the $\Phi_b - 1/T$. **Fig. 10** shows that instead of a single intersecting linear line at 177 K, there are two linear lines at the MS interface, indicating the presence of two different barrier heights region. Therefore, the barrier at the MS interface shows a double Gaussian distribution (Beştaş et al., 2014). In order to calculate the voltage coefficients of the n values, the voltage coefficient of each distribution region is obtained using equation (11), which is the single Gaussian equation.

$$\left(\frac{1}{n_{ap}} - 1\right) = -\rho_2 + \frac{e\rho_3}{2kT} \tag{11}$$

The $[(1/n) - 1] - 1/T$ plot gives the voltage coefficient ρ_3 and ρ_2 of the distribution. Small voltage coefficients of ρ_3 and ρ_2 indicate that Schottky barrier inhomogeneities are small and if these coefficients are large, barrier inhomogeneities will be large (Ejderha et al., 2009). By applying the linear fit of the Φ_b values of the diode to two different distribution regions, the $\overline{\Phi_b}$ and σ_i values were calculated. These values are given in **Table 4**. Also, the other y-axis of **Fig. 10** shows the inverse of the n versus $q/2kT$. The n values have smaller values at high temperatures, while it is observed that the opposite of the n decreases more slowly at low temperatures due to the fact that the increase in the

values of the n is close to each other. Therefore, according to graph the values of the n show a double Gaussian distribution. The voltage coefficients from the plot of $(1/n) - I$ against $1/2kT$ are calculated and they are given in **Table 4**. The calculated σ_i values show that there is a large inhomogeneity in the diode interface. The inhomogeneous distribution at barrier height significantly affects the $I-V$ characteristic of the diode (Bobby et al., 2013).

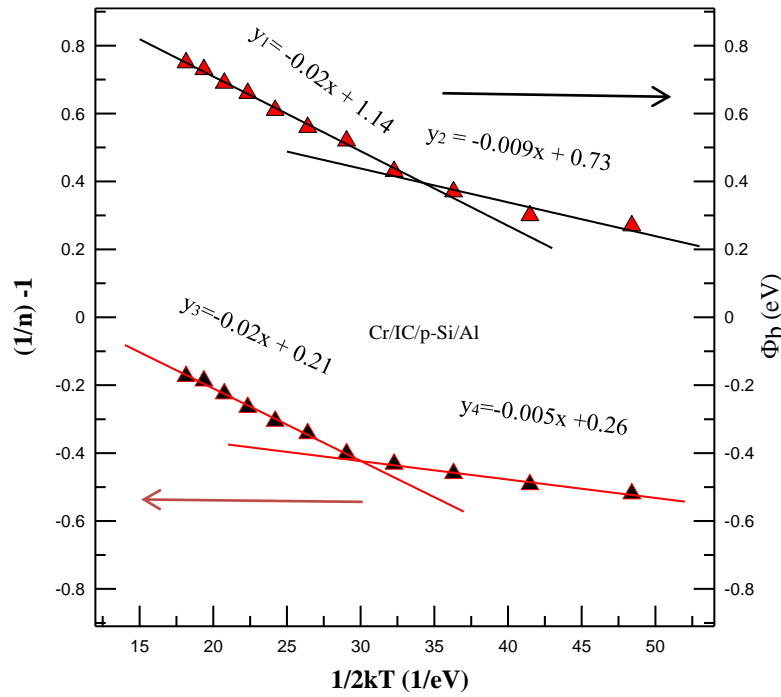


Figure 10. The $[(1/n) - I] - 1/2kT$ and $\Phi_b - 1/2kT$ graphs of Cr/IC/p-Si/Al diode

Table 4. The $\overline{\Phi_b}$, σ_i and voltage coefficients values of Cr/IC/p-Si/Al diode

T (K)	$\overline{\Phi_b}$ (eV)	σ_i	ρ_2	ρ_3
120 K -177 K	0.73	-0.009	-0.005	0.26
177 K -320 K	1.14	-0.02	-0.02	0.21

The effective Richardson constant A^* of the semiconductor surface is an important parameter in calculating the Schottky barrier height in MS contacts. Therefore, the calculation of the A^* constant is very important. Modified Richardson equation that can explain single distributions and is well known in the literature;

$$\ln\left(\frac{I_0}{T^2}\right) - \left(\frac{e^2\sigma_0^2}{2kT^2}\right) = \ln(AA^*) - \frac{e\overline{\Phi_b}}{kT} \tag{12}$$

The $\ln(I_0/T^2) - 1/T$ modified Richardson graph of Cr/IC/p-Si/Al diode is given in **Fig. 11**. The point intersecting the y-axis of the linear fit plotted on the modified Richardson graph gives the modified Richardson constant. The value of A^* calculated by using the slope of the line was determined as $A^* = 7.81 \text{ A K}^{-2} \text{ cm}^{-2}$. These experimentally obtained values are much less than $32 \text{ A K}^{-2} \text{ cm}^{-2}$ for the theoretically calculated p-Si. This is due to the inhomogeneous nature of the potential barrier. Due to the formation of oxide layers of different thickness between the metal and semiconductor, high and low barrier patches occur at the interface. Due to these potential fluctuations at the contact interface, the diode current prefers low barriers in potential distribution (Sharma and Periasamy, 2014).

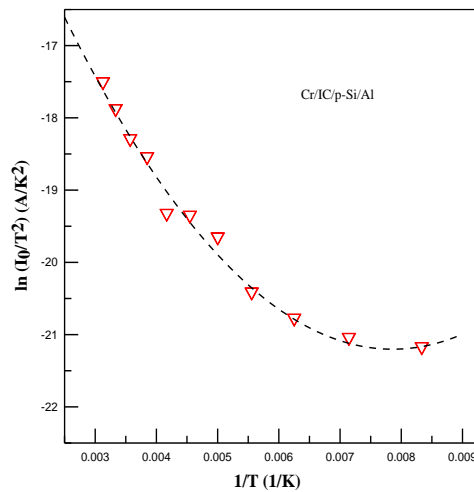


Figure 11. Modified Richardson plot of Cr/IC/p-Si/Al diode

New methods have been developed to determine physical (electronic) parameters such as R_s , n and Φ_b in MS contacts. One of these is the $F(V)$ function, which is defined by Norde for the R_s and Φ_b for $n = 1$ (Norde, 1979). This function is given by the following equation.

$$F(V) = \frac{V}{\gamma} - \left(\frac{kT}{2}\right) \ln\left(\frac{I(V)}{AA^*T^2}\right) \tag{13}$$

The $I(V)$ expression in equation (13) is the current value obtained from the $I-V$ graph of the diode, and γ is a random integer greater than the n value. First, the graph of F versus V is plotted. From this graph, the minimum value of $F(V)$ against V is determined. With the help of this equation, the Φ_b value is calculated by equation (14).

$$\Phi_b = F(V_0) + \frac{V_0}{\gamma} - \frac{kT}{q} \tag{14}$$

The value of $F(V_0)$ in this equation is the minimum value of $F(V)$ and V_0 is the minimum value corresponding to this value. R_s values are calculated by equation (15) (Zhang et al., 2013).

$$R_s = \frac{kT(\gamma - n)}{qI_0} \tag{15}$$

The **Fig. 12** shows the $F(V) - V$ graphs of Cr/IC/p-Si/Al diode. **Table 5** contains the Φ_b and R_s values of diode which are calculated with Norde functions.

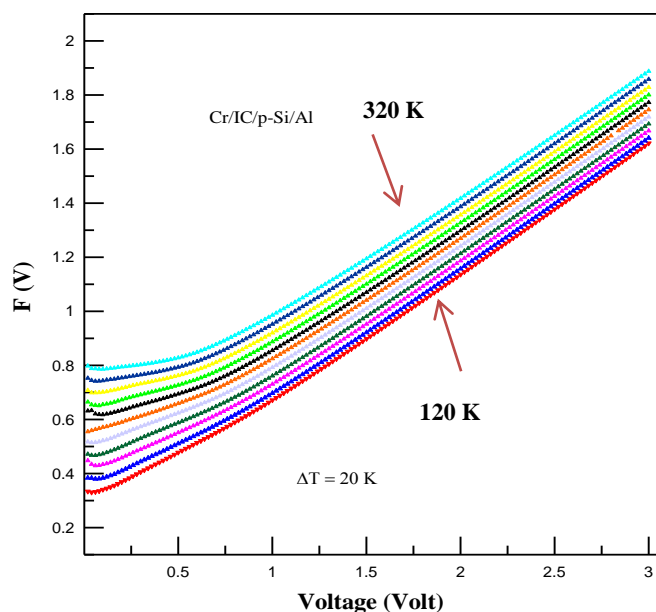
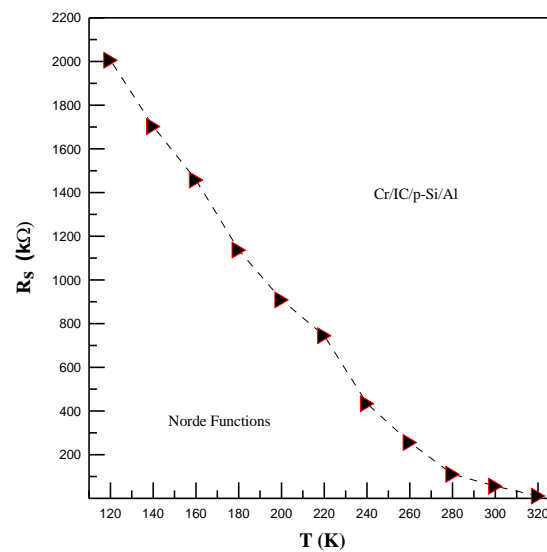


Figure 12. The $F(V) - V$ plots of Cr/IC/p-Si/Al diode

Table 5. The Φ_b and R_s values of Cr/IC/p-Si/Al diode (Norde functions)

Temperature (K)	Φ_b (eV)	R_s (k Ω)
120	0.21	2006
140	0.26	1703
160	0.30	1458
180	0.38	1137
200	0.41	909
220	0.46	745
240	0.53	434
260	0.57	256
280	0.62	111
300	0.68	56.3
320	0.73	11.2

**Figure 13.** The R_s – T graph of Cr/IC/p-Si/Al diode (Norde Functions)

The values of Φ_b calculated using the Norde functions are almost the same as the values calculated from the TE and Cheung methods. It also shows a harmonious change in temperature. **Fig. 13** shows the temperature-dependent change graph of the R_s values calculated from the Norde functions for Cr/IC/p-Si/Al diode. According to this graph, the R_s values decreases with increasing temperature. The reason for this change is that the free carrier concentration increases as the temperature increases (Sağlam et al., 2013; Deniz et al., 2014).

CONCLUSIONS

In this study, room temperature I - V measurements of Cr/p-Si/Al and Cr/IC/p-Si/Al diodes which are fabricated under the same conditions were analyzed and it was determined that the Indigo Carmine material caused an improvement in the basic diode parameters of the diode. This is due to the fact that the Indigo Carmine material is an electrically conductive material. From the temperature-dependent measurements of the Cr/IC/p-Si/Al diode, it was determined that the n value and the R_s value decreased with increasing temperature, while the Φ_b value increased. The effective Richardson constant of the diode was determined as $A^* = 7.81 \text{ A K}^{-2}\text{cm}^{-2}$. These experimentally obtained values are much less than $32 \text{ A/K}^2\text{cm}^2$ for p-Si calculated theoretically. This is due to the inhomogeneous nature of the potential barrier. In addition, it has been determined that the potential barrier at the contact interface has a double Gaussian distribution.

Conflict of Interest

The article was written by a single author. All studies in the article were carried out by assistant professor Dr Ali Rıza DENİZ.

Author's Contributions

Since the article is written by a single author, there is no conflict of interest.

REFERENCES

- Afandiyeva IM, Demirezen S, Altındal Ş, 2013. Temperature dependence of forward and reverse bias current-voltage characteristics in Al-TiW-PtSi/*n*-Si Schottky barrier diodes with the amorphous diffusion barrier. *Journal of Alloys and Compounds*, 552:423-429.
- Altan H, Özer M, Ezgin H, 2020. Investigation of electrical parameters of Au/P3HT:PCBM/ *n*-6H-SiC/Ag Schottky barrier diode with different current conduction models. *Superlattices and Microstructures*, 146:106658.
- Balasubramani V, Chandrasekaran J, Nyugen TD, Maruthamuthu S, Marnadu R, Vivek P, Sugarthi S, 2020. Colossal photosensitive boost in Schottky diode behaviour with Ce-V₂O₅ interfaced layer of MIS structure. *Sensors and Actuators A: Physical*, 315:112333.
- Beştaş AN, Yazıcı S, Aktaş F, Abay B, 2014. Double Gaussian distribution of barrier height for FeCrNiC alloy Schottky contacts on *p*-Si substrates. *Applied Surface Science*, 318:280-284.
- Bobby A, Verma S, Asokan K, Sarun PM, Antony BK, 2013. Phase transition induced double-Gaussian barrier height distribution in Schottky diode. *Physica B*, 431:6-10.
- Chand S, Kumar J, 1996. Evidence for the double distribution of barrier heights in Pd₂Si/*n*-Si Schottky diodes from *I-V-T* measurements. *Semiconductor Science and Technology*, 11(1):1203-1208.
- Çaldıran Z, 2019. Fabrication of Schottky barrier diodes with the lithium fluoride interface layer and electrical characterization in a wide temperature range. *Journal of Alloys and Compounds*, 816:152601.
- Deniz AR, Çaldıran Z, Metin Ö, Can H, Meral K, Aydoğan Ş, 2014. Schottky diode performance of an Au/Pd/GaAs device fabricated by deposition of monodisperse palladium nanoparticles over a *p*-type GaAs substrate. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 27:163-169.
- Ejderha K, Yıldırım N, Abay B, Turut A, 2009. Examination by interfacial layer and inhomogeneous barrier height model of temperature-dependent *I-V* characteristics in Co/*p*-InP contacts. *Journal of Alloys and Compounds*, 484:870-876.
- Guaraldo TT, Pulcinelli SH, Zanoni MVB, 2011. Influence of particle size on the photoactivity of Ti/TiO₂ thin film electrodes, and enhanced photoelectro catalytic degradation of indigo carmine dye. *Journal of Photochemistry and Photobiology A:Chemistry*, 217:259-266.
- Güzel T, Çolak AB, 2021. Artificial intelligence approach on predicting current values of polymer interface Schottky diode based on temperature and voltage: An experimental study. *Superlattices and Microstructures*, 153:106864.
- Hamdaoui N, Ajjel R, Salem B, Gendry M, 2014. Distribution of barrier heights in metal/*n*-InAlAs Schottky diodes from current-voltage-temperature measurements. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 26:431-437.
- Kekes T, Tzia C, 2020. Adsorption of indigo carmine on functional chitosan and β-cyclodextrin/chitosan beads: Equilibrium, kinetics and mechanism studies. *Journal of Environmental Management*, 262:110372.
- Lim LW, Aziz F, Muhammad FF, Supangat A, Sulaiman K, 2016. Electrical properties of Al/PTB7-Th/*n*-Si metal-polymer-semiconductor Schottky barrier diode. *Synthetic Metals*, 221:169-175.

- Manthrammel MA, Yahia IS, Shkir M, Alfaify S, Zahran HY, Ganesh V, Yakuphanoglu F, 2019. Novel design and microelectronic analysis of highly stable Au/Indigo/*n*-Si photodiode for optoelectronic applications, *Solid State Sciences*, 93:7-12.
- Metin Ö, Aydoğan Ş, Meral K, 2014. A new route for the synthesis of graphene oxide-Fe₃O₄ (GO-Fe₃O₄) nanocomposites and their Schottky diode applications. *Journal of Alloys and Compounds*, 585:681-688.
- Norde H, 1979. A modified forward *I-V* plot for Schottky diodes with high series resistance. *Journal of Applied Physics*, 7(50):5052.
- Pramodini S, Poornesh P, 2014. Third-order nonlinear optical response of indigo carmine under 633 nm excitation for nonlinear optical applications. *Optics & Laser Technology*, 63:114-119.
- Reddy PRS, Janardhanam V, Shim K-H, Lee S-N, Kumar AA, Reddy VR, Choi CJ, 2020. Temperature dependent Schottky barrier characteristics of Al/*n*-type Si Schottky barrier diode with Au-Cu phthalocyanine interlayer. *Thin Solid Films*, 713:138343.
- Reddy PRS, Janardhanam V, Shim K-H, Reddy VR, Lee S-N, Park S-J, Choi C-J, 2020. Temperature-dependent Schottky barrier parameters of Ni/Au on *n*-type (001) β-Ga₂O₃ Schottky barrier diode. *Vacuum*, 171:109012.
- Reddy VR, 2014. Electrical properties and conduction mechanism of an organic-modified Au/NiPc/*n*-InP Schottky barrier diode. *Applied Physics A*, 116:1379-1387.
- Rhoderick EH, Williams RH, 1988. *Metal semiconductor contacts*. 2nd ed. Oxford University Press.
- Sağlam M, Güzeldir B, Ateş A, Buğur E, 2013. Temperature dependence of current-voltage characteristics of the Cd/CdS/*n*-GaAs/In sandwich structure. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 74:370-376.
- Sharma S, Periasamy C, 2014. A study on the electrical characteristic of *n*-ZnO/*p*-Si heterojunction diode prepared by vacuum coating technique. *Superlattices and Microstructures*, 73:12-21.
- Tung RT, 1991. Electron transport of inhomogeneous Schottky barriers. *Applied Physics Letter*, 83:2821-2823.
- Tung RT, 1992. Electron transport at metal-semiconductor interfaces. *General Theory Physical Review B*, 45:13509.
- Werner JH, Gütter HH, 1991. Barrier inhomogeneities at Schottky contacts. *Journal Applied Physics*, 69(3):1522-1532.
- Zhang X, Zhai J, Yu X, Ding L, Zhang W, 2013. Fabrication and characterization of flexible Ag/ZnO Schottky diodes on polyimide substrates. *Thin Solid Films*, 548:623-626.

Atf İçin: Güngör E, Subaşat Kara H, 2021. 3-Piridin Boronik Asit ve PtCN₄ İçeren Yeni [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]₂[Pt(CN)₄] Bileşiğin Sentezi ve Kristal Yapısı. İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2803-2809.

To Cite: Gungor E, Subasat Kara H, 2021. Synthesis and Crystal Structure of New [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]₂[Pt(CN)₄] Compound of Containing Pyridine-3-Boronic Acid and PtCN₄. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2803-2809.

3-Piridin Boronik Asit ve PtCN₄ İçeren Yeni [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]₂[Pt(CN)₄] Bileşiğin Sentezi ve Kristal Yapısı

Elif GÜNGÖR¹, Hülya KARA SUBAŞAT^{2*}

ÖZET: Bu çalışmada, yeni bileşik [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]₂[Pt(CN)₄] sentezlendi ve tek kristal X-ışını kırınımı metodu ile kristal yapısı karakterize edildi. Kristal yapı analizi bileşiğin ortorombik kristal sisteminde, Cmca uzay grubunda ve a=6.4372(13) Å, b=14.769(3) Å, c=19.045(4) Å, α = β = γ = 90°, V=1810.6(6) Å³, Z=4 kristalleştirdiğini gösterdi. Bileşiğin kristal yapısında [Pt(CN)₄]²⁻ anyonu ve [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]²⁺ katyonu N-H...NCp⁻ ve güçlü B(OH)...NCp⁻ hidrojen bağı ile etkileşmektedir. Böylece, yapı bir boyutlu zincir bir yapıda büyümektedir. Kayma düzleminin üzerine ve altına dönüşümlü olarak yönlendirilen katyon molekülleri bc düzleminde iki boyutlu bir ağ oluşturmaktadır. Ayrıca, O-H...N, C-H...O, C-H...N ve N-H...N hidrojen bağı etkileşimleri de molekülleri bir arada tutmaktadır. Böylece üç boyutlu paketlenmiş bir yapı oluşmaktadır. Bu hidrojen bağı etkileşimleri üç boyutlu kristal yapının oluşmasını ve kafes yapının kararlılığını sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Boronik asit bileşiği, kristal yapı, hidrojen bağı etkileşimi

Synthesis and Crystal Structure of New [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]₂[Pt(CN)₄] Compound of Containing Pyridine-3-Boronic Acid and PtCN₄

ABSTRACT: In this work, the new compound [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]₂[Pt(CN)₄] was synthesized and its crystal structure was characterized by the single crystal X-ray diffraction method. Crystal structure analysis showed in the orthorhombic crystal system of the compound, in the Cmca space group and a=6.4372(13) Å, b=14.769(3) Å, c=19.045(4) Å, α = β = γ = 90°, V = 1810.6(6) Å³, Z = 4 crystallization. In the crystalline structure of the compound, [Pt(CN)₄]²⁻ anion and [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]²⁺ cation interact with N-H...NCp⁻ and strong B(OH)...NCp⁻ hydrogen bonds. Thus, the structure grows in a one-dimension chain structure. A two-dimensional network is formed in the bc plane with the cation molecules directed alternately above and below the glide plane. In addition, hydrogen bond interactions O-H...N, C-H...O, C-H...N and N-H...N also hold molecules together. Thus, a three-dimensional packed structure is formed. These hydrogen bond interactions provide the formation of a three-dimensional crystal structure and the stability of the lattice structure.

Keywords: Boroxine acid compound, crystal structure, hydrogen bond interactions

¹ Elif GÜNGÖR (Orcid ID: 0000-0002-7158-9604), Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Balıkesir, Türkiye

² Hülya KARA SUBAŞAT (Orcid ID: 0000-0002-2032-8930), Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Enerji Bölümü, Muğla, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hülya KARA SUBAŞAT, e-mail: hulyasubasat@mu.edu.tr

GİRİŞ

Boronik asitler, biyoorganik ve tıbbi kimya (Becke, 1988, 1993) tarım kimyasalları (Torborg ve Beller, 2009), organik kimya (Ejsmont ve ark., 2003), proteaz inhibitörleri (Khangulov ve ark., 1995; Carvajal ve ark., 1996) alanlarında yaygın olarak kullanılan önemli maddelerdir. Bozunduğunda orto borik asit meydana geldiği için, çevreye ve insan sağlığına zarar vermemektedir. Özellikle suda çözünebilen küçük boronik asitler, böbrekler tarafından vücuttan atılmaktadır. Vücuda zarar vermemesi ve çapraz kenetlenme özelliklerine sahip olmasından dolayı tıbbi kimyada birçok ilaç yapısında kullanılmaktadır (Suzuki ve ark., 1998; Roughley ve Jordan, 2011; Diccianni ve Diao, 2019; Li ve ark., 2019; Deng ve ark., 2020; Mohammadi ve Choghamarani, 2020). Özellikle, kanser tedavisinde potansiyel bir bor kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Yang ve ark., 2003; Deagostino ve ark., 2016; Zhu ve ark., 2020). Boronik asit içeren ilk antikanser ilacı Velcade'nin piyasaya sürülmesiyle boronik asitlerin tıpta ve kimyada çok önemli bir bileşik olduğu kanıtlandı (Hall, 2011). Dolayısıyla, boronik asitlerin hidrojen bağlı türevleri süper moleküller olarak daha çok ilgi görmeye başladı. Bu nedenle, kristal mühendisliği prensiplerini takip ederek bu alanda farklı moleküler grup alternatiflerini oluşturmak için, piridin boronik asit ve metal tuzlarıyla bileşiklerin sentezlenmesi, kristal yapı, molekül içi ve molekül dışı hidrojen bağı etkileşimlerinin incelenmesi önem kazanmıştır.

Son birkaç yıldır, araştırma grubumuz çeşitli aromatik karboksilat ve piridin türevleri içeren organik yapıları moleküllerin yapısal ve optik karakterizasyonu konularında aktif olarak çalışmaktadır (Coban ve ark., 2017; Oylumluoglu ve ark., 2017; Coban, 2018). 3- ve 4-piridinboronik asit katyonları ile [MCL₄]²⁻ (M = Ni, Cu, Pt ve Pd) anyonik tuzlarına dayanan bir dizi bileşiğin kristal yapısı ve hidrojen bağı etkileşimleri incelenmiştir (Yahsi ve ark., 2015). Bu çalışmalar, hidrojen bağı verme kabiliyetine sahip olan katyonların, hidrojen bağı yapılarının oluşumuna izin verdiğini göstermektedir.

Bu çalışmada, yeni [HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂[Pt(CN)₄] bileşiği sentezlendi, kristal yapısı tek kristal X-ışını kırınım yöntemi ile karakterize edildi. Ayrıca kristal yapıdaki molekül içi ve moleküler arası B(OH)···NCpT⁻ ve NH···NCpT⁻ O-H···N, C-H···O, C-H···N ve N-H···N O hidrojen bağı etkileşimleri incelendi.

MATERYAL VE METOT

Deneyde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler Sigma-Aldrich firmasından ticari olarak alındı ve herhangi bir saflaştırma işlemi uygulamadan kullanıldı. Bileşiğin C, H ve N element analizi LECO-CHNS-932 marka cihazı ile gerçekleştirildi. Tek kristal X-ışını şiddet verileri Bruker Apex II X-Işınları Tek Kristal Difraktometre cihazı ile MoK α ışını kullanılarak ölçüldü. Ölçülen şiddet verilerine SAINT programında (Bruker-AXS, 2008) absorpsiyon, lorentz ve polarizasyon düzeltmeleri yapıldı. Bileşiğin yapısı OLEX2 programında (Dolomanov ve ark., 2009), SHELXTL (Sheldrick, 2008) ara yüzü ile çözüldü ve SHELXTL üzerinde küçük kareler yöntemi kullanıldı. Hidrojen olmayan tüm atomlar anizotropik olarak arıtıldı. Hidrojen atomları, izotropik yer değiştirme parametreleri ile ideal konumlara yerleştirildi. Bileşiğin şekilleri MERCURY (Macrae ve ark., 2006) programı ile oluşturuldu ve moleküller arası etkileşimleri belirlemek için kullanıldı. Bileşiğe ait kristalografik bilgiler ve deneysel veriler Çizelge 1'de verilmektedir.

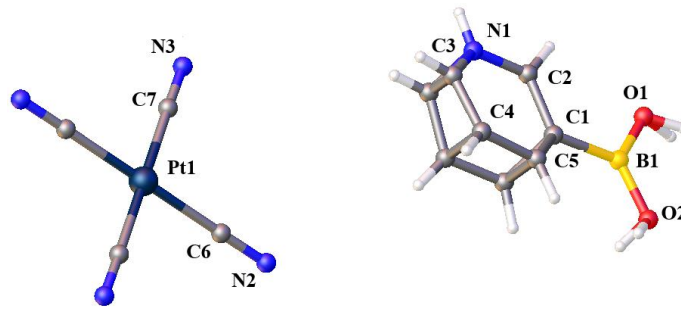
[HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂[Pt(CN)₄] Bileşiğinin Sentezi

[HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂[Pt(CN)₄] bileşiği daha önce yayınlanan çalışmadaki prosedüre göre sentezlendi (Gray ve ark., 1988). 3-Piridin boronik asit, hidroklorür tuzunu oluşturmak için konsantre hidroklorik asitten yeniden kristallendirildi. Tek kristaller, 'mini Htube' olarak adlandırdığımız yöntemle göre 3-piridin boronik asit hidroklorür ve K₂PtCN₄ tuzunun stokiometrik miktarlarının yavaş difüzyonu

ile elde edildi. Bu yöntemde 3-Piridin boronik asit hidroklorür (0.033 g, 0.21 mmol) 5 ml saf suda ve K₂PtCN₄ (0.072 g, 0.21 mmol) 10 ml saf su da ayrı ayrı çözüldü ve iki küçük cam tüpe dolduruldu. Küçük cam tüpler daha büyük kapaklı bir cam şişenin içine yerleştirildi. Şişe saf su ile dolduruldu ve hava almayacak şekilde kapatılarak yavaş difüzyon için bekleme bırakıldı. Elde edilen kırmızı kristaller vakumla süzülerek toplandı, sırasıyla saf su (5 ml), etanol (5 ml), dietil eter (5 ml) ile yıkandı ve vakum pompasında kurutuldu. [HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂[Pt(CN)₄], verim % 79. Teorik element analizi (%): C 30.74; H 2.58; N 15.36. Deneysel Element Analizi (%) : C 30.34; H 2.63; N 15.39.

BULGULAR VE TARTIŞMA

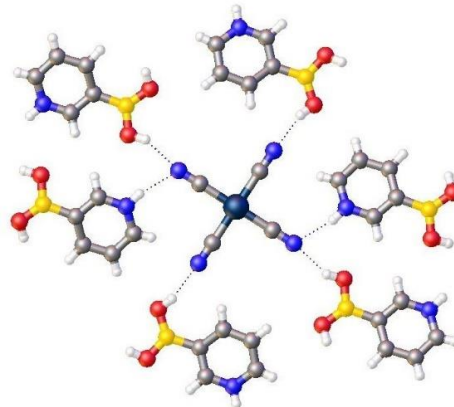
Ortorombik kristal sisteminde, Cmca uzay grubunda kristallenen [HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂[Pt(CN)₄] bileşiğinin kristal yapısı, ayrı olarak [Pt(CN)₄]²⁻ anyonu ve [HNC₅H₄B(OH)₂-3]²⁺ kationundan oluşmaktadır (Şekil 1). Bileşiğin asimetrik biriminde bir [HNC₅H₄B(OH)₂-3]⁺ kationu ve bir [Pt(CN)₄]²⁻ anyonun yarısı bulunmaktadır.



Şekil 1. Bileşiğin molekül yapısı

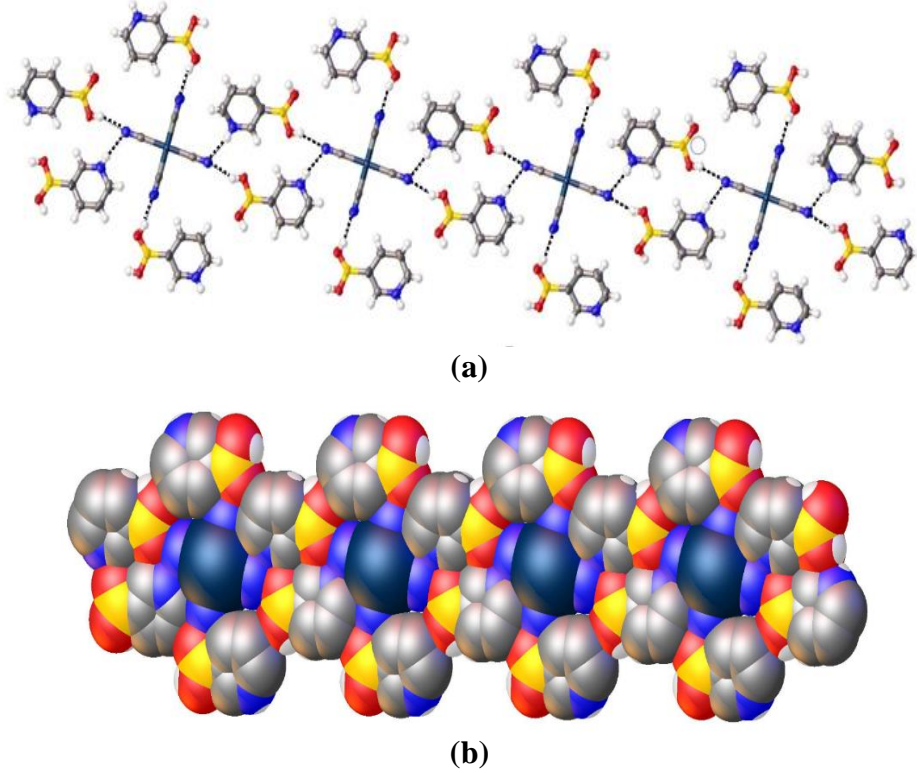
Anyonun C–Pt–C bağ açıları 89.43(12) ve 90.57(12)° açı ile ideal kare geometri açısından (90°) sapmaktadır. Bu nedenle, Pt^{II} iyonunun koordinasyonu hafifçe bozulmuş kare düzlemsel geometriye sahiptir. Pt–C ortalama bağ uzunluğu 1.988(3) Å'dur (Çizelge 2). Anyonun N–C–Pt ortalama bağ açısı 179.15° ile hemen hemen doğrusaldır. Piridin halkası üzerinde yer alan bor (B1) atomunun etrafındaki açıların toplamı ise 360°'dir (Çizelge 2). Bileşiğin B–C bağ uzunluğu 1.600(4) Å ve ortalama B–O bağ uzunluğu da 1.351(4) Å olup, daha önce literatürde yer alan benzer sistemlerin parametreleriyle benzerlik göstermektedir (Parry ve ark., 2002; Kara ve ark., 2006).

Bileşiğin kristal yapısında, [Pt(CN)₄]²⁻ anyonu, dört adet B(OH)⋯NCp⁻ ve iki adet NH⋯NCp⁻ hidrojen bağı etkileşimleri ile [HNC₅H₄B(OH)₂-3]²⁺ kationuna bağlanmaktadır (Şekil 2). Bileşikteki iki (B)OH⋯NCp⁻ hidrojen bağının (H⋯N, 2.09 Å ve 2.11 Å; O⋯N, 2.81 ve 2.84 Å; 145° ve 146°) geometrisi, güçlü etkileşimleri göstermektedir. Çünkü bu hidrojen bağ uzunlukları, standart *van der Waals* yarıçaplarının toplamından çok daha kısadır (Bondi, 1964).

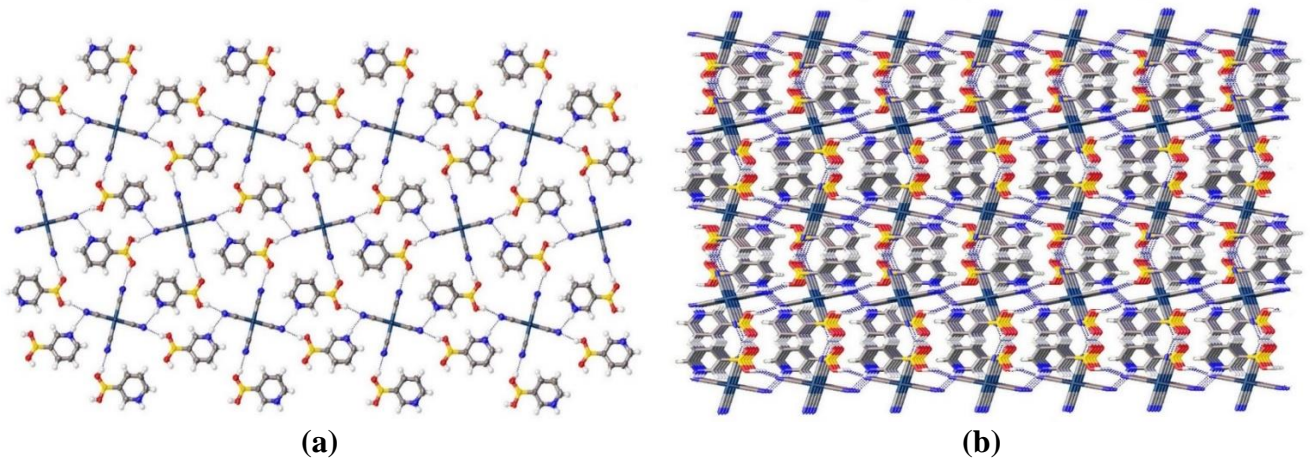


Şekil 2. Bileşikteki [Pt(CN)₄]²⁻ anyonu etrafındaki hidrojen bağı kationunun düzenlenmesi

Bileşiğın birincil hidrojen bağılı motifi, [Pt(CN)₄]²⁻ anyonu ile bağılıanan [HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂²⁺ kationlarının yaklaşık olarak paralel yönelimine sahip şeritlerdir (Şekil 3). Bu hidrojen bağılı şeritler, bileşikte *c* düzlemi boyunca paralel uzanan bir boyutlu (1D) moleküler bir zincir yapı oluşturmaktadır. Hidrojen bağılı bu zincir yapı içindeki Pt...Pt uzaklıkları 12.050 Å'dir. [HNC₅H₄B(OH)₂-3]₂²⁺ molekülleri, kayma düzleminin üzerine ve altına dönüşümlü olarak yönelmektedir (Şekil 3a). Bu nedenle bileşiğın bir boyutlu zincir yapısı, *bc* düzlemine paralel çift şerit olarak düzenlenerek, iki boyutlu yapıyı (2D) oluşturmaktadır (Şekil 4a). Ayrıca, O-H...N, C-H...O, C-H...N ve N-H...N hidrojen bağı etkileşimleri (Çizelge 3) ile üç boyutlu (3D) bir yapıya sahip olmaktadır (Şekil 4b).



Şekil 3. (a) Bileşiğın B(OH)···NCPt⁻ ve N-H···NCPt⁻ hidrojen bağılı bir boyutlu zincir yapısı; (b) Bileşiğın paketlenmiş görünümü



Şekil 4. (a) Bileşiğın *bc* düzleminde iki boyutlu yapısı (b) Bileşiğın üç boyutlu paketlenmiş görünümü

Çizelge 1. Kristalografik bilgiler ve deneysel veriler

1	
CCDC No	2058319
Molekülün Kapalı Formülü	C ₁₄ H ₁₄ B ₂ N ₆ O ₄ Pt
Kristal Sistemi, Uzay Grubu	Ortorombik, Cmca
Molekülün Ağırlığı (g mol ⁻¹)	547.02
Birim Hücre Parametreleri	$a = 6.437(13) \text{ \AA}$ $b = 14.769(3) \text{ \AA}$ $c = 19.045(4) \text{ \AA}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Birim Hücre Hacmi (Å ³)	1810.6(6)
Sıcaklık (°K)	100(2)
Z	4
d (g/cm ⁻³)	2.007
μ (mm ⁻¹)	7.783
Toplanan Yansımalar	6174
Bağımsız Yansımalar (R _{int})	1137 [Rint = 0.025]
R indeksi R ₁ [I > 2σ(I)]	0.0145
wR ₂ , S	0.0376, 1.14
Maksimum Pik, Minimum Pik (eÅ ⁻³)	0.7, -0.6

Çizelge 2. Seçilmiş geometrik parametreler (Å, °)

Bağ Uzunlukları		Bağ Açıları	
Pt1–C6	1.990(3)	C6–Pt1–C7	90.57(12)
Pt1–C7	1.987(3)	C6–Pt1–C7	89.43(12)
N1–C4	1.377(5)	C6–Pt1–C6	180.00
N1–C3	1.339(4)	O1–B1–O2	121.0(3)
N2–C6	1.151(4)	N2–C6–Pt1	179.3(3)
O1–B1	1.352(4)	N3–C7–Pt1	179(3)
O2–B1	1.350(4)		
C1–B1	1.600(4)		

Çizelge 3. Hidrojen bağları (Å)

D–H···A*	D–H	H···A	D···A	D–H···A	Simetri kodu
N1–H1···N2	0.83	2.12	2.93	168	1–x, 1/2+y, 1/2–z
O1–H1A···N2	0.84	2.11	2.84	146	1–x, 3/2–y, 1/2+z
O2–H2A···N3	0.84	2.09	2.81	145	x, 1+y, z
C2–H2···O1	0.95	2.51	3.21	130	x, 2–y, 1–z
C3–H3···N3	0.83	2.54	3.32	159	1–x, 1/2+y, 1/2–z
C5–H5···N3	0.95	2.50	3.33	146	x, 1+y, z

SONUÇ

Bu çalışmada, yeni bileşik [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]₂[Pt(CN)₄] difüzyon yöntemi ile sentezlendi ve tek kristal yapısı incelendi. Bileşiğın asimetrik biriminde bir [HNC₅H₄B(OH)₂₋₃]⁺ kationu ve bir [Pt(CN)₄]²⁻ anyonun yarısı ayrı olarak bulunmaktadır. [Pt(CN)₄]²⁻ anyonu, B(OH)···NCpt⁻ ve NH···NCpt⁻ hidrojen bağ etkileşimleri ile 3-piridin boronik asit kationlarına bağlanmaktadır. Pt^{II} iyonu hafifçe bozulmuş kare düzlemsel geometriye sahiptir. Bileşiğın kristal yapısı büyütüldüğünde, O–H···N, C–H···O, C–H···N ve N–H···N hidrojen bağları ile yapı iki ve üç boyutlu moleküler yapılar oluşmaktadır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Becke AD, 1988. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*, 38:3098–3100.
- Becke AD, 1993. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics*, 98:5648–5652.
- Bondi A, 1964. Van der Waals Volumes and Radii. *The Journal of Physical Chemistry*, 68:441–451.
- Carvajal N, Uribe E, Sepu'lveda M, Mendoza C, Fuentealba B and Salas M, 1996. Chemical modification of Semele solida arginase by diethyl pyrocarbonate: Evidence for a critical histidine residue. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 114:367–370.
- Coban MB, Kocak C, Kara H, Aygun M and Amjad A, 2017. Magnetic properties and sensitized visible and NIR luminescence of Dy^{III} and Eu^{III} coordination polymers by energy transfer antenna ligands. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 648:202–215.
- Coban MB, 2018. Hydrothermal synthesis, crystal structure, luminescent and magnetic properties of a new mononuclear Gd^{III} coordination complex. *Journal of Molecular Structure*, 1162:109–116.
- Deagostino A, Protti N, Alberti D, Boggio P, Bortolussi S, Altieri S and Crich SG, 2016. Insights into the use of gadolinium and gadolinium/boron-based agents in imaging-guided neutron capture therapy applications. *Future Medicinal Chemistry*, 8:899–917.
- Deng Q, Zheng Q, Zuo B and Tu T, 2020. Robust NHC-palladacycles-catalyzed Suzuki–Miyaura cross-coupling of amides via C-N activation. *Green Synthesis and Catalysis*, 1:75–78.
- Diccianni JB and Diao T, 2019. Mechanisms of Nickel-Catalyzed Cross-Coupling Reactions. *Trends in Chemistry*, 1:830–844.
- Dolomanov OV, Bourhis LJ, Gildea RJ, Howard JAK, Puschmann H, 2009. OLEX2: A Complete Structure Solution, Refinement and Analysis Program. *Journal of Applied Crystallography*, 42:339–341.
- Ejsmont K, Zaleski J, Sporzyński A and Lewandowski M, 2003. 5-Formyl-2-furanboronic acid at 100 K. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 59:o1324–o1326.
- Gray AP, Platz RD, Henderson TR, Timothy CP, Takahashi K and Dretchen KL, 1988. Approaches to protection against nerve agent poisoning. (Naphthylvinyl)pyridine derivatives as potential antidotes. *Journal of Medical Chemistry*, 31:807–814.
- Hall DG, 2011. In *Boronic Acids: Preparation and Applications in Organic Synthesis, Medicine and Materials* Second Edition, Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim, Germany.
- Kara H, Adams CJ, Orpen, AG, Podesta TJ, 2006. Pyridinium Boronic Acid Salts in Crystal Synthesis. *New Journal of Chemistry*, 30:1461–1469.
- Khangulov SV, Pessiki PJ, Barynin VV, Ash DE and Dismukes GC, 1995. Determination of the Metal Ion Separation and Energies of the Three Lowest Electronic States of Dimanganese(II,II) Complexes and Enzymes: Catalase and Liver Arginase. *Biochemistry*, 34:2015–2025.
- Li B, Li T, Aliyu MA, Li ZH and Tang W, 2019. Enantioselective Palladium-Catalyzed Cross-Coupling of α -Bromo Carboxamides and Aryl Boronic Acids. *Angewandte Chemie*, ange.201905174.

- Macrae CF, Edgington PR, McCabe P, Pidcock E, Shields GP, Taylor R, Towler M and van de Streek J, 2006. Mercury: visualization and analysis of crystal structures. *Journal Applied Crystallography*, 39:453–457.
- Mohammadi M and Ghorbani-Choghamarani A, 2020. 1-Methionine–Pd complex supported on hercynite as a highly efficient and reusable nanocatalyst for C–C cross-coupling reactions. *New Journal of Chemistry*, 44:2919–2929.
- Oylumluoglu G, Coban MB, Kocak C, Aygun M and Kara H, 2017. 2- and 1-D coordination polymers of Dy (III) and Ho (III) with near infrared and visible luminescence by efficient charge-transfer antenna ligand. *Journal of Molecular Structure*, 1146:356–364.
- Parry PR, Wang C, Batsanov AS, Bryce MR and Tarbit B, 2002. Functionalized Pyridylboronic Acids and Their Suzuki Cross-Coupling Reactions To Yield Novel Heteroarylpyridines. *Journal of Organic Chemistry*, 67:7541–7543.
- Roughley SD and Jordan AM, 2011. The Medicinal Chemist’s Toolbox: An Analysis of Reactions Used in the Pursuit of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 54:3451–3479.
- SAINT V7.60A, Bruker-AXS 2008. Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- Sheldrick GM, 2008. A Short History of SHELX. *Acta Crystallographica*, A64:112–122.
- Suzuki A, Diederich F, Stang PJ, 1998. *Metal-catalyzed Cross-coupling Reactions* Wiley-VCH, Weinheim, Germany, Chapter 2.
- Torborg C and Beller M, 2009. Recent Applications of Palladium-Catalyzed Coupling Reactions in the Pharmaceutical, Agrochemical, and Fine Chemical Industries. *Advanced Synthesis and Catalysis*, 351:3027–3043.
- Yahsi Y, Gungor E, Kara H, 2015. Chlorometallate-Pyridinium Boronic Acid Salts for Crystal Engineering: Synthesis of One-, Two- and Three-Dimensional Hydrogen Bond Networks. *Crystal Growth and Design*, 15:2652–2660.
- Yang W, Gao X and Wang B, 2003. Boronic acid compounds as potential pharmaceutical agents. *Medicinal Research Reviews*, 23:346–368.
- Zhu Q, Saeed M, Song R, Sun T, Jiang C and Yu H, 2020. Dynamic covalent chemistry-regulated stimuli-activatable drug delivery systems for improved cancer therapy. *Chinese Chemical Letters*, 31:1051–1059.

To Cite: Baştürk A, Peker S, 2021. Antioxidant Capacity, Fatty Acid Profile and Volatile Components of the *Onopordum Anatolicum* and *Onopordum Heteracanthum* Species Seeds Grown in Van, Turkey. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2810-2822.

Antioxidant Capacity, Fatty Acid Profile and Volatile Components of the *Onopordum Anatolicum* and *Onopordum Heteracanthum* Species Seeds Grown in Van, Turkey

Ayhan BAŞTÜRK^{1*}, Sümeye PEKER¹

ABSTRACT: The crude oil contents, total phenolic contents, volatile components and antioxidant activities of *Onopordum anatolicum* and *Onopordum heteracanthum* species seeds were investigated. In addition, the fatty acid profile, tocopherol contents, peroxide values, free fatty acidity and color values of the oils obtained from species seeds were determined. The oil contents of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* species seeds were found to be 15.84% and 12.54%, respectively. Total phenolic contents were found as 18554 and 13015 mg-GAE kg⁻¹. DPPH (% inhibition) values in the studied seeds and BHT were determined as 84.41, 66.73, and 86.92% and ABTS values were determined as 121.18, 46.90, and 123.78 mmol Trolox eq. g⁻¹. Linoleic acid (49.38 and 38.09%) and oleic acid (30.04 and 22.07%) were the most abundant fatty acids in the oil from seeds. In addition, a significant amount of α -tocopherol (1066.99 mg kg⁻¹) was detected in *O. anatolicum* seed oil. Furthermore, 17 volatile compounds were detected in different amounts of each in the seeds of the species. In the light of all these findings, it was concluded that the seeds of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* could be appreciated as alternative oil raw materials, and used as natural antioxidant and polyunsaturated fatty acids sources in the formulation in functional foods.

Keywords: Antioxidant capacity, *Onopordum anatolicum*, *Onopordum heteracanthum*, volatile component, fatty acid

¹ Ayhan BAŞTÜRK ([Orcid ID: 0000-0001-7701-9306](https://orcid.org/0000-0001-7701-9306)), Sümeye PEKER ([Orcid ID: 0000-0002-9168-2195](https://orcid.org/0000-0002-9168-2195)), Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Van TURKEY

*Corresponding Author: Ayhan BAŞTÜRK, e-mail: ayhanbasturk@gmail.com

This study was produced from Sümeye Peker's Master's thesis.

INTRODUCTION

Over the past few years, research fixating on the use of non-traditional oilseeds as an origin of vegetable oil has gained importance to meet the vegetable oil demand in many developing countries (Gopala Krishna and Bhatnagar, 2013). Besides their oil content, these herbs or seeds also accommodate phytochemical antioxidants such as phenolics that can be used as a radical scavenger. The antioxidant activities of these substances are the reason for their redox properties (Kumar et al., 2012). Raw plant extracts, which are rich in phenolic content, have attracted the attention of the food industry as they prevent oxidation and increase the quality and nutritional value. The antioxidants contained in plants are of increasing interest among scientists and consumers as they protect health and prevent disease (Kahkonen et al., 1999).

Onopordum L. is a genus of about 60 species of thistles associated with the family Asteraceae, native to Europe (mainly the Mediterranean region), northern Africa, the Canary Islands, the Caucasus, and southwest and central Asia (Kubitzki, 2007). This genus of 19 species, including two subspecies in Turkey, consists of a total of 20 taxa (Davis, 1970; Güner et al., 2000; Özhatay et al., 2009). This species has spiky and pale green leaves, dense spines of small purple flowers, its length varies between 30-1000 cm (Fig. 1). White feathers are found as bunches at the ends of the seeds. They spread widely in the Mediterranean geography. It is also widely grown in Turkey. *O. Davis*, *O. polycephalum*, *O. Boissier*, *O. carica*, and *O. anatolicum* are endemic species in Turkey (Davis, 1965). They are found in the countryside, pastures, roadsides, cultural areas, vineyards, gardens up to 1300 meters high. Among the people, they are known by local names such as akkız, deve kengeri, kengel, kibbun, meryemana diken, sütlü kengel, şevkülmeriyem, uslu kenger, kasna, eşek diken, kenger otu, köygöçüren (Taşdelen, 2013).

Some types of *Onopordum* are widely used in traditional medicine. Flowering branches of *Onopordum acanthium* are used as diuretic (diuretic) and antipyretic, and roots for diuretic, antipyretic, appetizing and abdominal pain. *Onopordum tauricum* seeds are used for the treatment of kidney disease in Turkey. Some species of *Onopordum* have been reported to exhibit antioxidant and antimicrobial activity (Csupor-Löffler et al., 2009). The worldwide interest in the antioxidant capacities and fatty acid compositions of the phenolic components of this species is still growing. Pictures of *Onopordum anatolicum* and *Onopordum heteracanthum* species are given in Figure 1.

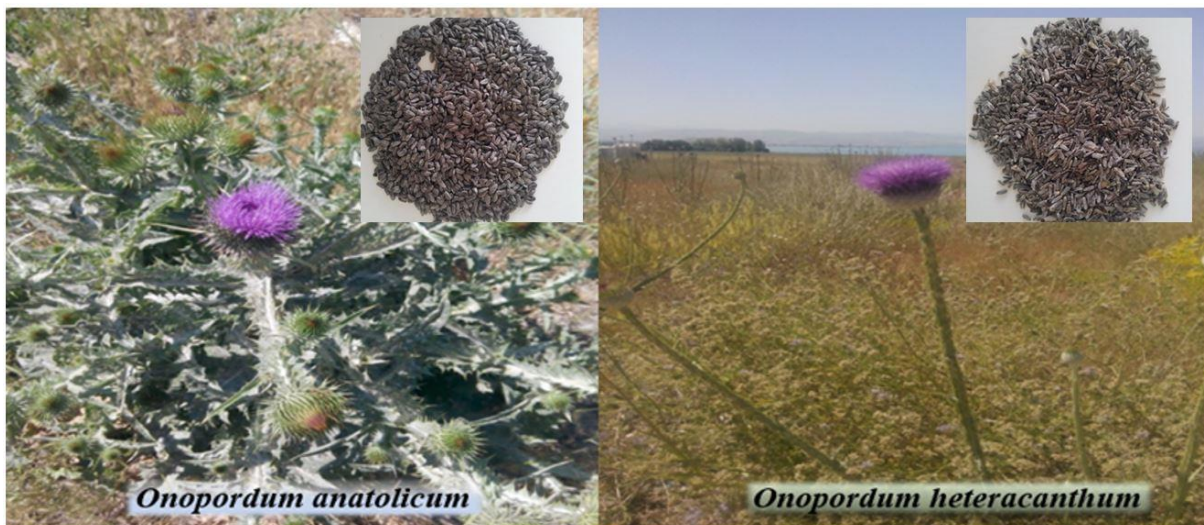


Figure 1. Pictures of the *onopordum* species and seeds

Lately, studies have been carried out on the chemistry and biological properties of the *onopordum* genus (Bruno et al., 2011). However, there are no reports of detailed chemical characterization of *Onopordum anatolicum* and *Onopordum heteracanthum* seeds.

Under the study, the oil content, total phenolic content (TPC), volatile components, antioxidant activities and some characteristic features of the *Onopordum anatolicum* and *Onopordum heteracanthum* species seeds belonging to the Asteraceae family, as well as the fatty acid compositions, tocopherol contents, peroxide values (PV), free acidity (FFA) and color values of the seed oils were determined. In addition, it is aimed to be used as an alternative oil source and antioxidant.

MATERIALS AND METHODS

Plant Materials and Chemicals

O. anatolicum and *O. heteracanthum* were collected from the Van region of Turkey during a harvest-maturity period in August-September 2017. The plants were identified by the biologist Professor Dr. Murat ÜNAL from the Department of Biology Education of Van Yüzüncü Yıl University. Folin-Ciocalteu, methanol, hexane, isooctane, potassium persulfate Merck (Darmstadt, Germany), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2 + -azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, 5-methyl 2 hexanone was obtained from the Sigma (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany). All other chemicals and solvents were of analytical purity.

Preparation of Methanolic Extract

The obtained plants were dried in the shade in the open air, and the seeds were manually separated. It was ground in a milling machine and kept in sealed glass containers at room temperature until analysis. Accordingly, 9.5 mL methanol was added to 5 g hexane-defatted ground *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seeds. The contents were homogenized with a homogenizer (Heidolph, SilentCrusher M, Schwabach, Germany) at 10.000 rpm for 15 s. The homogenized sample was agitated at room temperature for 2 h at 200 rpm in a circular shaker (Heidolph, unimax 1010, Kelheim, Germany). Then, the contents were centrifuged at $8000 \times g$ for 10 min at 4 °C. Following the centrifugation, the supernatant was separated from the residue and the residue was subjected to the same treatment twice more. The supernatants obtained at the end of the extraction were combined and completed to 25 mL with methanol.

The Analyses Performed on the Seeds

Proximate analysis of *O. anatolicum*, and *O. heteracanthum*

The methods recommended by the Official Society of Analytical Chemists (AOAC, 1990) were used to determine the moisture, ash, crude protein and crude oil contents. The moisture content was determined by drying the samples at 105 °C to constant weight. The ash content was determined by a laboratory furnace at 600 °C, and the temperature was increased gradually. Nitrogen content was determined by using the Kjeldhal method. Crude oil was detected by the soxhlet method. Crude oil was obtained by exhaustively extracting 10 g of each sample in soxhlet apparatus using hexane as the extractant. Each measurement was performed in triplicate and the results were averaged.

Determination of total phenolic content

The phenolic content of *O. anatolicum*, and *O. heteracanthum* seeds extracts were determined using the Folin-Ciocalteu reagent (Singleton and Rossi, 1965). 0.4 mL samples were placed in test tubes; 2 mL of Folin-Ciocalteu's reagent and 1.6 mL of sodium carbonate (7.5%) were added. The tubes were agitated and allowed to stand for 60 min. Absorption at 765 nm was measured in UV-spectrophotometer (Agilent 8453, Agilent technologies, CA, USA). Gallic acid was used as a standard for the calibration

curve ($y = 0.0063x + 0.049$). The total phenolic content was expressed as gallic acid equivalent (mg GAE kg^{-1} dry extract).

Antioxidant Activity Tests

DPPH radical scavenging assay

DPPH free radical scavenging effect of seed extracts were determined by the Blois method. (Blois, 1958). Before the procedure, the methanolic DPPH solution was prepared for the analysis. Accordingly, 0.0065 g DPPH was weighed and completed to 250 mL with methanol (0.025 g L^{-1} methanol). For the study, 0.1 mL seed extract prepared for the analysis was taken, and 3.9 mL DPPH solution was added and mixed using a vortex and kept for 60 min at room temperature in the dark. At the end of this period, the absorbance of the UV spectrophotometer was read at 515 nm. In the control sample, the spectrophotometer was reset with pure methanol using solvent instead of sample. At the end of the 60 min, the amount of DPPH inhibited in the reaction medium was determined using Eq. 1.

$$I = \frac{A_2 - A_1}{A_2} \times 100 \quad (1)$$

I = DPPH inhibited by the sample, %

A_1 = absorbance of the sample

A_2 = absorbance of control

ABTS assay

ABTS diammonium salt radical cation decolourisation test is also a spectrophotometric method widely used to assess antioxidant activity of various plant extracts. ABTS^+ obtained as a result of the oxidation of ABTS with potassium persulfate was presented as an excellent tool to determine the antioxidant activity of hydrogen donor antioxidants and chain-breaker antioxidants (Leong and Shui, 2002).

ABTS analysis was performed using the method proposed by Re et al. (1999). Measurements are carried out spectrophotometrically by observing the disappearance of the ABTS radical, a stable blue/green compound. The reaction between ABTS and potassium persulfate yields a blue/green ABTS^+ chromophore. Accordingly, 7 mmol of ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and 2.45 mmol potassium persulfate were reacted at room temperature in the dark for 12-16 h to yield the stock ABTS^+ radical cation. The obtained ABTS^+ radical cation was diluted with ethanol to give 0.70 ± 0.02 absorbance at 734 nm. Then, 20 μL extract was mixed with 1980 μL ABTS^+ radical cation for 6 min at room temperature in the dark and measured in UV spectrophotometer at 734 nm. The results were calculated using the Trolox standard curve ($y = 38.484x - 2.602$) and Eq. 2, and were presented as mmol Trolox eq g^{-1} dry weight.

$$\text{Inhibition \%} = \frac{A_6 - A_1}{A_1} \times 100 \quad (2)$$

A_6 : Absorbance at the 6th min

A_1 : Absorbance at the 1st min

Determination of volatile compounds

Determination of volatile compounds in plant seeds were carried out by GC-MS according to Krist et al. (2006), with modifications. First, it was prepared by completing 0.1 mL of 5-methyl 2 hexanone to 10 mL with distilled water as internal standard (IS). In the 30 mL vials required for use in the analysis, 3 grams of ground seeds were placed, 10 mL pre-boiled and cooled pure water was added and homogenized using a homogenizer (Heidolph SilentCrusher M, Schwabach, Germany) at 13000 rpm. Then, it was added to 10 μL internal standard and a magnetic stirrer was added. After the lid of the vials

was sealed and conditioned for 5 min at 40 °C in the heating block, by immersing in an appropriate fiber (50/30µm-thick, DVB/CAR/PDMS as the adsorbant), left to adsorb the volatile components in the peak space for 40 minutes in a heated magnetic stirrer set to 40°C and 140 rpm. At the end of this period, the fiber was held at the injection port of the gas chromatography device for 5 min to pass the fiber-holding volatile components to the GC-MS system column. TRB-5MS (30 m length, 0.250 mm internal diameter, 0.25 µm film thickness) capillary column was used in the analyses. The operating conditions were set as follows; injection block temperature: 250 °C, detector temperature: 250 °C, carrier gas: He, flow rate: 1 mL min⁻¹, temperature of the MS source: 230 °C, MS quadrupole temperature: 150°C, injection mode: splitless, electron energy: 70 eV, mass range: 15-210 atomic mass unit, oven temperature program; hold at 40 °C for 2 min, raise from 40 to 70 °C with 5 °C increments per min, hold at 70 °C for 1 min, raise from 70 to 240 °C with 10 °C increment per min, hold at 240 °C for 30 min. Then, identifications of the components in the chromatogram were compared with the information in the Wiley and NIST libraries and the calculated retention indexes (RI). The identification of constituents was accomplished based on retention index determined with reference to a homologous series of n-alkanes (C8-C30), under the same experimental conditions. Further identification was carried out by comparing their mass spectra with those from NIST 05 and Wiley 8th version. Volatile compounds were calculated quantitatively considering the internal standard peak area-amount and given in µg kg⁻¹.

Analysis of Seed Oils

Extraction of oils

Oil samples required for planned analyses including fatty acid composition, PV, FFA, tocopherol and color parameters were obtained by cold extraction. Accordingly, 130 mL hexane was added to ground seed (35 g) and kept in the circular shaker at 180 rpm for 2 h. Extracts were filtered and hexane was evaporated at 40 °C in a rotary evaporator. Seed oils were stored at +4 °C in the dark until use.

Determination of FFA and PV

Methods recommended by AOCS (1989) were adopted to determine FFA content (method Ca 5a-40/93) and PV (method Cd 8-53).

Determination of fatty acid composition

For analysis, oil samples were converted into fatty acid methyl esters (FAMES) described by Basturk et al. (2007). After the formation of methyl esters, 1 mL from the clear upper phase was injected into the injection port of the device, QP 2010 Ultra Shimadzu GC-MS with MS detector combined with FID detector. Column info and working conditions were as follows; column: DB-23 (60 m x 0.25 mm, 0.25 µm), carrier gas: He, total flow: 36.6 mL min⁻¹, column flow: 0.66 mL min⁻¹, linear speed: 21.2 cm sec⁻¹, split ratio: 50, initial temperature: 80 °C, temperature program: 10 °C min⁻¹, final temperature: 220 °C, injection temperature: 250 °C, detector temperature: 250 °C, total analysis time: 34 min and ion source temperature: 200 °C. Fatty acid methyl esters were identified by chromatography with authentic standards (Sigma) and from NIST 05 MS Library Database. Quantification of the fatty acids methyl ester profiles was done considering the relative areas of peaks, expressed as the relative percentage of the individual area of each one relative to total area of compounds in the chromatogram. FAMES analyses were performed in 3 replicates.

Determination of α-tocopherol

Tocopherol content of the samples were determined on HPLC device (Shimadzu, Kyoto, Japan) according to AOCS Official Method (Ce 8-89) (AOCS, 2003). The oil samples obtained by cold extraction were diluted with n-hexane at a ratio of 1:10, then filtered through 0.45 µm (Millipore Millex-LCR Hydrophilic PTFE) filter and injected into the device. HPLC operating conditions were as follows:

column: LiChrosorb Si60 (250 × 4 mm, ID) 5 µm, flow rate: 1 mL min⁻¹ (isocratic flow), mobile phase: hexane:isopropyl alcohol (99:1), wavelength: 295 nm, column temperature: 25 °C. The compounds appearing in chromatograms were identified on retention times and spectral data by comparison with standards of α-, β-, γ- and δ-tocopherols. Results were expressed in mg kg⁻¹ oil. The measurements were taken in triplicate.

Color measurement

L*, a*, b* color values of the oil samples were determined using a colorimeter (CR-400 Konica, Minolta, Tokyo, Japan). First, calibration of the device was carried out on white plate and black hole provided by the manufacturer. For absolute measurement, approximately 20 mL of oil sample was placed on the measuring head and three readings were taken in different positions. The average values of L*, a*, and b* were given based on three subsequent readings.

Statistical Analyses

Statistical analyses were performed using SPSS software (version 20.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, Illinois). The collected data of the different dependent variables were analyzed statistically according to the analysis of variance with three replications as a general test at each location. Differences between mean values were analyzed using Duncan's multiple range test at 0.05 level of significance.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical Properties of *O. Anatolicum*, and *O. Heteracanthum* Seeds

Some phytochemical properties (moisture, ash, protein and oil contents) detected in seeds are seen in Tabo 1. The protein contents of the seeds were found to be different (p <0.05). Fat contents of *O. anatolicum*, and *O. heteracanthum* seeds were found as 15.84 and 12.54%, respectively. Arfaoui et al. (2014) reported the total oil content as 15.26% in *O. acanthium* L. seed. Total fat contents were determined as 15-38% in *O. acanthium* and 9.2% in *O. olgae* by Azimova et al. (2011), 12.3% in *O. nervosum* by Hachicha et al. (2007) and 21.4-23.8% in *onopordum* species by Dagne and Jonsson (1997). These variations could be due to the direct effects of genetic factors, species, specific climatic and geographical conditions as well as the ripening grade of the fruits (Arfaoui et al., 2014). The protein contents of *O. anatolicum*, and *O. heteracanthum* seeds were determined as 20.40 and 16.57%, respectively. The moisture content of the seeds was determined as 8.05 and 8.68%, respectively. Ash contents were found to be 3.34 and 4.03%. Gerçel (2011) reported the moisture and ash rate of *Onopordum acanthium* as 7.9 and 7.3%, respectively. Our results mostly overlap with these findings.

Table 1. Chemical composition of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seeds (%)

Sample	Moisture	Ash	Crude Protein	Oil
<i>O. anatolicum</i>	8.05±0.27 ^a	3.34±1.14 ^a	20.40±0.52 ^b	15.84±0.70 ^b
<i>O. heteracanthum</i>	8.68±0.78 ^a	4.03±0.07 ^a	16.57±0.68 ^a	12.54±0.28 ^a

Values are mean of three replications ± standard deviation. The different small letters shown as superscripts in the same column show the difference between the mean values of the samples (p<0.05).

Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities

TPC, DPPH and ABTS values determined in *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* species seeds are given in Table 2. TPCs of seed extracts were determined by Folin-Ciocalteu reagent method. TPCs of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed extracts were determined as 18554 and 13015 mg GAE kg⁻¹ extract respectively.

DPPH inhibition rates of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed extracts were found to be 84.41 and 66.73%, respectively. It seems that the scavenging ability of *O. anatolicum* is close to BHT

(86.92% inhibition) and *O. heteracanthum* is lower than BHT. Taşdelen (2013) determined DPPH inhibition values in *O. anatolicum* seed methanol extract and BHT as 69.84% and 93%, respectively. Sarikurkcu et al. (2015) reported that the DPPH radical scavenging activity of *O. anatolicum* seed extracts varied depending on the concentration. They found DPPH inhibition rates as 59.77 and 92.60% at concentrations of 1 and 2 mg ml⁻¹ ethanol, respectively.

ABTS is frequently used to test the radical cleaning efficacy of antioxidant compounds of plant extracts. ABTS test results showed that similar to DPPH, *O. anatolicum* value was close to BHT and *O. heteracanthum* value was lower than BHT. Joudi and Bibalani (2010) reported that *Onopordum* extracts have antioxidant properties and have been used as an excellent protective agent in the formulation of skincare medicines.

Table 2. TPC, DPPH, ABTS values of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed extracts

Sample	TPC (mg GAE kg ⁻¹ extract)	DPPH (Inhibition %)	ABTS (mMol Trol. eq. g ⁻¹ extract)
<i>O. anatolicum</i>	18554 ±200 ^b	84.41 ±2.40 ^c	121.18 ±3.99 ^b
<i>O. heteracanthum</i>	13015 ±516 ^a	66.73 ±2.63 ^b	46.90 ±2.96 ^a
BHT		86.92 ±1.63 ^a	123.78 ±4.84 ^b

Values are mean of three replications ± standard deviation. The different small letters shown as superscripts in the same column show the difference between the mean values of the samples (p <0.05).

Fatty Acid Composition of *O. Anatolicum* and *O. Heteracanthum* Seed Oils

Fatty acids identified in *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed oils and individual percentages of each fatty acid are given in Table 3. In addition, chromatograms and spectra of fatty acids are shown in Figure 3-4. It was striking that in both seed oils, the major fatty acids are linoleic, oleic, palmitic and stearic acids. Linoleic acid was the most abundant fatty acid in *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed oils (49.38% and 38.09%). In addition, myristic, palmitolinoleic, margaric, linolenic, arachidic and behenic acids were found in trace amounts. These results show that there is a certain resemblance between the seed oils of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* in view of their main component acids. It is understood that the linoleic and oleic acid ratios are higher in *O. anatolicum* seed oil compared to *O. heteracanthum* seed oil. Interestingly 16.05% Crepenynic acid was found in the composition of *O. heteracanthum* seed oil. Crepenynic acid is an 18-carbon acetylenic fatty acid with a double bond on its 9th carbon and a triple bond between its 11th and 12th carbons (Fig. 2). This type of fatty acid is very rare and has no nutritional value. Crepenynic acid is the substrate that allows many acetylenes to derive.

Matthaus et al. (2014) found that the dominant fatty acids in *O. acanthium* seed oil, a subspecies of the Asteraceae family, were linoleic acid 65.9%, oleic 18.8%, palmitic acid 5.8% and stearic acid 2.6%. In another study, the distribution of fatty acids in *O. acanthium* oil was linoleic 51.1%, oleic 34.2%, palmitic 9.9% and stearic 0.9% by Zhelev et al. (2014). The individual fatty acid ratios of *O. nervosum* were found as linoleic acid 60.34%, oleic acid 27.02%, palmitic acid 9.08% and stearic acid 3.56% by Houachri et al. (2018). Tonguc and Erbaş (2012) determined the fatty acid profile in *O. acanthium* oil as linoleic 57.65%, oleic 28.79%, palmitic 8.81% and stearic acid 4.43%. Kurt et al. (2019) reported that linoleic acid was 70.49%, oleic 19.99%, palmitic 4.51% and 2.02% to stearic acid in *O. turcicum* seed oil. In another study, 68.26% linoleic acid, 18.40% oleic acid, 6.89% palmitic acid and 2.82% stearic acid were determined in *O. tauricum* oil (Erciyes et al., 1995).

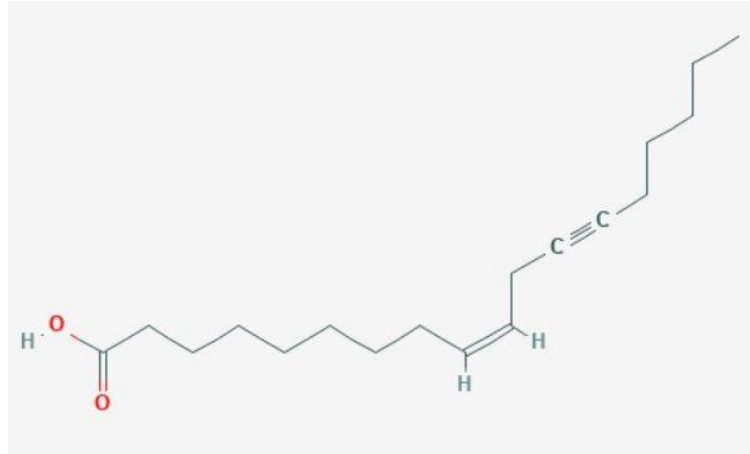


Figure 2. Crepenynic acid (9-Octadecen-12-ynoic acid)

Our study confirmed the presence of linoleic, oleic and palmitic acids as main components. Palmitic acid predominated in the fraction of saturated fatty acids. Linoleic and oleic acids were predominant among the unsaturated acids. Oleic and linoleic acid intake has been encouraged by nutritionist and the medical profession because of their ability to lower blood cholesterol levels (Goldberg, 2008). It has also been reported by Parikh et al. (2005) that oleic acid can reduce LDL and increase HDL levels. Connor (1999) reported that linolenic acid has a protective effect against heart disease and plays a role in developing the brain and retina. In *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed oils, SFAs were represented as 17.22 and 20.97% in total fatty acids, while MUFAs were represented as 31.50% and 39.14% respectively. Oleic acid was the most abundant MUFA in the samples. PUFAs comprised the largest percent composition of all fatty acid groups (saturated, monounsaturated, polyunsaturated) in samples and their contents were 49.58% in *O. anatolicum* and 38.34% in *O. heteracanthum*.

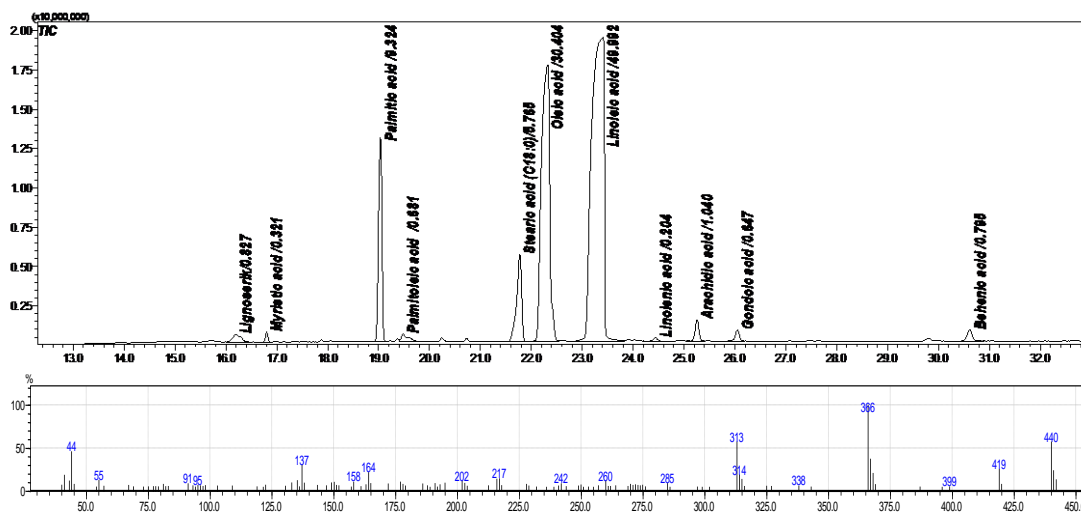
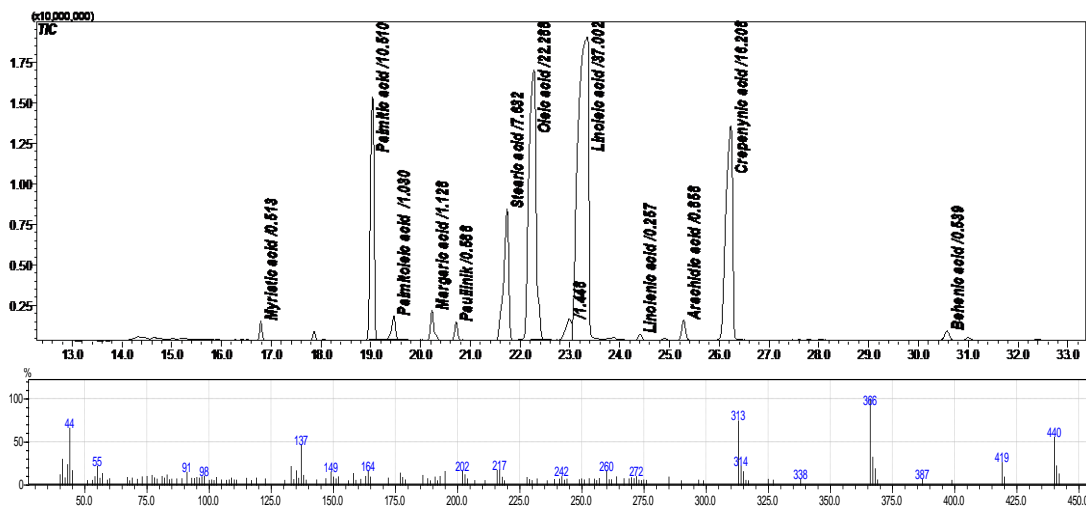


Figure 3. Fatty acid chromatogram and spectrum of *O. anatolicum* seed oil

Table 3. Percentage of fatty acids composition of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seeds oils (g 100 g⁻¹ FA)

Fatty acids	<i>O. anatolicum</i>	<i>O. heteracanthum</i>
Myristic acid (C14:0)	0.32 ±0.04 ^a	0.51 ±0.07 ^b
Palmitic acid (C16:0)	9.21 ±0.16 ^a	10.40 ±1.63 ^a
Palmitoleic acid (C16:1 n-7)	0.82 ±0.06 ^{bc}	1.02 ±0.13 ^c
Margaric acid (C17:0)	0.17 ±0.01 ^a	1.12 ±0.13 ^b
Stearic acid (C18:0)	5.70 ±0.23 ^a	7.56 ±0.41 ^b
Oleic acid (C18:1 n-9)	30.04 ±2.09 ^b	22.07 ±1.51 ^a
Linoleic acid (C18:2 n-9.12)	49.38 ±2.80 ^b	38.09 ±1.92 ^a
Linolenic acid (C18:3 n-9.12.15)	0.20 ±0.01 ^a	0.25 ±0.01 ^a
Crepenynic acid (C18: 9-en-12-ynoic)	---	16.05 ±1.47
Arachidic acid (C20:0)	1.03 ±0.14 ^a	0.85 ±0.06 ^a
Gondoic acid (C20:1 n-11)	0.64 ±0.07 ^a	---
Behenic acid (C22:0)	0.79 ±0.06 ^b	0.53 ±0.04 ^a
SFA	17.22 ±1.46 ^a	20.97 ±1.50 ^a
MUFA	31.50 ±1.97 ^a	39.14 ±4.16 ^a
PUFA	49.58 ±3.93 ^b	38.34 ±3.70 ^a

Values are mean of three replications ± standard deviation. The means with different superscript letters within the same row vary significantly (p< 0.05). SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids.

**Figure 4.** Fatty acid chromatogram and spectrum of *O. heteracanthum* seed oil

Volatile Compounds in *O. Anatolicum* and *O. Heteracanthum* Seeds

Volatile compounds identified in *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seeds are given in Table 4. It was detected 17 compounds in both species, namely *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seeds. The most common compounds found in *O. anatolicum* seed, respectively; hexane, hexanal, methane tetranitro, 1-hexanol, benzaldehyde, butanal 3-metil, acetaldehyde, pentanal and acetic acid. The most dominant compounds in *O. heteracanthum* seed were hexanal, hexane, benzaldehyde, carbamic acid and butanal 3-metil. In terms of volatile compounds, it can be said that *O. anatolicum* seed contains more of these compounds than *O. heteracanthum*. Hexane was remarkably found about 7 times more than *O. heteracanthum* seed in *O. anatolicum* seed. Benzaldehyde was determined as 18.11 and 20.78 µg kg⁻¹ in *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seeds, respectively. Benzaldehyde was 7.6% in *O. heteracanthum* ethanol extract by Durak and Aysu (2014). Piperazine, ethyl ether, propane, 2-nitro, acetic acid, 1-propene 3-ethoxy, silanediol dimethyl and α-thujene were found in *O. anatolicum* seed, but not detected in *O. heteracanthum* seed. Acetone, carbamic acid, butanal 2-methyl, cathine, toluene,

1-pentanol and 3-hexanone compounds were determined only in *O. heteracanthum* seed. The difference of volatile compounds among *Onopordum* species was probably related to the different subspecies, different collection times and geographic and climatic factors in Turkey.

Table 4 Volatile compounds of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seeds ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

No	Compound	RI	<i>O. anatolicum</i>	<i>O. heteracanthum</i>
1	Methane, tetranitro	617	31.90 \pm 0.95 ^b	7.51 \pm 0.06 ^a
2	Piperazine	618	3.40 \pm 0.03	-----
3	Acetaldehyde	622	13.15 \pm 1.32 ^b	3.59 \pm 0.01 ^a
4	Acetone	629	-----	3.90 \pm 0.04
5	Ethyl ether	630	6.02 \pm 0.07	-----
6	Carbamic acid	631	-----	4.48 \pm 0.03
7	Propanal, 2-methyl	638	8.90 \pm 0.07 ^b	3.07 \pm 0.03 ^a
8	Propane, 2-nitro	640	3.51 \pm 0.03	-----
9	Acetic acid	644	10.79 \pm 0.66	-----
10	Hexane	647	141.88 \pm 8.02 ^b	22.05 \pm 1.56 ^a
11	Kloroform	654	4.74 \pm 0.03 ^b	1.48 \pm 0.01 ^a
12	Butanal, 3-metil	670	19.66 \pm 0.64 ^b	4.42 \pm 0.03 ^a
13	Butanal, 2-metil	674	-----	3.90 \pm 0.03
14	1-Propene, 3-ethoxy	676	8.59 \pm 0.07	-----
15	Silanediol, dimethyl	690	8.80 \pm 0.07	-----
16	Pentanal	694	12.73 \pm 1.05 ^b	3.98 \pm 0.04 ^a
17	Cathine	696	-----	0.47 \pm 0.01
18	Toluene	753	-----	0.67 \pm 0.01
19	1-Pentanol	756	-----	0.79 \pm 0.01
20	Hexanal	790	38.83 \pm 2.72 ^b	46.35 \pm 3.58 ^a
21	1-Hexanol	857	22.79 \pm 1.39 ^b	3.56 \pm 0.03 ^a
22	Alpha-Thujene	921	3.67 \pm 0.03	-----
23	Benzaldehyde	948	18.11 \pm 1.94 ^a	20.78 \pm 1.27 ^b
24	3-Hexanone	1183	-----	0.64 \pm 0.01

Values are mean of three replications \pm standard deviation. The different small letters shown as superscripts in the same row show the difference between the mean values of the samples ($p < 0.05$).

PV, FFA, α -Tocopherol and Hunter Color Values of *O. Anatolicum* and *O. Heteracanthum* Seed Oils

PV, FFA, α -tocopherol and hunter color values determined in oils obtained from *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seeds are given in Table 5. The peroxide values for *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed oils determined as 3.92 and 6.21 meq O₂ kg⁻¹ respectively which is well below the limit for peroxide value (< 10 meqO₂ kg⁻¹) (Anonymous, 2012). Free fatty acids are produced by the hydrolysis of triglycerides. The FFA content of the tested *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed oils determined 0.69 and 3.73%, as oleic acid. Only α -tocopherol homolog was detected in seed oils. α -tocopherol contents were 1066.99 and 225.26 mg kg⁻¹ respectively ($p < 0.05$). Compared to some other seed oils (Assumpcao et al., 2016; Gunstone et al., 2007; Sahari and Amooi, 2013; Yaqoob et al., 2016), *O. anatolicum* seed oil had a very high content of α -tocopherol. Hunter color values of *O. anatolicum* and *O. heteracanthum* seed oils L* (100 lightness / 0 darkness), a* (+ redness / - foliage) and b* (-blue / + jaundice) are given in Table 5. Seed oil color parameters of both species did not differ significantly ($p > 0.05$). According to these data, it is understood that both seed oils were on the dark and yellow sides. When a * values are examined, it is seen that the scale is closer to the green color in oils.

Table 5 Peroxide value, free fatty acid, α -tocopherol and hunter color values of *O. anaticum* and *O. heteracanthum* seed oils

	<i>O. anaticum</i>	<i>O. heteracanthum</i>
PV (meqO ₂ kg ⁻¹)	3.92 ±0.05 ^a	6.21 ±0.59 ^b
Free fatty acid (as oleic acid %)	0.69 ±0.34 ^a	3.73 ±0.04 ^b
α -tocopherol (mg kg ⁻¹)	1066.99 ±9.53 ^b	225.26 ±8.23 ^a
Hunter color values		
L*	24.96 ±0.17 ^a	25.63 ±0.99 ^a
a*	-2.47 ±0.17 ^a	-1.87 ±0.15 ^a
b*	10.28 ±0.13 ^a	10.00 ±0.91 ^a

Values are mean of three replications \pm standard deviation. The different small letters shown as superscripts in the same row show the difference between the mean values of the samples ($p < 0.05$).

CONCLUSION

In this study, some characteristics of *O. anaticum*, *O. heteracanthum* seeds and seed oils were determined. In addition, they have been investigated by comparing their usability as oil raw material and antioxidants. Oil content of *O. anaticum* and *O. heteracanthum* seeds were 15.84 and 12.54% and crude protein contents were 20.40 and 16.57%, respectively. It was found that the antioxidant capacity of *O. anaticum* seed extract was close to BHT and that the *O. heteracanthum* seed extract was lower. Peroxide values of the obtained oils are acceptable. Moreover, the high linoleic and oleic acids content as well as PUFA to SFAs ratio (2.87 and 1.82), which is associated with good health makes seeds nutritionally valuable. The results of the current study suggested that the seeds of *O. anaticum* and *O. heteracanthum* can be considered as alternative oil raw materials, and that these seeds can be used in the formulation of functional foods as α -tocopherol, a natural antioxidant and polyunsaturated fatty acid sources.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Scientific Research Fund of Van Yüzüncü Yil University [grant numbers FYL-2018-6616].

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Anonymous, 2012. *Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliği*, Tebliğ no. 2012/29 Resmi Gazete, S. 28262.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis Fifteenth edition. Association of Official Analysis Chemists, Washington, DC.
- AOCS, 1989. Official Method Cd 8b-90. Peroxide value, acetic acidisooctane method. In Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (4th ed.) AOCS Champaign, IL, USA.
- AOCS, 2003. Official Method Ce 8-89. Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC. In Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (4th ed.) AOCS, Champaign, IL, USA.
- Arfaoui MO, Renaud J, Ghazghazi H, Boukhchina S, Mayer P, 2014. Variation in oil content, fatty acid and phytosterols profile of *Onopordum acanthium* L. during seed development. *Natural Product Research*, 28(24): 2293–2300.

- Assumpcao CF, Nunes IL, Mendonca TA, Bortolin RC, Jablonski A, Flores SH, Rios AD, 2016. Bioactive Compounds and Stability of Organic and Conventional *Vitis labrusca* Grape Seed Oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 93(1): 115–124.
- Azimova SS, Glushenkova AI, Vinogradova VI, 2011. *Lipids, lipophilic components and essential oils from plant sources* Springer Science & Business Media.
- Basturk A, Javidipour I, Boyaci IH, 2007. Oxidative stability of natural and chemically interesterified cottonseed, palm and soybean oils. *Journal of Food Lipids*, 14(2): 170–188.
- Blois MS, 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617): 1199-1200.
- Bruno M, Maggio A, Rosselli S, Safder M, Bancheva S, 2011. The Metabolites of the Genus *Onopordum* (Asteraceae): Chemistry and Biological Properties. *Current Organic Chemistry*, 15(6): 888–927.
- Connor WE, 1999. α -Linolenic acid in health and disease. *American Society for Clinical Nutrition*, 69: 827–828.
- Csupor-Löffler B, Hajdu Z, Rethy B, Zupko I, Mathe I, Redei T, Falkay G, Hohmann J, 2009. Antiproliferative activity of Hungarian Asteraceae species against human cancer cell lines. Part II. *Phytotherapy Research*, 23(8): 1109–1115.
- Dagne K, Jonsson A, 1997. Oil content and fatty acid composition of seeds of *Guizotia* Cass (Compositae). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(3): 274–278.
- Davis PH, 1965. 85: *Flora of Turkey and the East Aegean islands* 1-9. Edinburgh, Etc.
- Davis PH, 1970. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press 3:.
- Durak H, Aysu T, 2014. Effects of catalysts and solvents on liquefaction of *Onopordum heteracanthum* for production of bio-oils. *Bioresource Technology*, 166: 309–317.
- Erciyes AT, Tüter-Erim M, Kabasakal OS, Dandik L, 1995. Seed oil characteristics of *Onopordum tauricum* Willd. and *Prunus laurocerasus* L. *Fat Science Technology*, 97(10): 387–388.
- Gerçel HF, 2011. Bio-oil production from *Onopordum acanthium* L. by slow pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 92(1): 233–238.
- Goldberg G, 2008. *Plants: diet and health* John Wiley & Sons.
- Gopala Krishna AG, Bhatnagar AS, 2013. Natural antioxidants of the Jaffna variety of *Moringa Oleifera* seed oil of Indian origin as compared to other vegetable oils. *Grasas y Aceites*, 64(5): 537–545.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC, 2000. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 11. Second Supplement, Edinburgh.
- Gunstone FD, Harwood JL, Dijkstra AJ, 2007. *The lipid handbook with CD-ROM* CRC press.
- Hachicha SF, Barrek S, Skanji T, Ghrabi ZG, Zarrouk H, 2007. Composition chimique de l'huile des graines d'*Onopordon nervosum* subsp. *platylepis* Murb (asteracees). *Journal de La Société Chimique de Tunisie*, 9(1): 23.
- Houachri T, Bolonio D, Llamas A, Rodríguez-Fernández J, El Gazza M, Mittelbach M, Lapuerta M, Canoira L, 2018. Fatty acid methyl esters (FAME) from oleaginous seeds grown in arid lands. Part II: *Ibicella lutea*, *Onopordum nervosum*, *Peganum harmala*, *Smyrniium olusatrum* and *Solanum elaeagnifolium*. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 40(12): 1434–1441.
- Joudi L, Bibalani GH, 2010. Exploration of medicinal species of Fabaceae, Lamiaceae and Asteraceae families in Ilkhji region, eastern Azerbaijan Province (northwestern Iran). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(11): 1081–1084.
- Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha J-P, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M, 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954–3962.
- Krist S, Stuebiger G, Bail S, Unterweger H, 2006. Analysis of volatile compounds and triacylglycerol composition of fatty seed oil gained from flax and false flax. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(1): 48–60.

- Kubitzki K, 2007. Flowering Plants Eudicots: Berberidopsidales, Buxales, Crossosomatales, Fabales Pp, Geraniales, Gunnerales, Myrtales Pp, Proteales, Saxifragales, Vitales, Zygophyllales, Clusiaceae Alliance, Passifloraceae Alliance, Dilleniaceae, Huaceae, Picramniaceae, (Issue VIII) Springer.
- Kumar M, Chandel M, Kumar S, Kaur S, 2012. Studies on the antioxidant/genoprotective activity of extracts of *Koelreuteria paniculata* laxm. *American Journal of Biomedical Sciences*, 1: 177–189.
- Kurt A, Ozcan M, Colak N, Ozogul Y, Glew R, Ozogul F, Ayaz F, 2019. Fatty acids of oil and antioxidant capacity of phenolics from fruits of 11 Cardueae (Carduoideae, Asteraceae) taxa from northeast Anatolia (Turkey). *Botanica Serbica*, 43(1): 31–45.
- Leong LP, Shui G, 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76(1): 69–75.
- Matthaus B, Ozcan MM, Al-Juhaimi F, 2014. Fatty Acid, Tocopherol, and Mineral Contents of *Onopordum acanthium* Seed and Oil. *Chemistry of Natural Compounds*, 1092–1093.
- Özhatay N, Kültür Ş, Aslan S, 2009. Check-list of additional taxa to the supplement Flora of Turkey IV. *Turkish Journal of Botany*, 33(3): 191–226.
- Parikh P, McDaniel MC, Ashen MD, Miller JI, Sorrentino M, Chan V, Blumenthal RS, Sperling LS, 2005. Diets and cardiovascular disease: an evidence-based assessment. *Journal of the American College of Cardiology*, 45(9): 1379–1387.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C, 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10): 1231–1237.
- Sahari M, Amooi M, 2013. Tea seed oil: extraction, compositions, applications, functional and antioxidant properties. *Academia Journal of Medicinal Plants*, 1(4): 68–79.
- Sarikurkcu C, Zengin G, Aktümsek A, Ceylan O, Şanda MA, 2015. *Onopordum Anatolicum* Tohumlarının Antioksidan Aktiviteleri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 41(41): 89–96.
- Singleton VL, Rossi JA, 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144–158.
- Taşdelen G, 2013. *Onopordum Anatolicum* (Boiss.) Boiss. & Heldr. ex eig endemik türünün antioksidan aktivitesi, antibakteriyal ve sitotoksik etkilerinin araştırılması. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Tonguc M, Erbaş S, 2012. Evaluation of fatty acid compositions and some seed characters of common wild plant species of Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36(6): 673–679.
- Yağoob N, Bhatti IA, Anwar F, Mushtaq M, Artz WE, 2016. Variation in Physico-Chemical/Analytical Characteristics of Oil among Different Flaxseed (*Linum Usittatissimum* L.) Cultivars. *Italian Journal of Food Science*, 28(1): 83–89.
- Zhelev I, Merdzhanov P, Angelova-Romova M, Zlatanov M, Antova G, Dimitrova-Dyulgerova I, Stoyanova A, 2014. Lipid Composition of *Carduus thoermeri* Weinm., *Onopordum acanthium* L. and *Silybum marianum* L., growing in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20(3): 622–627.

Atf İçin: Dülger Altın D, Şahan Y, 2021. *Scolymus hispanicus* L. Unu İlavesinin Hamurun Reolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2823-2835.

To Cite: Dülger Altın D, Şahan Y, 2021. Effect of *Scolymus hispanicus* L. Flour Supplementation on Rheological Properties of Dough. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2823-2835.

Scolymus hispanicus L. Unu İlavesinin Hamurun Reolojik Özellikleri Üzerine Etkisi

Dilek DÜLGER ALTINER^{1*}, Yasemin ŞAHAN²

ÖZET: *Scolymus hispanicus* L. (Şevketi Bostan), Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinde yabani olarak yetişen ve özellikle Ege bölgesinde sebze olarak tüketilen yabani bir bitkidir. Ayrıca, günümüzde geleneksel tıpta ve ilaç sanayinde hammadde olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *S. hispanicus* L. unu (SHU) ilavesinin (%5, %10, %20, %30 ve %40) buğday un kalitesi ve hamurunun reolojik özellikleri üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Hamur özelliklerinin belirlenmesinde, ekstensograf ve farinograf metodları kullanılmıştır. Ayrıca buğday ununun fizikokimyasal (yaş gluten miktarı, Zeleny sedimentasyon ve düşme sayısı değerleri) ile BU ve SHU'nun bazı kimyasal özellikleri (nem, kül, protein, yağ içerikleri) belirlenmiştir. SHU ilavesi ile hamurun protein ve kül içeriğinde artış, yağ içeriğinde ise azalma belirlenmiştir. Farinograf analizi sonuçlarına göre SHU ilavesinin hamurun su kaldırma ve gelişme sürelerini önemli derecede etkilediği, 10. dakikada yumuşama derecesini düşürdüğü tespit edilmiştir. Ekstensograf değerlerinde ise maksimum dirençte artış, uzama kabiliyeti ve enerji değerinde azalma gözlenmiştir. SHU farklı katkı oranlarının, hamurun hazırlanması aşamasında, kıvam üzerine sertleştirici etki gösterdiği ve hamur direncini artırdığı görülmektedir. SHU'nun, un formülasyonlarında kullanılması, un ve hamur kalitesi açısından oldukça olumludur. Bu nedenle SHU, özellikle tahıl ürünlerinin üretiminde hamur özelliklerini iyileştiren fonksiyonel bir gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: *S. hispanicus* L., un, kraker, hamur reolojik özellikleri, fonksiyonel gıda, gıda katkıları

Effect of *Scolymus hispanicus* L. Flour Supplementation on Rheological Properties of Dough

ABSTRACT: *Scolymus hispanicus* L. (Şevketi Bostan) is a wild plant that grows in the Marmara, Aegean and Mediterranean regions and is consumed as a vegetable especially in the Aegean region. In addition, it is used in traditional medicine and the pharmaceutical industry. In this study, the effects of *S. hispanicus* L. flour (SHU) addition (5%, 10%, 20%, 30% and 40%) on wheat flour quality and rheological properties of cracker dough were determined. Farinograph and extensograph methods were used to evaluate the dough properties. In addition, the physicochemical (gluten, sedimentation value, falling number values) characteristics of wheat flour and some chemical properties (moisture, ash, protein, fat contents) of BU and SHU were determined. The SHU supplementation was determined to increase the protein and ash content and decrease the fat content of the dough. According to the farinograph analysis results, the SHU supplementation significantly affected the water absorption and development time of the dough and decreased the softening degree at 10 minutes. In the extensograph values, an increase in the maximum resistance, and a decrease in the extensibility ability and energy value were observed. It was seen that different SHU additive ratios had a hardening effect on the consistency during the preparation of the dough and increased the dough resistance. The use of SHU flour in flour formulation is favorable in terms of flour and dough quality. For this reason, SHU flour can be used as a functional food additive that improves dough properties, especially in the production of cereal products.

Keywords: *S. hispanicus* L., flour, cracker, rheological properties of dough, functional food, food additives

¹ Dilek DÜLGER ALTINER* ([Orcid ID: 0000-0002-7043-2883](https://orcid.org/0000-0002-7043-2883)), Kocaeli Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Kartepe, Kocaeli, Türkiye

² Yasemin ŞAHAN ([Orcid ID: 0000-0003-3457-251X](https://orcid.org/0000-0003-3457-251X)), Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Görükle, Bursa, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Dilek DÜLGER ALTINER, e-mail: dilek.dulger@kocaeli.edu.tr; dilek.dulgeraltiner@gmail.com

Bu çalışma Dilek DÜLGER ALTINER'in Doktora Tezinin bir bölümünden üretilmiştir.

GİRİŞ

Tahıllar, dünyadaki temel gıda maddelerinden biridir ve hem insan beslenmesi hem de ekonomik açıdan oldukça önemlidir. Tahıllar içerisinde ilk sırayı, en çok üretimi yapılan ve gıda maddelerinin hazırlanmasında ana bileşen olan buğday almaktadır (Verdu ve ark., 2017; Xu ve ark., 2020). Uluslararası Hububat Konseyi raporuna göre; 2019-2020 yılları arasında buğday üretiminde paylara bakıldığında; %20 AB, %18 Çin ve %14 Hindistan olarak bölünmüştür. Türkiye’de bu oran, dünya buğday üretiminin %2’si olup buğday üretiminde onuncu sıradadır (TMO 2019; IGC 2020). Buğday üretim miktarının 2020 yılında bir önceki yıla göre %7.9 oranında artarak yaklaşık 20.5 milyon ton olacağı öngörülmektedir (TÜİK, 2020).

Günümüzde, tahıl ürünlerinin besleyici ve fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla farklı besin öğeleri ile zenginleştirilmesi önem kazanmaya başlamıştır. Literatürde, buğday ununa sebze, meyve, yenilebilir bitkiler, baklagiller ve diğer tahıl çeşitlerinden elde edilen un ve bileşenlerin eklenmesi ile üretilen ekmek, erişte, bisküvi, kraker ve kek ile ilgili araştırmalar ön plana çıkmaktadır (Rathi ve ark., 2004; Škrbić ve ark., 2009; Krystyjan ve ark., 2015; Melini ve ark., 2017; Liu ve ark., 2021). Ayrıca, farklı katkı maddelerinin ilavesi ile hamurun reolojik özelliklerinin iyileştirilmesi üzerine yönelik olarak; kırmızı mercimek unu kullanımı (Marchini ve ark., 2021), kepek bileşenleri ve glukoz oksidazın gluten gelişimi ve hamur özelliklerine etkisi (Xiao ve ark., 2021), pentozan ilavesi (Nemeth ve ark., 2019), eski ve yeni buğday çeşitlerinin (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) etkisi (Sobczyk ve ark., 2017), buğday kepeği diyet lifinin etkisi (Liu ve ark., 2019), sorgum unu ilavesinin etkisi (Mtelisi ve ark., 2020) ile ilgili çalışmalar da mevcuttur.

Tıbbi ve aromatik bitkiler gıda dışında tıbbi olarak sağlık sektöründe de kullanılmaktadır (Özer, 2001). Yabani olarak yetişen ve tüketilen bu bitkilerin çoğunluğu taze olarak tüketilmekle birlikte, yaprak, sürgün, çiçek ve tohumları kurutularak, turşu yapılarak, konserve edilerek ya da başka yollarla hazırlanarak gıda olarak da değerlendirilmekte, vitamin, mineral ve diyet lif kaynağı olmalarının yanında, antioksidan etkileriyle de ön plana çıkmaktadırlar (Demir, 2006). *Scolymus hispanicus* L., Asteraceae familyasından, toprak üstü kesimleri kesilerek toplanan, iyice soyulup dikenlerinden arındırıldıktan sonra rozet yaprakları ve kökleri sebze olarak pişirilip tüketilen yenilebilir yabani bir bitkidir. *Scolymus hispanicus* L.’nin anavatanı Güney Avrupa ve Batı Asya (Kemper, 1999) olup, ülkemizde Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinde tarla kenarı, bahçe ve kırlarda yabani olarak yetişmektedir (Davis 1965-1985). Fransa, İspanya, Portekiz, İtalya, Türkiye, Yunanistan, Kıbrıs ve Fas gibi Akdeniz bölgelerinde tüketimi yaygındır (Polo ve ark., 2009). İzmir bölgesinde ise kültüre alınarak yetiştiriciliğine başlanan *Scolymus hispanicus* L. kökleri bazı bölgelerde, yemeği yapılarak tüketilmektedir. Yapılan çalışmalarda değerlendirilme olanakları kısıtlı olan *Scolymus hispanicus* L.’nin diğer kültür bitkileriyle karşılaştırıldığında, diyet lif içeriğinin yüksek, protein oranının benzer değerlerde, yağ oranının düşük ve makro besin öğelerince zengin olduğu bildirilmiştir (Dülger ve Şahan, 2013; Dülger, 2015).

Bu çalışmanın amacı, kraker üretiminde kullanılacak buğday ununa farklı ikame oranlarında (%5, 10, 20 ve %30) katılan SHU’nun hamurun reolojik özelliklerine etkisini tespit etmektir. Fonksiyonel ve besleyici özelliklere sahip SHU katkısının, hamur oluşumu üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi ve unlu mamul sektöründe kullanım olanaklarının arttırılması hedeflenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada, Manisa Akhisar Erdelli Köyünde Zan Tarım Hay. Ltd. Şti tarafından yetiştirilen ve üreticiden direkt olarak temin edilen *Scolymus hispanicus* L. bitkisinin yenilen kök kısımları kullanılarak şevketi bostan unu hazırlanmıştır (Şekil 1). Çalışmamızda kullanılan yumuşak buğday unu Bandırma Toru Un Ltd. Şti'den temin edilmiştir.



Şekil 1. *Scolymus hispanicus* L. bitkisi ve unu

Metot

Scolymus hispanicus L. unu üretimi ve analizleri

SHU üretimi amacıyla bitki kökleri yıkanıp, soyulmuş ve ortasında yer alan odunsu tabaka çıkarıldıktan sonra, daha kolay kuruması için küçük dilimler haline getirilmiştir. Nem miktarı yaklaşık %12'ye düşünceye kadar sıcak hava akımında kurutma ünitesinde (50°C)'de 24 saat (Aziah ve Komathi, 2009) süreyle kurutulan örnekler Braun MX2050 Black Multiquick Blender tipi mutfak robotundan geçirilerek un haline getirilmiş ve 60 mesh çaplı elekten elenmiştir. Elde edilen un örnekleri, kullanılıncaya kadar hava almayan cam kaplarda buzdolabında +4°C' de alüminyum folyo sarılmış şekilde saklanmıştır (Patent no: TR 2013 01091). SHU örneklerinde nem miktarı, AOAC Metot No: 925.40, kül miktarı, AOAC Metot No: 923.03, azot miktarı AOAC Metot No: 920.152 yöntemine göre yapılmış ve bulunan değer 6.25 ile çarpılarak protein miktarı (%) kurumadde üzerinden hesaplanmıştır. SHU örneklerinde yağ miktarı, Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak AOAC Metot No: 920.39'a göre belirlenmiştir (AOAC, 2000). Elde edilen sonuçlar kuru madde üzerinden hesaplanarak ifade edilmiştir.

Buğday unu analizleri

Un örneğinde nem miktarı, AACCI Metot No: 44.01, kül miktarı, AACCI Metot No: 08.01'e göre belirlenmiştir. Un örneğinde protein miktarı tayininde AACCI Metot No:46.12 kullanılmıştır. Bulunan % azot değeri buğday unu için 5.7 faktörü ile çarpılarak, protein miktarları (%) hesaplanmıştır (AACC, 2000). Unun yaş gluten miktarı, AACCI Metot No: 38.11'e göre, düşme sayısı AACCI Metot No: 56.81B ve Zeleny sedimentasyon değeri, AACCI Metot No: 56.60A'ya göre belirlenmiştir (AACC, 2000). Elde edilen sonuçlar kuru madde üzerinden hesaplanarak ifade edilmiştir.

Hamurun reolojik özellikleri

Ekstensograf analizi

Kraker hamurunun reolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla buğday unu (BU) ve buğday ununa farklı oranlarda (%5, 10, 20, 30 ve 40) SHU ilavesiyle elde edilen un karışımları kullanılmıştır. Kraker üretimi sırasında, buğday unu ve SHU dışında, formülasyonda yer alan diğer bileşikler de (%13 yağ (shotening), %0.5 sodyum bikarbonat, %2.0 amonyum bikarbonat, %1.6 tuz, %0.5 maya) belirlenen oranlarda ilave edilmiştir. 300 g un karışımı esas alınarak hazırlanan kraker hamurlarının ekstensograf analizlerinde (Brabender, Almanya) 45, 90 ve 135 dakika süre sonunda hamurun fermentasyon toleransı hakkında fikir veren ekstensogram özellikleri; uzayabilirliği (uzama kabiliyeti-mm), çekmeye karşı maksimum direnci (maksimum direnç- tepe yüksekliği -B.U.) ve enerji (cm²) değeri belirlenmiştir (AACC, 2000).

Farinograf analizi

Kraker hamuru üretiminde kullanılacak unların hamurun farinografik özelliklerine olan etkisi AACC Method 54-21.01'e göre (AACC, 2000) Brabender (Almanya) marka farinograf cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Bu metoda göre, 300 g un esas alınarak, BU ve SHU katkılı buğday unlarından elde edilen hamurların su kaldırma (absorbsiyon) oranları (%) ve yoğurmaya karşı gösterdikleri davranışları (hamur gelişme süresi, stabilite ve yumuşama derecesi (BU) değerleri) belirlenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Analiz sonucu elde edilen veriler istatistiksel olarak JMP IN 7.0.0 (Statistical Discovery from SAS 2005. Institue Inc.) programında varyans analizi sonucunda, ortalamalarda önemli fark gösterdiğinde en küçük önemli fark testi (LSD) karşılaştırma amacıyla ortalamalar arasındaki istatistiksel farkı ($p<0.05$) belirlemek için kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kimyasal Özellikler

Kraker üretiminde kullanılan BU ve SHU'nun bazı kimyasal özelliklerine ait sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir. SHU'nun, BU'ya göre, ortalama kül ve protein miktarının yüksek, yağ miktarının ise düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Çizelge 1. SHU ve BU'nun kimyasal özelliklerine ait bazı parametrelerin karşılaştırılması¹

Analizler	BU	SHU
Nem (%)	13.8±0.02 ^a	8.53±0.02 ^b
Kül (%)*	0.60±0.01 ^b	4.74±0.02 ^a
Protein (%)*	9.96±0.02 ^b	11.07±0.20 ^a
Yağ (%)*	1.38±0.04 ^a	0.46±0.46 ^b
Yaş Gluten Miktarı		
<i>Yaş Gluten (birim)</i>	24.35±0.07	
<i>Gluten İndeksi</i>	73.25±0.35	
Zeleny Sedimentasyon Değeri (mL)		
<i>Sedimentasyon</i>	25.20±1.13	
<i>Gecikmeli Sedimentasyon</i>	29.20±0.42	
Düşme Sayısı (sn)	327.05±0.21	

¹Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$). *Kurumadde üzerinden hesaplanmıştır. BU: Buğday unu; SHU: *S. hispanicus* L. unu

Hamur oluşumunda kullanılan BU'nun nem miktarı %13.8 ile Buğday Unu Tebliği'nde (Anonim 2013) belirtilen kritik nem değerinin (%14) altındadır. Bisküvi yapımında kullanılan unlarda protein miktarı %7-9, *Triticum aestivum* çeşitlerinden elde edilen ekmeklik amaçlı unlarda ise %11-13 arasındadır (Hoseney ve ark., 1988). Bu çalışmada kullanılan unun protein oranının, tebliğde belirtilen ve özel amaçlı unlar için verilen protein miktarına uygun olduğu belirlenmiştir (Anonim 2013).

Süneli buğdayların tespitinde yöntem olarak gecikmeli sedimentasyon uygulanır. Çalışmada kullanmış olduğumuz krakerlik unun sedimentasyon değerleri 25 ml- 29 ml olarak belirlenmiş ve süne zararı tespit edilememiştir. Protein ve gluten miktarı ve sedimentasyon sonuçları çevre ve kalıttan kaynaklı değişimler göstermektedir (Şahin ve ark., 2013). Kraker üretiminde, undaki gluten kalitesi hakkında bir gösterge olan Zeleny sedimentasyon değerinin düşük olduğu unlar tercih edilmektedir (Arslan, 2018). Kraker yapımında genelde düşük gluten içerikli zayıf unlar tercih edilmektedir. Çalışmamızda kullanılan un (*Tr. aestivum*) bu özelliklere sahiptir. Buğday proteini olan glütenin, hamur

oluşumunda ve fermentasyon aşamalarında hamurun reolojik özelliklerine etki etmektedir (Aydoğan ve ark., 2012).

Literatürde SHU'nun buğday ununa katılıp kraker yapımında kullanılması ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda kraker üretimi amacıyla kullanılan buğday ununun, bisküvi ve kraker üretimi ile ilgili çalışmalarda kullanılan unlarla da benzer kimyasal özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir (Bilgiçli ve ark., 2007; Oyeyinka ve ark., 2014). Baljeet ve ark. (2014), bisküvi üretiminde kullandıkları buğday ununun özelliklerini; %11.3 nem, %0.7 kül, %1.4 yağ, %1.7 protein olarak bildirmişlerdir. Çalışmalarında buğday ununa ilave ettikleri nohut unu ve havuç posası tozunun kimyasal özelliklerini nem (%9.8-%4), kül (%3.0-%3.2), yağ (%5.3-%0.5), protein (%17.1) olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda SHU katkısı, havuç posası tozuna göre, yüksek nem, kül, ve protein değerlerine sahiptir. Van yöresinde bazı buğdayların bisküvilik kalitesi üzerine yapılan diğer çalışmada, onların protein (%8.2-%9.9), kül (%0.81-%0.93), sedimentasyon (23.5 ml - 40 ml) ve gluten miktarının (%26.5-35.5) arasında değiştiği bildirilmiştir. Bisküvi ve kraker üretiminde kül oranı düşük, %10'dan düşük protein içermesi, sedimentasyon değerinin (15-25 ml) zayıf olması tavsiye edilmektedir (Doğan ve Uğur, 2005). Gümüş (2010), transglutaminaz enzimi kullanarak ürettiği krakerlerde, unun kimyasal özelliklerini; nem (%14.1), kül miktarı (%0.65), yağ gluten miktarı (%22.1), zeleny sedimentasyon değeri (22 ml), düşme sayısı (320 s) olarak belirlemiş ve unun zayıf niteliği ile bisküvi ve kraker yapımı için uygun olduğunu belirtmiştir. Sahan ve ark. (2012), iğde unu katkılı bisküvi üretiminde kullandıkları bisküvilik unun kimyasal özelliklerini; nem (%13.9), kül (%0.6), yağ gluten (%29), gluten indeks (%76), sedimentasyon değeri (25 ml), gecikmeli sedimentasyon değeri (28 ml), düşme sayısı (327 s) olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda kraker yapımı için kullandığımız buğday unu da benzer değerler göstermiştir (Çizelge 1).

Literatür araştırmaları incelendiğinde, buğday ununun kullanıldığı balkabağı unu katkılı bisküvi (Aydın, 2014), kestane unu katkılı bisküvi (İnkaya, 2008), Tritikale çeşidinden elde edilen un ile hazırlanan bisküvi ve kraker (Sertekan, 2006), kek ve bisküvi (Özay ve Kaçar, 2010) üretimi üzerine yapılan araştırmalarda, çalışmamıza benzer şekilde buğday ununun kimyasal (nem, kül, protein, yağ) ve fizikokimyasal (gluten, sedimentasyon değeri, düşme sayısı) özellikleri benzer bulunmuştur. Analiz sonuçları arasındaki bazı farkların, buğday hasatı ve depolamasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Hamurun Reolojik Özellikleri

Ekstensograf özellikleri

Hamurun uzamaya karşı direnci, hamur uzama yeteneği ve hamur enerjisi Ekstensograf cihazı (Brabender Inc., Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Farklı kraker formülasyonlarının üretimi için BU'ya, yer değiştirme esasına göre farklı oranlarda SHU (100:0, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30 ve 60:40) ilave edildikten sonra, hamur karışımların ekstensograf değerleri Çizelge 2'de, ekstensograf grafikleri ise Şekil 2'de verilmiştir.

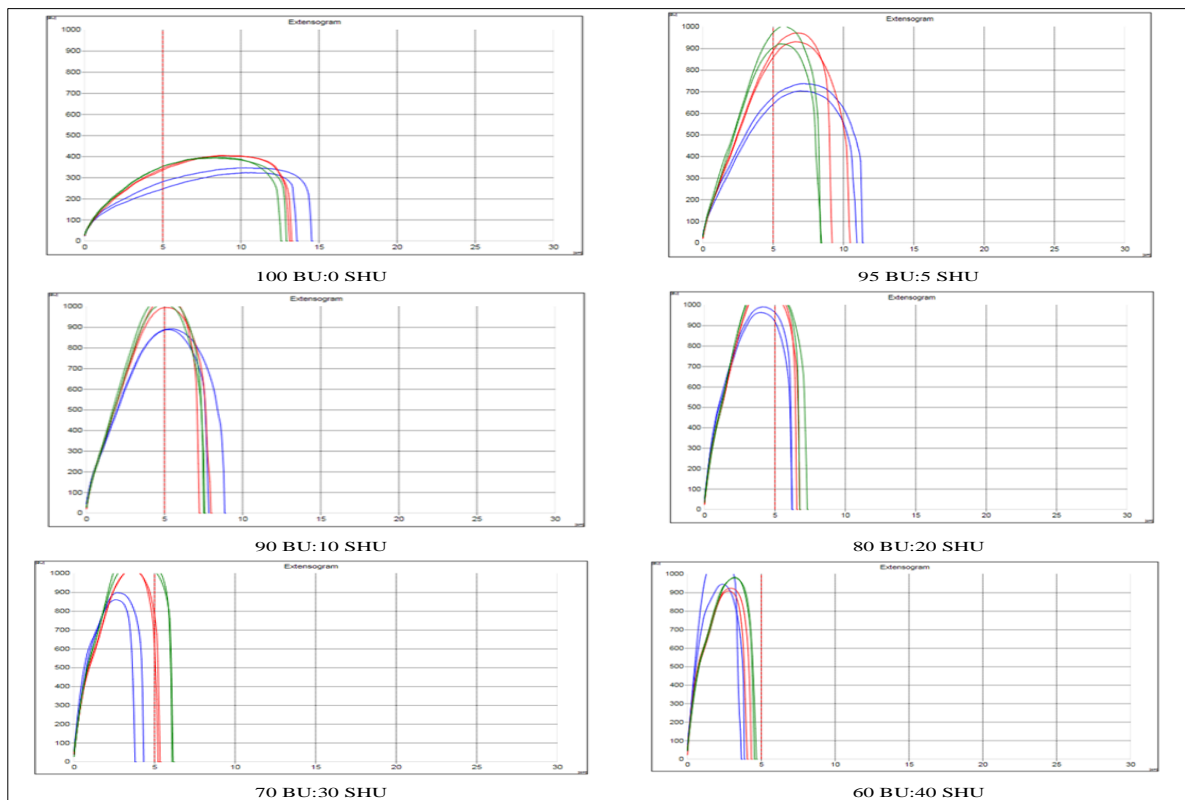
Enerji Değeri, grafiğin planimetrik alanı olup, cm^2 olarak belirtilmektedir. Bu değer ne kadar büyük olursa hamurun gaz tutma kapasitesi ve fermentasyon toleransı da genelde o kadar fazla olmaktadır (Megep, 2013). SHU katkı oranındaki değişimin enerji değeri üzerindeki etkisinin 45, 90 ve 135. dk da önemli olduğu ($p<0.05$) tespit edilmiştir. SHU katkılı örneklerin 135.dk'daki ekstensograf kurve değerleri incelendiğinde, kontrole (100 BU:0 SHU) göre, %5, 10 ve %20 SHU katkı oranlarının, enerji değerini önemli düzeyde ($p<0.05$) arttırdığı ancak, 60 BU:40 SHU karışım oranında, enerji değerinin ($58.50 cm^2$), kontrolden ($71.00 cm^2$) önemli düzeyde ($p<0.05$) düşük çıktığı tespit edilmiştir. 135 dk.'da 80 BU:20 SHU karışımında en yüksek enerji değeri ($100.50 cm^2$) gözlenmiştir. 45, 90 ve 135 dk. da incelenen enerji değerlerinde, %30 SHU katkı oranından itibaren, elastikiyette kayıp olmuş,

hamur uzama kabiliyetini %5, 10 ve %20 SHU katkı oranlı örneklerle göre önemli düzeyde yitirmeye başlamıştır ($p<0.05$). Hamur güçlü olmasına rağmen, erken koptuğu için mevcut direncini yansıtamamış, bu da enerji değerinin düşük çıkmasına neden olmuştur. Aynı olay %40 SHU katkılı unda da belirgin bir şekilde görülmektedir. Bunun nedeninin SHU ilavesi ile undaki gluten miktarının azalması ve seyrelemesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Benzer çalışmalarda bu sonucu desteklemektedir (Doğan ve Meral, 2016)

Çizelge 2. Ekstensograf değerleri*

BU: SHU Karışımı ¹	Süre	Enerji (cm ²)	Uzama Kabiliyeti (mm)	Maksimum Direnc (B.U.)
100:0	45.dk	66.00±7.07 ^c	142.00±7.07 ^a	335.50±16.26 ^d
95:5		106.50±7.78 ^a	112.50±3.54 ^b	721.00±24.04 ^c
90:10		95.50±9.19 ^{ab}	84.00±7.07 ^c	891.00±2.83 ^b
80:20		82.00±2.83 ^b	63.50±0.71 ^d	978.50±19.09 ^a
70:30		48.00±5.66 ^d	41.50±3.54 ^e	880.00±26.87 ^b
60:40		51.00±1.41 ^{cd}	39.00±1.41 ^e	986.00±56.57 ^a
100:0	90.dk	74.00±0.00 ^c	133.00±1.41 ^a	405.00±1.41 ^c
95:5		116.50±7.78 ^a	98.50±9.19 ^b	952.50±28.99 ^b
90:10		95.00±4.24 ^b	77.00±5.66 ^c	1011.50±21.92 ^a
80:20		93.00±1.41 ^b	68.00±1.41 ^c	1026.00±0.00 ^a
70:30		70.00±1.41 ^c	53.50±0.71 ^d	1023.00±2.83 ^a
60:40		50.00±4.24 ^d	43.00±2.83 ^d	916.50±10.61 ^b
100:0	135.dk	71.00±1.41 ^c	128.50±2.12 ^a	395.50±3.54 ^c
95:5		99.00±5.66 ^a	85.00±0.00 ^b	962.00±56.57 ^b
90:10		96.00±2.83 ^{ab}	76.50±0.71 ^c	1018.50±12.02 ^{ab}
80:20		100.50±4.95 ^a	71.50±3.54 ^d	1026.00±0.00 ^a
70:30		89.00±0.00 ^b	62.00±0.00 ^e	1026.00±0.00 ^a
60:40		58.50±2.12 ^d	47.00±1.41 ^f	981.50±3.54 ^{ab}

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında $p<0.05$ oranında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır. ¹BU: Buğday unu; SHU: *S. hispanicus* L. Unu



Şekil 2. Ekstensograf grafikleri (BU: Buğday unu, SHU: *S. hispanicus* L. unu)

Hamurun makinada çekilmeye başladığı ve koptuğu anlar arası geçen sürede, grafik taban uzunluğu mm cinsinden uzama kabiliyeti olarak adlandırılır (Megep, 2013) (Şekil 2). SHU katkı oranının artması ile uzama kabiliyetinde istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma tespit edilmiştir ($p<0.05$). Uzama değerlerinin kontrol ve %40 SHU katkı oranındaki değişimleri 45. dk 142.00-39.00 mm; 90. dk 133.00-43.00 mm; 135. dk 128.50-47.00 mm olarak belirlenmiştir. Kontrol örneğinin uzama kabiliyeti önemli düzeyde ($p<0.05$) yüksek tespit edilmiştir. SHU katkısının uzama kabiliyeti üzerindeki etkisinin 45, 90 ve 135. dk da önemli olduğu ($p<0.05$) tespit edilmiştir. Benzer sonuçlara Doğan ve Meral (2016)'da uşkun bitkisinin bisküvi üretiminde kullanıldığı çalışmada da rastlanmış ve diyet lif miktarı artışının uzama kabiliyetini azalttığı belirtilmiştir. SHU un katkısının toplam diyet lif içeriği (%15) yüksek tespit edilmiş olup (Dülger, 2015), çalışmamızda katkı oranının artışı ile uzama kabiliyetinin azalması bu sonucunu doğrulamaktadır.

Çizilen grafiklerdeki yükseklik, hamurun uzamaya karşı maksimum direncini göstermekte olup, brabender birimi (B.U.) olarak gösterilir (Megep, 2013). 135. dk ekstensograf değerleri, maksimum direnç değerleri açısından incelendiğinde, SHU katkısının, kontrole göre direnci önemli düzeyde ($p<0.05$) arttırdığı gözlenmiştir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre SHU katkı oranı 45, 90 ve 135. dk da hamurun direnci üzerindeki etkisi önemlidir ($p<0.05$). Maksimum direnç değerleri 45 dk.'da 335.50-978.50 B.U., 90. dk'da 405.00-1026.00 B.U., 135. dk'da 395.50-1026.00 B.U. aralığında değişmiştir. Kontrol örneğinin maksimum direnci SHU katkılı örneklerle göre önemli düzeyde ($p<0.05$) düşük tespit edilmiştir. Bu durum SHU'nun asitliğinin yüksek olmasından dolayı, hamur üzerine oksidan bir etkide bulunmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. 135. dk değerlerinde %20, 30 ve %40 SHU katkı oranları istatistiksel olarak benzer hamur direnci göstermiştir ($p>0.05$). Genel olarak değerlendirildiğinde, SHU unu ilavesinin, hamurun bekletilme aşamasında iken kıvamı üzerine sertleştirici etkide bulunduğu ve hamur direncini artırdığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda, hamura ilave edilen katkı maddelerindeki diyet lif miktarındaki artışın hamur direnci ve maksimum direnci arttırdığı ve hamurun sertleşmesine neden olduğu bildirilmiştir (Sudha ve ark., 2007; Doğan ve Meral, 2016)

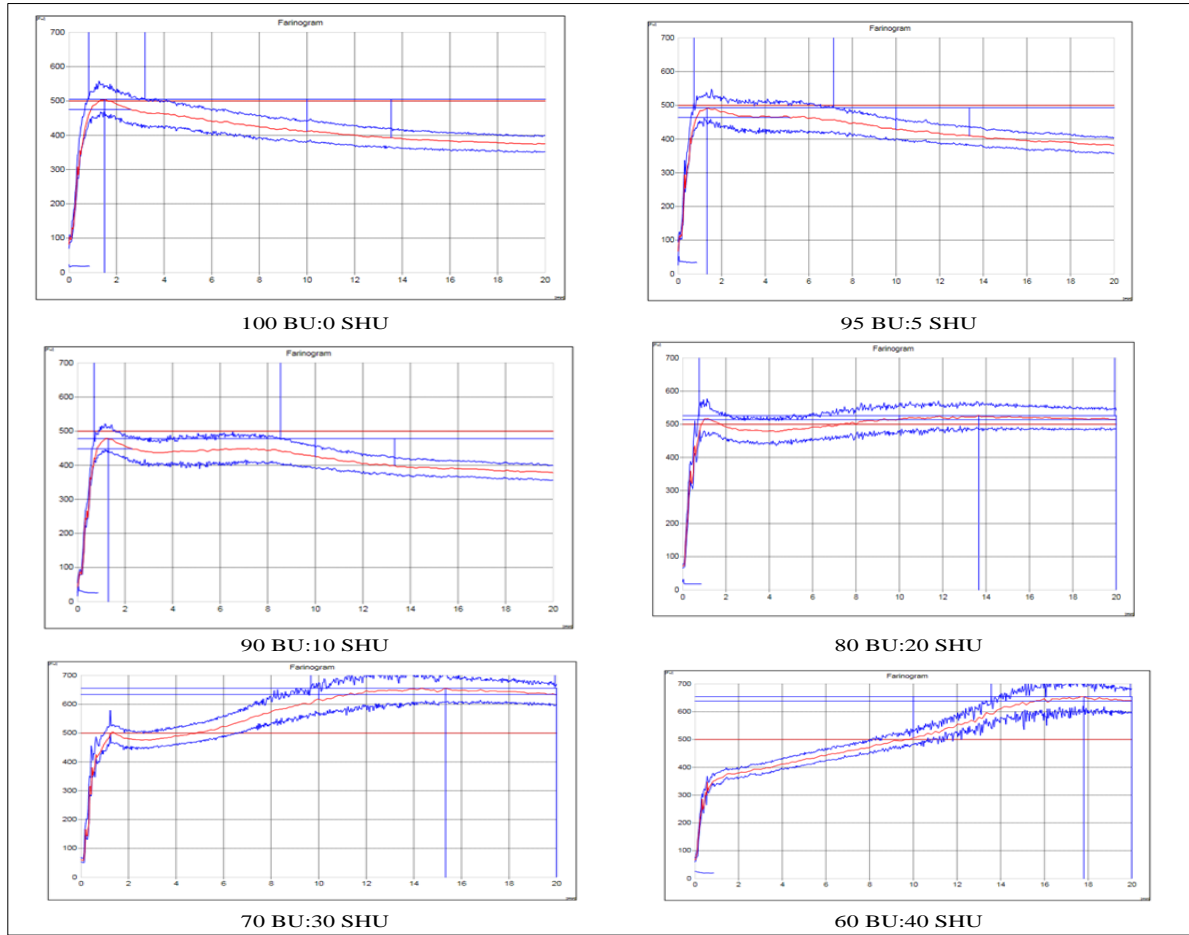
Farinograf özellikleri

Farinograf cihazı, unun su absorpsiyonunu ve bu undan hazırlanan belirli kıvamdaki hamurun yoğrulmaya karşı direncini ölçmekte ve kaydetmektedir (McFall ve Fowler, 2009). Un ve su karıştırılınca oluşan hamur, yoğurma aşamasında paletlere direnç göstermektedir. Bu aşamada, hamurun paletlere karşı gösterdiği direnç grafik olarak çizilmektedir (Arslan, 2018). Farinograf sonuçları Çizelge 3'te, grafikleri de Şekil 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Farinograf değerleri*

BU: SHU Karışımı ¹	Su Kaldırma Oranı (%)	Gelişme Süresi (dk)	Stabilite (dk)	Yumuşama Derecesi (B.U.)	
				10.dk	12.dk
100:0	54.35±0.07 ^a	1.55±0.07 ^d	2.45±0.07 ^e	93.15±0.21 ^b	112.50±0.71 ^d
95:5	51.80±0.28 ^b	1.35±0.07 ^d	6.48±0.04 ^d	65.50±0.71 ^c	83.75±1.06 ^e
90:10	50.70±0.57 ^b	1.38±0.04 ^d	7.85±0.07 ^c	53.25±0.35 ^d	79.50±0.71 ^f
80:20	50.20±0.35 ^b	13.65±0.21 ^c	19.30±0.07 ^a	10.75±0.35 ^f	525.50±0.72 ^c
70:30	51.85±0.21 ^b	15.35±0.07 ^b	10.38±0.04 ^b	38.00±1.41 ^e	656.50±0.71 ^a
60:40	54.85±0.21 ^a	17.78±0.11 ^a	6.43±0.04 ^d	147.50±0.71 ^a	654.50±0.71 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında $p<0.05$ oranında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır. ¹BU: Buğday unu; SHU: *S. hispanicus* L. Unu



Şekil 3. Farinograf grafikleri (BU: Buğday unu, SHU: *S. hispanicus* L. unu)

Örneklerin farinograf değerleri incelendiğinde, su kaldırma oranları %50.20-54.85 arasında değişmiştir. Kontrol örneğine göre, SHU oranındaki artışı ile %30 un katkısına kadar su kaldırma oranında istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) azalma görülürken, %40 un katkısında su kaldırma kapasitesi artmıştır, ancak bu artış istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur. 70 BU:30 SHU ve 60 BU:40 SHU karışımlarında, SHU katkısının hamuru aşırı sertleştirilmesi nedeniyle, farinograf kurveleri düzgün çizilememiştir. Bu durumun, %30 ve %40 SHU katkı oranlarının suyu hızla değil belli bir süre sonra absorbe etmesi nedeniyle, hamur konsistensini aşırı yükseltmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Doğan ve Meral (2016), uşkun bitkisini bisküvi formülasyonlarına % 0.5, 1 ve 2 oranlarında ekledikleri bir çalışmada, su kaldırma değerlerinin % 59.25-60.00 arasında değiştiği ve çalışmamıza benzer şekilde % 2 katkı oranında su kaldırma kapasitesinin kontrole göre azaldığı ve istatistiksel olarak önemsiz bulunduğunu bildirmişlerdir.

Kurvenin maksimum yüksekliği aldığı (500 çizgisi) noktada geçen süre gelişme süresi olarak adlandırılır (Arslan, 2018). Bu değerler incelendiğinde, %5 ve %10 SHU katkı oranlarının, hamur gelişme süresini, kontrole göre az da olsa düşürdüğü, ancak bu azalışın istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) olduğu tespit edilmiştir. %20, 30 ve %40 SHU katkı oranlarının ise kontrole göre gelişme süresini belirgin bir şekilde arttırdığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Yoğurma sırasında hazırlanan hamurun paletlere gösterdiği direnç bir süre değişmeden kalmaktadır. Yani grafik bir süre 500 çizgisi üzerinde çizilmektedir. Bu nokta ile ayrıldığı nokta arasında geçen süre stabilite değeri olarak adlandırılır (Megep, 2013). Bu değerlere bakıldığında katkılı unların, kontrol örneğine (2.4 dk) göre stabilite değerini attırdığı belirlenmiş, %20 SHU katkılı unda stabilite değeri istatistiksel olarak en yüksek (19.2 dk) değere ulaşmıştır ($p < 0.05$). Doğan ve Meral (2016), uşkun

bitkisini bisküvi formülasyonlarına farklı oranlarda eklediği çalışmalarında, belirlenen hamur stabilite değerleri (0.85-2.70 dk) çalışmamıza göre daha düşük olup, uşkunun stabilite üzerinde etkisinin önemsiz olduğu sonucuna varılmıştır.

%5, %10, %20 ve %30 SHU katkılarının, hamurun 10. dk yumuşama derecesini önemli düzeyde ($p<0.05$) düşürdüğü tespit edilmiştir. Kurveden de görüleceği gibi; 80 BU: 20 SHU katkı oranında, kurvenin tepe noktasından itibaren 12 dakika sonra, 500 konsistens çizgisinin üzerinde devam etmiş (525.50 B.U.), 70 BU: 30 SHU ve 60 BU: 40 SHU katkı oranlarında ise 500 çizgini de geçerek 656.50-654.50 B.U. değerlerine ulaşmış ve kurvenin düzgün çizilememesine neden olmuştur. SHU katkısının stabilite değerini önemli düzeyde ($p<0.05$) arttırdığı ve bunun sonucunda da hamurun yumuşama değerinin %30 SHU katkı oranına kadar giderek azaldığı (kontrolle göre) belirlenmiştir. Bu durum, SHU katkısının hamuru ciddi bir biçimde güçlendirdiğinin ortaya konulması açısından da dikkat çekici bir sonuç olup, SHU farklı unlu mamul üretimlerinde dayanıklı hamur geliştirmede kullanılabilir.

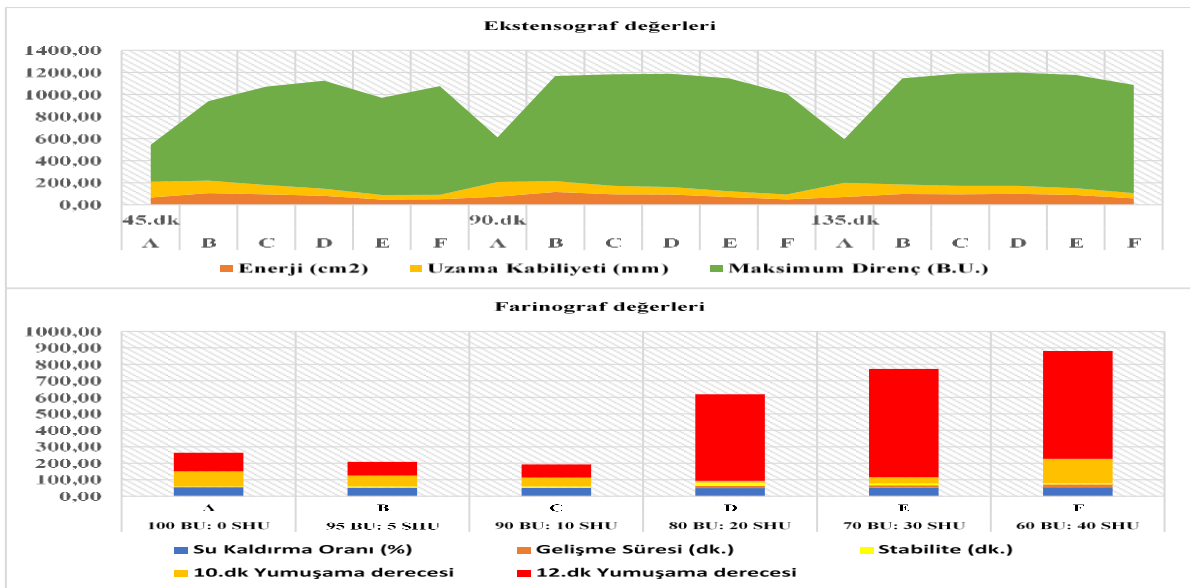
Araştırma materyali buğday unu ve SHU'nun reolojik özelliklerinin belirlemek üzere yapılan farinograf ve ekstensograf analizleri sonuçları literatür ile karşılaştırılmıştır. Doğan ve Uğur (2005) bazı buğdayların bisküvilik kalitesi ile ilgili 10 buğday çeşidinde yaptıkları bir çalışmada, gelişme süresi, stabilite süresi, su kaldırma kapasitesini, yumuşama derecesinin sırasıyla 1.80-4.00 dak., 2.30-10.00 dak., %54.70-61.50, 65.00 B.U.-180.00 B.U. arasında değiştiğini bildirmiştir. Ekstensograf değerlerine göre, hamur uzama kabiliyetinin artışı, hamur mukavemetinin azalması bisküvi yayılma oranını arttırdığı belirtilmiştir. Bisküvilik unların su kaldırma kapasitesinin düşük, yumuşama derecesinin genelde yüksek olması tercih edilmektedir. Çalışmamızda kullanılan farklı oranlardaki buğday unu ve SHU unu karışımlarında su kaldırma değeri %50.20-54.85 arasında değişmekte olup daha düşük tespit edilirken, 12. dk yumuşama derecesi ise 79.50 B.U.- 656.50 B.U. arasında değişmekte olup daha yüksek tespit edilmiştir.

Sertekan (2006), buğday unu ve tritikale unu paçalları kullanarak bisküvi ve kraker üretimi yapmış ve hamurların reolojik özelliklerini belirlemiştir. Beş farklı un paçalında, su absorpsiyon değeri %49.40-58, gelişme süresi 0.70- 1.70 dk, stabilite değerleri 3.70 dk., yumuşama değeri 110 B.U.-130 B.U. rapor edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız BU: SHU farklı katkı oranlarında, %5, %10 ve %20 SHU katkı oranlarda su kaldırma değerinin kontrol örneğine göre azaldığı, %40 SHU oranında ise artarak kontrol örneğine yaklaştığı görülmüştür. Hamur gelişme sürelerinde ise %20, 30 ve %40 SHU katkı oranlarının sırasıyla 13.65, 15.35 ve 17.78 dk gibi belirgin artışlar tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız buğday ununda stabilite değeri 2.45 dk iken, yine %20 SHU katkı oranlı unda en yüksek değere (19.30 dk) ulaşmıştır. Buğday ununda 10.dk'daki yumuşama değeri 93.15 B.U. iken, SHU oranı arttıkça bu değer %30 katkı oranına kadar artış göstermiştir.

Indrani ve Rao (2007), Kanada çeşidi buğdayların farinograf değerlerini, su kaldırma miktarı % 60.7-65.9, gelişme süresi (2.25-13 dk), stabilite (5-25 dk) olarak bildirmişlerdir. Hruskova ve ark. (2003), değişik buğday çeşitlerinin su kaldırma miktarının %58.1-66.4 arasında değiştiğini, hamur gelişme süresinin ortalama değerinin 6 dk olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir buğday çalışmasında, farinograf değerleri %53.6 su kaldırma oranı, 1.53 dk gelişme süresi ve 1.40 dk stabilite değeri bildirilmiştir (Paraskevopoulou ve ark., 2010). Ktenioudaki ve ark., (2010) farklı bölgelerden toplanan sekiz buğday çeşidinin su absorpsiyonunun (%50.7-61.5), gelişme süresinin (1.5- 6 dk), stabilite değerlerinin (1-5 dk) arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Özay ve Kaçar (2010), kek ve bisküvi üretiminde kullandıkları Eser çeşidine ait un örneğinin su absorpsiyonu %53, gelişme süresi 2.5 dk, stabilitesi 8.5 dk, yumuşama derecesi 160 B.U. olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda buğday ununa farklı oranlarda SHU unu ilavesinde, su kaldırma oranı %50.20-%54.85 arasında değişmektedir.

Kullandığımız buğday ununda su kaldırma (%54.35), gelişme süresi (1.55 dk), stabilite değeri (2.45 dk), yumuşama derecesi 12.dk (112.50 B.U.) olarak tespit edilmiştir.

Gümüş (2010), transglutaminaz enzimi kullanarak ürettiği krakerlerde, un örneğinin farinogram özelliklerini; su absorpsiyonu (%55.1), gelişme süresi (1.7 dk), stabilite (2.9 dk), yumuşama derecesi (127 B.U.) olarak tespit etmiştir. Aydoğan ve ark., (2012), ekmeklik buğday unlarında yaptıkları bir çalışmada, su absorpsiyonunu % 59.85-62.10, gelişme süresini 2.15 dk - 4.15 dk aralığında tespit etmişlerdir. Ekmeklik buğday genotiplerinde stabilite değeri 4.65 dk.-1.40 dk. olarak belirlenmiştir. Stabilite, hamurun dayanıklılığını ve fermantasyon yeteneğini göstermekte olup, bu süre kısa olursa fermantasyon süresi kısaldır. Eğer gelişme süresi uzun ise, hamur geç kabarır, gluten kalitesi yüksek ve yoğurma süresi uzun olur (Göçmen, 1991). Sharma ve ark. (2013), kurabiye yapımında, buğday ununa ilave edilen %2.5, 5 ve 7.5 oranlarında kurutulmuş *Guduchi* (*Tinospora cordifolia*) bitkisinin yaprak tozunun oranı arttıkça, su absorpsiyonunun % 62'den % 67'ye, hamur gelişme süresinin 3.5 dk'dan 4.5 dk'ya arttığını, stabilitenin 6.5 dk'dan 3.4 dk'ya düştüğünü, yumuşama derecesinin 35 B.U.'dan 85 B.U.'ya arttığını saptamışlardır. Bu tozun %16 diyet lif içermesinin, su absorpsiyon kapasitesini arttırdığı ve hamur gelişme süresini uzattığını bildirmişlerdir. Benzer sonuç çalışmamızda da gözlenmiştir. Sahan ve ark., (2012), bisküvilere iğde unu ilavesinin uzama yeteneğini düşürdüğü, maksimum direnci ise arttırdığını rapor etmişlerdir. Farinograf özelliklerini değerlendirildiğinde ise iğde unu katkısının, su kaldırma yeteneğini düşürdüğü belirtilmiştir. %5 ve %25 katkı oranlarının gelişme süresini artırmasına karşın, %10, 15 ve 20 oranlarının gelişme sürelerini düşürdüğü rapor edilmiştir. Bu durumun, iğde unu katkısı ile buğday unundaki gluten proteinlerinin nisbi olarak seyrelmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Benzer sonuçlara çalışmamızda da ulaşılmıştır. Çalışmanın sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde BU'ya farklı oranlarda eklenen SHU katkısının hamuru güçlendirdiği Şekil 4'de verilen farinograf ve ekstensograf değerlerinin değişiminde görülmüştür. Unun reolojik karakterinin, buğday çeşitlerinin özelliklerine göre değiştiği ve buğdayın kalitesinin, yetiştiği toprak, iklim koşulları ve tohumun yapısındaki bileşiklere göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Amjid ve ark., 2013)



Şekil 4. BU: SHU katkılı hamur karışımların ekstensograf ve farinograf değerlerinin değişimi

SONUÇ

Kraker üretiminde değerlendirilmesi için, şevketi bostan bitki kökünden elde edilen unun, buğday ununa farklı ikame oranlarında katıldığı bu çalışmada, hamurun reolojik özelliklerinin olumlu yönde

değiştirdiği tespit edilmiştir. SHU katkısının su absorpsiyon kapasitesi yüksektir ve bu durum buğday ununun fonksiyonel özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir. Ayrıca, farklı ikame oranlarında SHU katkılarının, hamurun hazırlanması aşamasında, kıvam üzerine sertleştirici etkide olduğu ve hamur direncini artırdığı görülmektedir. Reolojik özellikler açısından %20 katkı oranına kadar SHU katkısının buğday ununa ilave edilerek farklı tahıl ürünlerinin üretiminde de kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada katkı olarak kullanılan SHU'nun yüksek protein ve mineral madde içeriği, düşük yağ içeriği yönünden krakerin besleyici özelliklerine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. SHU katkısının hamuru ciddi bir biçimde güçlendirmesi bazı tahıl ürünlerinin üretiminde avantaj sağlayacaktır. Tıbbi ve aromatik özelliklere sahip bir bitkiden elde edilen SHU katkısı fonksiyonel ve besleyici özellikleri ile fonksiyonel gıda katkısı olarak farklı çalışmalara da yol gösterecektir.

TEŞEKKÜR

Bu orijinal araştırma makalesi birinci yazarın doktora tezinden üretilmiştir. Bu çalışmada kullanılan SHU katkısı, “Şevketi bostan bitki kökünden elde edilen un ve bahsedilen unun üretim metodu” başlıklı patent ile ulusal patent olarak tescillenmiştir. Patent No: TR 2013 01091 B. (Tescil Tarihi: 2015-09-21). Patent Başvuru ve Buluş Sahipleri: Yasemin Şahan, Dilek Dülger Altiner. Bandırma Has Un (Toru Un) Fabrikası Kalite Güvence Müdürü Sayın Murat Özgenç'e hamurun reolojik özelliklerinin analizi aşamasında değerli katkıları için çok teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- American Association of Cereal Chemist (AACC) 2000. Approved Methods of American Association of Cereal Chemists. 10th ed. St. Paul. Minn. USA.
- Amjid M, Shehzad A, Hussain S, Shabbir MA, Khan MR, Shoaib M, 2013. A comprehensive review on wheat flour dough rheology. Pakistan Journal of Food Sciences, 23 (2): 105-12.
- Anonim 2013. Türk gıda kodeksi buğday unu tebliği, tebliğ no: 2013/9, 02.04.2013 Resmî Gazete Sayısı: 28606.
- AOAC, 2000. Official methods of analysis of AOAC (Analysis of Association of Official Analytical Chemists) International. 17th edition. Gaithersburg, MD, USA, Association of Analytical Communities.
- Arslan EZ, 2018. Unun kalite parametrelerinin yakın ve orta kızılötesi spektroskopisi kullanılarak tahmin edilmesi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Aydin E, 2014. Balkabağı (*Cucurbita moschata*) unu katkısının bisküvinin antioksidan aktivite ve besinsel kalitesine etkileri, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Aydoğan S, Göçmen Akçacık A, Şahin M, Kaya Y, Koç H, Görgülü MN, Ekici M, 2012. Ekmeklik Buğday Unlarında Alveograf, Farinograf ve Miksografta Ölçülen Reolojik Özellikler Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7 (1):74-82.
- Aziah, NAA, Komathi CA, 2009. Physicochemical and functional properties of peeled and unpeeled pumpkin flour. Journal of Food Science, 74 (7): 328-333.
- Baljeet SY, Ritika BY, Reena K, 2014. Effect of incorporation of carrot pomace powder and germinated chickpea flour on the quality characteristics of biscuits. International Food Research Journal, 21 (1): 217-222.
- Bilgiçli N, İbanoğlu Ş, Herken EN, 2007. Effect of dietary fibre addition on the selected nutritional properties of cookies. Journal of Food Engineering, 78: 86-89.
- Davis PH, 1965-1985. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Ed: Davis P.H., Vol. 1-9, Edinburgh University Press, 1965-1985, Edinburgh.

- Demir H. 2006. Erzurum'da yetişen madımak, yemlik ve kızamık bitkilerinin bazı kimyasal bileşimi. Bahçe, 35 (1-2):55-60.
- Doğan H, Meral R, 2016. Uşkun bitkisinin bisküvi üretiminde fonksiyonel bileşen olarak kullanımı. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6 (4): 91-99.
- Doğan İS, Uğur T, 2005. Van ve çevresinde yetiştirilen bazı buğdayların bisküvilik kalitesi üzerine bir araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (Journal of Agricultural Science), 15 (2) :139-148.
- Dülger D, 2015. Sağlıklı bir atıştırılmalık: Enerjisi azaltılmış kraker üretimi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Dülger D, Şahan Y, 2013. Blessed Thistle: A Plant Traditionally used as a Vegetable. The 2nd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, (Oral Presentation), 24-25 October, Macedonia.
- Göçmen D, 1991. Marmara Bölgesinde üretilen bazı buğday çeşitlerinin ekmeklik kalitesi üzerine araştırmalar, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Gümüş S, 2010. Transglutaminaz enzimi kullanılarak üretilen krakerlerde maillard reaksiyonu sonucu ortaya çıkan lizin kaybının incelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Hoseney RC, Wade P, Finley JW, 1988. Soft wheat products. Wheat Chem. Techn. American Association Of Cereal Chemists. St. Paul Minnesota.
- Hruskova M. and Smejda P., 2003. Wheat flour dough alveograph characteristics predicted by NIRSystems 6500. Czech Journal of Food Science, 21:28-33
- IGC, 2020. International Grains Council (IGC), <https://www.igc.int/en/default.aspx>. (Erişim Tarihi:09.12.2020).
- Indrani D, Rao GV, 2007. Rheological characteristics of wheat flour dough as influenced by ingredients of parotta. Journal of Food Engineering, 79 (1): 100- 105.
- İnkaya AN, 2008. Bisküvi üretiminde kestane kullanım olanaklarının araştırılması, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmamış).
- Kemper KJ, 1999. Blessed Thistle (Cnicus Benedictus), [http://www.longwoodherbal.org/blessed thistle/ blessed thistle.pdf](http://www.longwoodherbal.org/blessed%20thistle/blessed%20thistle.pdf). (Erişim Tarihi: 10.03.2018)
- Krystjjan M, Gumul D, Ziobro R, Korus A, 2015. The Fortification of Biscuits with Bee Polen and Its Effect on Physicochemical and Antioxidant Properties in Biscuits. LWT - Food Science and Technology, 63 (1): 640-646.
- Ktenioudaki A, Butler F, Gallagher E, 2010. Rheological properties and baking quality of wheat varieties from various geographical regions. Journal of Cereal Science, 51 (3): 402-408.
- Liu N, Ma S, Li L, Wang X, 2019. Study on the effect of wheat bran dietary fiber on the rheological properties of dough. Grain & Oil Science and Technology, 2 (1): 1-5.
- Liu Y, Li M, Liu Y, Guan E, Bian K, 2021. Effects of superheated steam treatment of wheat on physicochemical properties of wheat flour and cracker quality. Journal of Cereal Science, 97: 103165.
- Marchini M, Carini E, Cataldi N, Boukid F, Blandino M, Ganino T, Vittadini E, Pellegrini N, 2021. The use of red lentil flour in bakery products: How do particle size and substitution level affect rheological properties of wheat bread dough?. Lwt - Food Science and Technology, 136: 110299.
- McFall KL, Fowler ME, 2009. Overview of wheat classification and trade. In: Carver B. F. (Ed). Wheat Science and Trade. Wiley-Blackwell A John Wiley & Sons, Inc., Publication USA. p.448.
- Megep, 2013. Milli Eğitim Bakanlığı, Gıda Teknolojisi, Un ve unlu mamullerdeki analizler 2, Ders Modülü, Ankara.
- Melini F, Melini V, Luziatelli F, Ruzzi M, 2017. Current and Forward-Looking Approaches to Technological and Nutritional Improvements of Gluten-Free Bread with Legume Flours: A Critical Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 16 (5): 1101-1122.
- Mtelisi DN, Xu F, Zhao R, 2020. The efficacy of sorghum flour addition on dough rheological properties and bread quality: A short review. Grain & Oil Science and Technology, 3 (4): 164-171.
- Nemeth R, Bender D, Jaksics E, Calicchio M, Langó B, D'Amico S, Török K, Schoenlechner R, Tömösközi S, 2019. Investigation of the effect of pentosan addition and enzyme treatment on the rheological properties of millet flour based model dough systems. Food Hydrocolloids, 94: 381-390.
- Oyeyinka SA, Oyeyinka AT, Karim OR, Toyeeb KA, Olatunde SJ, Arise AK, 2014. Biscuit making potentials of flours from wheat and plantain at different stages of ripeness. Croatia Journal of Food Science and Technology, 6 (1): 36-42.

- Özay S, Kaçar D, 2010. Kimyasal interesterifikasyon yöntemi ile zeytinyağı bazlı yeni bir yağ ürününün geliştirilmesi ve kek-bisküvi üretiminde kullanılabilirliğinin araştırılması, Proje no: 108O586, Tübitak Projesi, Ankara.
- Özer Z, Tursun N, Önen H, 2001. Yabancı otlarla sağlıklı yaşam. 4 Renk Yayın Tanıtım Matbaacılık, 253 s, Ankara.
- Paraskevopoulou A, Provatidou E, Tsotsiou D, Kiosseoglou V, 2010. Dough rheology and baking performance of wheat flour-lupin protein isolate blends. *Food Research International*, 43 (4): 1009-1016.
- Polo S, Tardío J, Vélez-del-Burgo A, Molina M, Pardo-de-Santayana M, 2009. Knowledge, use and ecology of golden thistle (*Scolymus hispanicus* L.) in Central Spain, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5: 42.
- Rathi A, Kawatra A, Sehgal S, Housewright B, 2004. Influence of depigmentation of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) on sensory attributes, nutrient composition and in vitro digestibility of biscuits. *LWT – Food Science and Technology*, 37 (2): 187–192.
- Sahan Y, Gocmen D, Cansev A, Celik G, Güçer S, 2012. İğde (*Eleagnus angustifolia* l.) meyvesinin kimyasal ve besleyici özellikleri ve bisküvi üretiminde kullanımı. TÜBİTAK Proje no: 110O060, Bursa.
- Sertakan SG, 2006. Bisküvi ve kraker üretiminde tritikale ununun kullanım olanakları, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Sharma P, Velu V, Indrani D, Singh RP, 2013. Effect of dried Guduchi (*Tinospora cordifolia*) leaf powder on rheological, organoleptic and nutritional characteristics of cookies. *Food Research International*, 50 (2): 704–709.
- Skrbic B, Milovac S, Dodig D, Filipčev B, 2009. Effects of hull-less barley flour and flakes on bread nutritional composition and sensory properties. *Food Chemistry*, 115 (3): 982-988.
- Sobczyk A, Pycia K, Stankowski S, Jaworska G, Kuźniar P, 2017. Evaluation of the rheological properties of dough and quality of bread made with the flour obtained from old cultivars and modern breeding lines of spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*). *Journal of Cereal Science*, 77: 35-41.
- Sudha ML, Srivastava AK, Leelavathi K, 2007. Studies on pasting and structural characteristics of thermally treated wheat germ. *European Food Research and Technology*, 225: 351-357.
- Şahin M, Akçacık Göçmen A, Aydoğan S, Demir B, Önmez H, Taner S, 2013. Ekmeklik buğday ununda ekmek hacmi ile bazı fizikokimyasal ve reolojik özellikler arasındaki ilişkilerin tespiti. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 22 (1): 13-19.
- TMO, 2019. Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü. 2019 yılı hububat sektör raporu, <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/sektorraporlari/hububat2019.pdf> (Erişim Tarihi:12.10.20219).
- TÜİK, 2020. Bitkisel Üretim 2.Tahmini, <https://tuikweb.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=33736> (Erişim Tarihi:01.11.2020).
- Verdu S, Vásquez F, Ivorra E, Sánchez A, Barat J, Grau R, 2017. Hyperspectral image control of the heat-treatment process of oat flour to model composite bread properties. *Journal of Food Engineering*, 192: 45-52.
- Xiao F, Zhang X, Niu M, Xiang X, Chang Y, Zhao Z, Xiong L, Zhao S, Rong J, Tang C, Wu Y, 2021. Gluten development and water distribution in bread dough influenced by bran components and glucose oxidase. *Lwt - Food Science and Technology*, 137: 110427.
- Xu A, Li L, Xie J, Wang X, Coulter JA, Liu C, Wang L, 2020. Effect of long-term nitrogen addition on wheat yield, nitrogen use efficiency, and residual soil nitrate in a semiarid area of the Loess Plateau of China. *Sustainability*, 12 (5): 1735.

Atf İçin: Erdemir E, Karaoğlu M.M, 2021. Et ve Et Ürünlerinin Tekstürel Özelliklerini Enstrümantal Olarak Tespit Etme Yöntemleri ve Tekstür Profil Analizi Üzerine Bir Derleme. İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2836-2848.

To Cite: Erdemir E, Karaoğlu M.M, 2021. A Review on Methods of Determining Textural Properties of Meat and Meat Products Instrumentally and Texture Profile Analysis. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2836-2848.

Et ve Et Ürünlerinin Tekstürel Özelliklerini Enstrümantal Olarak Tespit Etme Yöntemleri ve Tekstür Profil Analizi Üzerine Bir Derleme

Ebru ERDEMİR^{1*}, Mehmet Murat KARAOĞLU²

ÖZET: Gıdalarda tekstür, dokunsal duyu başta olmak üzere vücudun bazı kısımları ile gıda arasındaki fiziksel temas sonucunda verilen tepkidir. Tekstür, et ve et ürünlerinin seçimi ve tüketilmesi sürecinde en önemli kalite özelliklerinden biridir. Çiğ, işlenmiş ve tüketime hazır et ürünlerinin tekstür değerlendirmesi ürün kalitesini kontrol etmek, tasarım ve optimizasyon süreçlerini belirlemek ve istenen son ürün tekstürünü elde etmek için oldukça önemlidir. Et ürünlerinin tekstürü büyük ölçüde myofibriler proteinin jelleşme özelliklerine bağlıdır. Yüksek basınç ve sıcaklık uygulamaları, tuzlama, kurutma gibi işleme yöntemleri de et ve et ürünlerinin tekstürünü etkilemektedir. Et ürünlerinin tekstürünü geliştirmek için tuz, fosfatlar ve/veya alkalin ve/veya hidrokolloidler (zamklar, dekstroz ve/veya karragenanlar) kullanılmaktadır. Tekstürün değerlendirilmesi, ürün yüzeyinin görsel algılanması, farklı etkilere yanıt olarak ürün davranışı, çiğneme ve özellikle yutma sırasında algılanan ağız içi duyu entegrasyonunu içeren dinamik ve karmaşık bir süreçtir. Kesme (shear), delme (penetration), gerilim ve gevşeme (stress-relaxation), tekstür profil analizi (TPA), ekstrüzyon (extrusion), germe ve bükme (tension and torsion) gibi enstrümantal testler formülasyonları optimize etmeye ve tüketici tarafından algılanacak duyu özellikleri (sertlik, çiğnenabilirlik vb.) tespit etmeye yardımcı olmaktadır. Birçok gıdanın tekstürel özelliklerini değerlendirmek için iyi bir yöntem olan TPA ile elde edilen kurveden sertlik (hardness/firmness), yapışkanlık (adhesiveness), elastikiyet (springiness), kırılabilirlik (fracturability), kohesivlik (cohesiveness), sakızimsilik (gumminess), çiğnenabilirlik (chewiness) ve anlık elastikiyet (resilience) gibi ürünün tüketim kalitesini önemli derecede etkileyen tekstürel özellikler belirlenebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Et, sucuk, pastırma, sosis-salam, kavurma, tekstür profil analizi

A Review on Methods of Determining Textural Properties of Meat and Meat Products Instrumentally and Texture Profile Analysis

ABSTRACT: Texture in foods is a reaction that results from physical contact between some parts of body, especially tactile senses, and food. Texture is one of the most important quality features in selection and consumption of meat and meat products. Texture evaluation of raw, processed and ready-to-eat meat products is very important for controlling product quality, determining the design and optimization processes and obtaining the desired final product texture. The texture of meat products largely depends on gelling properties of myofibril protein. High pressure and temperature applications, processing methods such as salting, drying also affect the texture of meat and meat products. Salt, phosphates and / or alkaline and / or hydrocolloids (gums, dextrose and / or carrageenan) are used to improve the texture of meat products. The evaluation of the texture is a dynamic and complex process that includes the visual perception of product surface, the product behavior in response to different effects, the integration of the intra-oral senses perceived during chewing and especially swallowing. Instrumental tests such as shear, penetration, stress-relaxation, texture profile analysis (TPA), extrusion, tension and torsion are used to optimize formulations and to determine the sensory properties (hardness, chewiness etc.) to be perceived by consumer. TPA is a good tool to assess textural properties of food. TPA parameters are hardness, adhesiveness, springiness, fracturability, cohesiveness, gumminess, chewiness and resilience etc. textural properties that significantly affect consumption quality of product.

Keywords: Meat, sucuk, pastırma, sausage, salami, kavurma, texture profile analysis

¹ Ebru ERDEMİR ([Orcid ID: 0000-0001-5001-8151](https://orcid.org/0000-0001-5001-8151)), Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ağrı, Türkiye

² Mehmet Murat KARAOĞLU ([Orcid ID: 0000-0002-9919-8824](https://orcid.org/0000-0002-9919-8824)), Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Ebru ERDEMİR, e-mail: eerdemir@agri.edu.tr

Eğer varsa kongre beyanı veya Tez alıntısı: Derleme 23-25 Ekim 2018 tarihinde Antalya’da düzenlenen 13th International Conference of Food Physicists (ICFP 2018) kongresinde sözlü olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Görünüş, lezzet, tekstür ve besin içeriği gıdalarda tüketim kalitesini etkileyen en önemli faktörlerdir. Tekstür genel anlamda, bir ürünün dokunsal, görsel ve işitsel reseptörler vasıtası ile algılanabilen, her türlü mekanik, geometrik ve yüzey özellikleri olarak tanımlanırken, gıda tekstürü, öncelikle dokunsal duyular ile gıda arasındaki fiziksel temastan kaynaklanan etkiye karşı gıdanın verdiği tepkidir. Dokunma (dokunsal duyu) tekstürü hissetmek için ilk yöntemdir. Ancak kinestetik (hareket ve konum hissi) ve bazen görme (çökme derecesi, akış hızı) ve ses (keskin, gevrek ve çatlak dokularla ilişkili) de tekstürü değerlendirmek için kullanılabilir (Ertuş ve Doğruer, 2010).

Gıdanın genel kabul edilebilirliğinde tekstürün önemi gıdanın tipine bağlı olarak önemli derecede değişim göstermektedir. Bu bağlamda tekstürü besinlerdeki önem derecesine göre; kritik, önemli ve önemsiz olmak üzere üç kategoriye ayırmak mümkündür. Tekstürün kritik derecede önemli olduğu et, mısır gevreği ve patates cipsi gibi gıdalarda tekstür son derece baskın bir kalite karakteristiğidir. İkinci grupta yer alan meyve ve sebzeler, peynirler, şekerlemeler, sucuk, pastırma ve ekmek gibi gıdalarda tekstür önemli olmakla birlikte toplam kalite üzerine etkisi birinci kategorideki kadar değildir. Tekstürün çok az önemli olduğu içecekler ve sulu çorbalar gibi gıdalarda ise tekstür toplam kaliteye çok az etki etmektedir. Ayrıca, berrak meşrubat ve içeceklerde genel kalite üzerine tekstürün etkisi bulunmamaktadır (Bourne, 2002; Ertuş ve Doğruer, 2010).

Yiyeceklerin duyuşal olarak kabul edilebilirliği tüketici tercihi açısından son derece önemlidir. Görünüş, lezzet ve tekstür doğrudan duyular tarafından algılandığı için "duyuşal kabul edilebilirlik faktörleri" olarak adlandırılmaktadır (Bourne, 2002).

Tekstürün değerlendirilmesi, ürün yüzeyinin görsel algılanmasını, uygulanan etkiye karşı ürün davranışını, çiğneme ve özellikle yutma sırasında ağız içinde algılanan duyuşal özellikleri içeren dinamik ve karmaşık bir süreçtir (Wilkinson ve ark., 2000; Ertuş ve Doğruer, 2010; Conroy ve ark., 2017). Gıdaların tekstürü duyuşal veya enstrümantal olarak test edilebilmektedir. Duyuşal yöntemler eğitilmiş panelistler gerektirir ve sonuçların çoğaltılması zordur. Enstrümantal yöntemler ise daha ekonomiktir ve duyuşal analizden daha kısa sürede gerçekleştirilir. Kesme-delme, gerilim-gevşeme, ekstrüzyon, eğme, germe, bükme ve TPA gibi testler formülasyonları optimize etmeye ve tüketicinin algılayacağı duyuşal özellikleri tespit etmeye yardımcı olmaktadır (Bourne, 2002; Barbut, 2015).

Kesme ve delme testleri daha çok bütün bir kas ürününün sertliğini veya çeşitli et proteinleri ile yapılan bir jeli değerlendirmek için kullanılmaktadır. Kesme testinde örneği kesmek için bir bıçak kullanılırken delme testinde örneğin yapısına göre değişmekle birlikte genelde küçük çaplı silindirik bir prob kullanılmaktadır. Elde edilen değerler çoğunlukla duyuşal analiz ile ilişkilendirilmekte ve daha zor kesilen etin kesme/delme değeri daha yüksek çıkmaktadır (Barbut, 2015).

Gerilim-gevşeme testlerinde sabit bir germe uygulanmakta ve deformasyonu sağlamak için gerekli olan gerilme, zamanın bir fonksiyonu olarak ölçülmektedir (Del Nobile ve ark., 2007). Gerilim-gevşeme testleri Bellido ve Hatcher (2009) tarafından yumuşak katı gıdaların ve diğer biyolojik malzemelerin viskoelastik özelliklerini karakterize eden popüler, mekanik bir test olarak tanımlanmıştır.

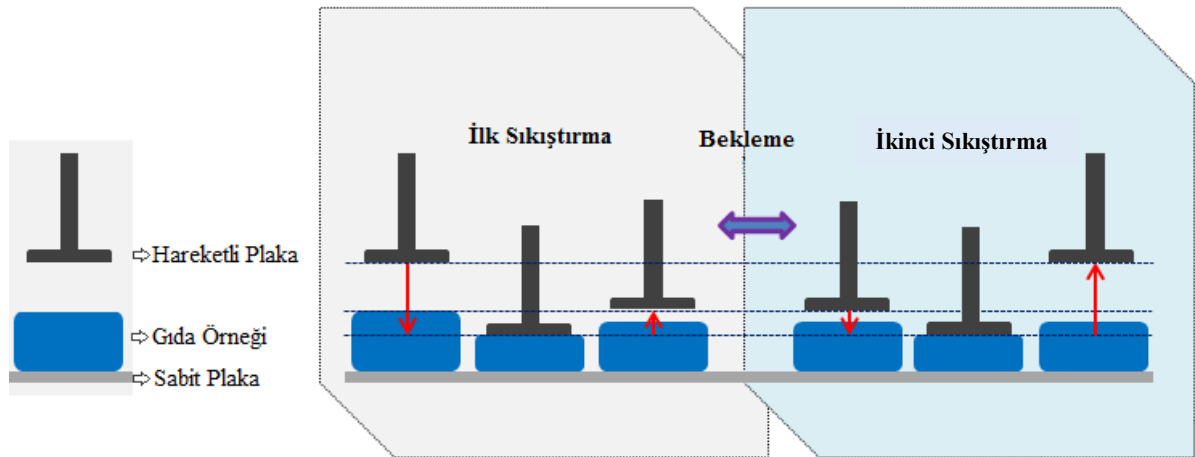
Ekstrüzyon, belli bir viskoz yapıya sahip gıdaların dar bir aralıktan geçmeye zorlanmasıdır. Ekstrüzyon testleri belirli bir aralıktan gıdanın akışını sağlamak için uygulanan (gerekli) kuvvetin ölçümü esasına dayanmaktadır. Bu testte, gıdanın yapısı bozuluncaya kadar sıkıştırılıp ve belli bir aralıktan geçmeye zorlanarak elde edilen kuvvet-zaman grafiğinden gıdanın reolojik özellikleri belirlenmektedir. Tekstür analiz cihazlarında ekstrüzyon testi ileri ve geri ekstrüzyon olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. İleri ekstrüzyon testinde incelenen numune pistonla aynı yönde hareket ederken geri ekstrüzyon testinde bunun tersi gerçekleşmektedir. Ekstrüzyon testleri genel olarak

gıdaların hem viskozite hem de sertlik, konsistens ve kohesivlik gibi tekstürel özelliklerini belirlemede kullanılmaktadır. İleri ve geri ekstrüzyon testleri yoğurtlar, kozmetik kremler, yumuşak jeller, soslar ve yağlama maddeleri gibi viskoz akışkanların akış özelliklerini belirlemek için kullanılmaktadır (Bourne, 2002; Chu, 2014).

Ürünü deforme edici özellik taşıyan germe ve bükme testleri mühendislikte malzemelerin mukavemeti hakkında temel tasarım bilgilerini sağlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Germe testinde numuneye, uçlarından birinin sabit diğerinin ise pnömatik bir pistonla tutturulmasıyla iki zıt kuvvet ve belirli bir mesafede tek eksenli bir germe hızı uygulanmaktadır. Analiz esnasında kuvvet, cihazın yük hücresi tarafından kaydedilerek numunenin gösterdiği direncin zamana veya uzama mesafesine karşı grafiği elde edilmektedir. Çiğneme sırasında azı dişleri arasında germe değil sıkıştırma işlemi meydana geldiği için germe testi gıdalarda yaygın olarak kullanılmamaktadır (Bourne, 2002). Bükme testinde numunenin bir bölümünü diğer parçalara göre bir eksen etrafında döndüren veya bükme bir kuvvet uygulanmaktadır (Bourne, 2002).

TPA testi, tekstürel özellikler de dahil olmak üzere reolojik davranışı belirlemek için en sık kullanılan enstrümantal yöntemlerden birisidir. Gıdaların tekstürel özelliklerini değerlendirmek için iyi bir yöntem olan TPA duyuşal değerlendirme parametreleriyle daha tatmin edici bir düzeyde ilişkili olduğu görülen bir dizi tekstürel parametre sağlamaktadır. TPA testi sonucu elde edilen kurveden sertlik, yapışkanlık, elastikiyet, kırılgnalık, kohesivlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik ve anlık elastikiyet gibi önemli tekstür parametreleri hesaplanmaktadır (Bourne, 2002; Barbut, 2015).

TPA testinin uygulama prensibi Şekil 1.'de gösterilmektedir. Bu testte, standart boyut ve şekilde alınan gıda örneği aynı yönde olmak koşulu ile alet tabanına yerleştirilmekte ve örnek tahrip sistemine bağlı bir plaka ile iki kez sıkıştırılmaktadır. Test esnasında dişlerin çiğneme etkisini taklit etmek için örneğin yapısı da göz önünde bulundurularak örneğin temel yapısı bozulmayacak şekilde uygun bir sıkıştırma yapılması gerekmektedir. Bu sıkıştırma oranı salam gibi esnek ürünlerde %50'lere kadar çıkarken yapısı daha hassas olan ürünlerde %10'a kadar düşebilmektedir.



Şekil 1. Tekstür profil analiz testi için gerekli iki sıkıştırmanın şematik diyagramı (Anonim, 2021)

Sertlik (Hardness/firmness): İlk sıkıştırma kurvesinden tespit edilen 'sertlik' numuneyi belli bir düzeye kadar deforme etmek için gereken kuvvet veya ilk sıkıştırma için gereken maksimum kuvvet olarak tanımlanmaktadır (Bourne, 2002; Chang ve ark., 2011) (Şekil 2).

Kırılgnalık (Fracturability): İlk sıkıştırmada kurvedeki önemli bozulmaya neden olan kuvvet 'kırılgnalık' olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2). Kırılgnalık değeri verilecek bir gıdanın viskozite değeri verilemez. Viskozite, kırılabilirliği olmayan sıvı gıdaları ifade etmektedir (Bourne, 2002).

Kohesivlik (Cohesiveness): Birinci ve ikinci sıkıştırmaların ($A2/A1$) altındaki pozitif kuvvet alanlarının oranı ‘kohesivlik’ olarak hesaplanmaktadır. Gıdanın içyapısını şekillendiren iç bağların mukavemeti/esnekliği olarak veya gıdanın içyapısının parçalanmasının zorluk derecesinin bir ölçüsü ‘kohesivlik’ olarak tanımlanmaktadır (Bourne, 2002; Chang ve ark., 2011).

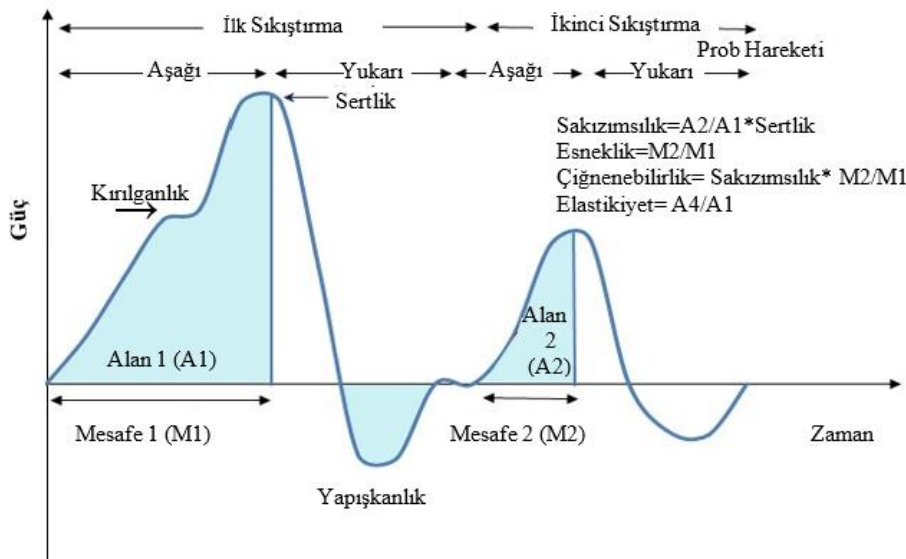
Yapışkanlık (Adhesiveness): Birinci ısırığın ($A3$) negatif kuvvet alanı, sıkıştırma pistonunu numuneden uzaklaştırmak için gerekli işi temsil etmekte ve ‘yapışkanlık’ olarak adlandırılmaktadır. Gıda yüzeyi ile temas halinde olan dil, diş ve damak gibi yüzeyler arasındaki çekim kuvvetlerine karşı koymak için gereken kuvvet ‘yapışkanlık’ olarak ifade edilmektedir (Bourne, 2002; Chang ve ark., 2011).

Elastikiyet (Springiness): İkinci sıkıştırmada örneğin mesafesinin (Mesafe 2: $M2$) orjinal yani ilk sıkıştırma mesafesine (Mesafe 1: $M1$) bölünmesi ($M2/M1$) ile hesaplanır. Elastikiyet sıkıştırma sonrası numune dokusunun yeniden yapılanma kapasitesini yansıtmakla birlikte örneğin orijinal haline dönebilme yeteneğinin bir göstergesidir (Bourne, 2002; Chang ve ark., 2011).

Sakızımsılık (Gumminess): Yarı katı gıdaları yutmaya hazır hale getirmek için gerekli olan parçalama enerjisi ‘sakızımsılık’ olarak tanımlanmaktadır. TPA testinde ölçülen birincil parametrelerden sertlik ve kohesivlik çarpımından elde edilen ikincil bir parametredir (Bourne, 2002).

Çiğnenebilirlik (Chewiness): Sakızımsılık ile elastikiyet veya sertlik, kohesivlik ve elastikiyet çarpımlarından hesaplanan bir diğer ikincil parametredir. Çiğnenebilirlik katı bir gıdayı yutmaya hazır hale getirmek için gerekli çiğneme enerjisi olarak tanımlanmaktadır (Bourne, 2002). Szczesniak (1996) çiğnenebilirliğin katı gıdalar için, sakızımsılığın ise yarı katı gıdalar için uygun parametreler olduğunu belirtmekte ve çalışmasında genellikle sakızımsılık ve çiğnenebilirliğin aynı gıda için verilemeyeceğine dikkat çekmektedir.

Anlık elastikiyet (Resilience): İlk sıkıştırma döngüsündeki kuvvet pikinin maksimum yüksekliği sonrası oluşan alanın ($A4$) birinci sıkıştırma altındaki pozitif kuvvet alanına ($A1$) oranı olarak hesaplanmaktadır ($A4/A1$) (Epstein ve ark., 2002).



Şekil 2. Tipik bir TPA kurvesi (Bourne, 2002; Epstein ve ark., 2002)

TPA analizinde test şartları ile örnek boyutları ve cihaza yerleştirme yönü son derece önem arz etmektedir. Mittal ve ark. (1992) et örneklerini değerlendirmek için kullanılan test parametrelerini (sertlik, kohesivlik, anlık elastikiyet, sakızımsılık, çiğnenebilirlik) incelemiş ve farklı test parametrelerinin farklı laboratuvarlardan elde edilen sonuçlarının karşılaştırmayı zorlaştırdığını ifade

etmişlerdir. Araştırmacılar, örnek uzunluğu veya yüksekliğinin (L) 10-20 mm arasında ve çapın (D) 13-73 mm arasında ve “D/L” oranının 1-4 arasında, sıkıştırma oranının %50-85 arasında ve sıkıştırma hızının 5-200 mm dakika⁻¹ arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Yazarlar, sıkıştırma oranının artırılmasının elastikiyet, kohesivlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirliği azalttığını bildirmişlerdir. Araştırmada, analiz edilen tüm örneklerin TPA parametrelerinin “D/L” ve sıkıştırma oranı tarafından etkilendiği belirlenmiş, et ürünlerinin örnek boyutları, deformasyon seviyesi ve uygulanma oranı farklı olan testler sonucunda elde edilen TPA parametrelerinin karşılaştırılmayacağı ifade edilmiş ve “D/L” oranı 1.5, sıkıştırma %75 ve sıkıştırma oranı 1-2 cm dakika⁻¹ olarak önerilmiştir.

Çizelge 1. TPA Parametrelerinin Boyut Analizi (Bourne, 2002)

Mekanik Parametreler	Ölçülen Değişken	Ölçülen Değişkenin Boyutları
Sertlik (Hardness/firmness)	Güç	N
Kohesivlik (Cohesiveness)	Oran	Boyutsuz
Elastikiyet (Springiness)	Oran	Boyutsuz
Yapışkanlık (Adhesiveness)	İş	Ns
Kırılabilirlik (Fracturability)	Güç	N
Sakızimsılık (Gumminess)	İş	N
Çiğnenebilirlik (Chewiness)	İş	N
Anlık Elastikiyet (Resilience)	Oran	Boyutsuz

Et ve Et Ürünlerinde TPA Analizi

TPA analizi ve elde edilen parametreler et ve et ürünlerinin seçiminde ve tüketilmesinde en önemli kalite özellikleri (renk, lezzet, yumuşaklık, sululuk vb.) arasında yer almaktadır (Mittal ve ark., 1992; Bekhit ve ark., 2014; Akköse ve ark., 2018). Çiğ etin ve tamamen hazırlanmış et ürünlerinin tekstür değerlendirmesi; ürün kalitesini kontrol etmek, tasarım ve optimizasyon süreçleri ve belirli tekstür özelliklerine ulaşmak için malzeme seçiminde çok önemlidir (Barbut, 2015). Et ve et ürünlerinin yapısal özellikleri ürün bileşiminden, yüksek basınç ve sıcaklık uygulamalarından ve tuzlama, kurutma gibi işlem yöntemlerinden etkilenmektedir.

Taze Et

Etin kalitesini etkileyen ana reaksiyonlar/faktörler arasında glikojen yıkımı, rigor-mortis, glikoliz, proteoliz, oksidasyon ve lipoliz bulunmaktadır. Son pH ve yağ asidi kalitesi, tartışmasız, etin yeme kalitesini etkileyen en önemli faktörlerdendir. Bunlar, sığırların kesim öncesi ve sonrası işlemlerinden etkilenmektedir. Etin tüketim kalitesini etkileyen en önemli özellikleri tekstürel yapı, lezzet ve renktir. Etin yeme kalitesini iyileştirmek için gerekli stratejiler arasında kesim öncesi hayvanların vücut durumunun iyileştirilmesi, kesim öncesi stresin azaltılması, etin olgunlaşması ve uygun beslenme yönetimlerinin geliştirilmesi sayılmaktadır (Muchenje ve ark., 2009; Conroy ve ark., 2017).

Etin tekstürü, özellikle yumuşaklığı ve sululuğu, müşterilerin kabulünü, fiyatını ve işleneceği ürünü belirlemektedir (Bourne, 2002; Bekhit ve ark., 2014; Barbut, 2015). Sert veya kuru olan et ya düşük fiyata satılmakta ya da kıyma veya çeşitli sosis türlerine eklenmektedir. Yumuşak sığır eti ise daha yüksek bir fiyata, genellikle rosto ve biftek şeklinde satılmaktadır. Etin yumuşaklığını kas liflerinin yapısı, kas liflerindeki değişimler, bağ dokusunun tipi ve miktarı, kasın su içeriği ve kas dokusundaki yağ miktarı ve dağılımı etkilemektedir. Genç hayvanlarda kas lifleri yaşlılarınkinden daha incedir. Bu durum genç hayvanların etlerinin daha yumuşak olmasını sağlamaktadır (Bourne, 2002; Barbut, 2015).

Et ürünlerine uygulanan işlemler hem ürünün genel bileşiminde hem de ürünün bileşimini oluşturan bileşenler üzerinde önemli etkilere sahip olabilmektedirler. Bu işlemlerin bir sonucu olarak özellikle etin su içeriğinde ve et proteinlerinde önemli değişimler meydana gelmektedir. Isıl işlemin et

tekstürü üzerindeki etkisi esas olarak miyofibriler proteinlerin denatürasyonu ve ayrışmasından, et liflerinin enine ve boyuna çekilmesinden, sarkoplazmik proteinlerin agregasyonu ve jel oluşumundan ve bağ dokusu kollajenin çözünmesinden kaynaklanmaktadır (Kong ve ark., 2008; Chang ve ark., 2011).

Chang ve ark. (2011) sığır *Semitenndinosus* (ST) kasının ısı ile indüklenen kas içi bağ dokusu ve kollajen değişikliklerinin et tekstür özellikleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. ST kasları su banyosunda ve mikrodalga fırında sırasıyla 40 °C ile 90 °C çekirdek sıcaklıklarına ulaştırılmıştır. Araştırmada, ısı işlem görmüş etin TPA parametrelerinin ısı işlemi şekli ve çalışılan sıcaklıklar tarafından önemli oranda etkilendiği belirlenmiştir. Mikrodalga fırında ısı işlem gören etlerin su banyosundaki etlere göre 65 °C'den sonraki sıcaklıklarda daha sert ve 70°C'den sonraki sıcaklıklarda ise daha az esnek olduğu bulunmuştur. Araştırmada, etin esnekliğinin muhtemelen liflerin şişmesi ve dolayısıyla çapı ile alakalı olduğu ve ısı işlem sırasında elastikiyette meydana gelen esas değişikliğin yaklaşık 65 °C'de intramuskular kollajenin termal büzülmesi/küçülmesi ile ilgili olduğu ifade edilmiştir.

Tabilo ve ark. (1999) tarafından, dişi domuz etlerindeki nem içeriğinin erkek domuzlarınkinden daha yüksek olması nedeniyle dişi domuz etinden üretilen kuru kürlenmiş jambonların sertliğinin daha düşük olduğu ve diğer TPA parametrelerinde ise iki grup (dişi ve erkek domuz etleri) arasında önemli bir farklılık olmadığını ifade edilmiştir. Araştırmacılar, PSE (Pale, Soft, Exudative; Soluk-Yumuşak-Sulu) etlerden üretilen jambonların sertlik, elastikiyet, kohesivlik ve çiğnenebilirlik değerlerinin RFN (Red, Firm, Nonexudative; Kırmızımsı-Sert-Sulu olmayan) etlerden üretilen jambonlarınkinden önemli derecede düşük olduğunu bulmuşlardır.

Conroy ve ark. (2017) çalışmalarında 4 °C'de 2, 7 ve 21 gün olgunlaştırdıkları sığır *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) kasının sertlik değerlerini sırası ile ortalama 140 N, 122 N ve 99 N olarak tespit etmişlerdir. Sonuçlardan görüldüğü gibi olgunlaşma arttıkça sertlikte önemli oranlarda azalma meydana gelmiştir. Araştırmacılar, 21 günlük olgunlaştırma sonunda çiğnenebilirlik değerinin ortalama 58 N'den 37 N'e düştüğünü bulmuşlardır. Bazı araştırmacılar, olgunlaştırma sırasında etlerin sertliğinin azalmasının/yumuşamasının büyük oranda miyofibriler proteinlerin proteolizindeki artıştan ve kas bütünlüğünün değişmesinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir (Ruiz-Ramirez ve ark., 2006; Wang ve ark., 2018).

Sucuk

Sucuk vb. ürünler kıyılmış et ve yağın, tuzun, şekerin, çeşitli baharatların ve çok az miktardaki diğer katkı maddelerinin karıştırılıp, doğal ve yapay kılıflara doldurulup belli sıcaklıkta, nispi rutubette, hava cereyanında ve sürede olgunlaştırılması ile elde edilen fermente, kuru et ürünleridir (Gökalp ve ark., 2010). Bazı araştırmacılar, ürünün TPA değerleri üzerinde ürün formülasyonunun (özellikle kullanılan yağın sucuğun yapışkanlığını ve sertliğini önemli oranda etkilediğinin), artan mikrobiyolojik aktivitenin, starter kültür kullanımının, pH'nın proteinlerin izoelektrik pH (5.2-5.3) değerine düşmesinin ve protein yapısında medyana gelen degradasyonun, su kaybının, işleme aşamalarının ve depolama sıcaklığının ve süresinin etkili olabileceğini ifade etmişlerdir (Gimeno ve ark., 2000; Gök, 2006; Ergönül, 2009; Gökalp ve ark., 2010; Demirel ve Gurler, 2018).

Sucuğun dilimlenebilir bir kıvamda veya tekstürde olması gerekmektedir. Üreticiler, sucukların iyi bir tekstüre erişip erişmediğini parmakları arasında bastırarak, sıkarak veya keskin bir bıçak ile sert bir zemin üzerinde dilimleyerek belirlemektedirler. Ancak bu uygulamalar oldukça tecrübe gerektirmektedir. Bunun yanı sıra sucuğun tekstürü, tekstür analiz cihazları ile objektif olarak belirlenebilmektedir (Gökalp ve ark., 2010).

Demirel ve Gurler (2018) araştırmalarında TPA'da sertlik, kohesivlik ve anlık elastikiyet değerlerinin sucuk üretiminde kullanılan mikroorganizmalar (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus*

sake, *Lactobacillus curvatus* ve *Staphylococcus xylosus*) tarafından önemli derecede etkilendiğini belirlemişlerdir. Çalışmada üretimi yapılan sucuk gruplarının sertlik değerleri 2519 - 3391 g arasında tespit edilmiş ancak grupların yapışkanlık, elastikiyet ve çignenebilirlik değerlerinde önemli bir fark bulunmamıştır. En yüksek sertlik değeri kontrol grubu sucuklarında belirlenirken en yüksek kohesivlik ve anlık elastikiyet değerleri *L. plantarum*, *L. sake* ve *S. xylosus* ilave edilen sucuklarda belirlenmiştir. Bazı çalışmalarda, laktik asit bakterilerinin et hamurunu asitleştirerek kas proteinlerinin pıhtılaşmasına neden olduğunu ve işleme sırasında eksopolisakkaritler oluşturarak tekstürel değişikliklere katkıda bulunduğunu gösterilmiştir (Laranjo ve ark., 2017; Velasco ve ark., 2021).

Yapılan bir çalışmada sucuğa probiyotik karakter kazandırmak amacıyla *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus acidophilus* probiyotik kültürleri ayrı ayrı ve karışım olarak sucuk starter kültürüne ek olarak kullanılmış ve üç farklı grup hindi sucuğu üretilerek 8 ay boyunca 4±1 °C'de depolanmıştır. Araştırmacı, 0., 2. ve 4. aylarda sertlik değerleri arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığını ancak 6. ve 8. aylarda sertliğin önemli ölçüde arttığını belirlemiştir. Sucuk örneklerinin sertlik değerlerindeki bu artışın depolama sırasında nem kaybına bağlı olarak meydana gelen kuruma olduğunun düşünüldüğü ifade edilmiştir. Çignenebilirlik ve sakızimsılık değeri gıdanın sertliği ile yakından ilgili olan özelliklerdir. Çignenebilirlik değerindeki artışın tüketici tercihini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiş ve sakızimsılık değerlerindeki artışın sebebinin sertlik değerlerinde meydana gelen artışın yansıması olabileceği rapor edilmiştir (Ergönül, 2009).

Araştırmacılar, geleneksel olarak kuru fermente edilmiş Türk sucuklarından izole edilen maya kültürlerinin (*Candida zeylanoides* ve *Debaryomyces hansenii*) ürünün bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında maya kültürlerinin kullanımının, yapışkanlık değerlerini artırırken, sucukta sertlik, sakızimsılık ve çignenebilirlik değerlerini düşürdüğünü belirlemişlerdir. Çalışmada, bu sonucun sucuk numunelerinin düşük pH değerinden ve daha fazla nem kaybından kaynaklanıyor olabileceği rapor edilmiştir (Ozturk ve ark. 2021). Bazı araştırmacılar mikrobiyal gelişmenin, olgunlaşma sırasında sosilerin pH seviyesini düşürerek sosinin kurummasına ve et proteinlerinin denatürasyon ve jelleşme özelliklerine yol açtığını ifade etmişlerdir. Bu durumun sucuğun sertlik değerini etkilediğini ve aynı zamanda sucukta daha düşük nem seviyesinin yapışkanlık değerini düşürerek ürünün kesme kabiliyetini geliştirdiğini tespit etmişlerdir (Bozkurt ve Bayram, 2006; Ozturk ve ark., 2021).

Gök (2006) biberiyeli, biberiye ekstraktlı ve α -tokoferollü Türk sucuklarının bazı kalite özelliklerini araştırdığı çalışmada sucuk örneklerinin sertlik değerlerinin fermantasyon ve kurutma sürecinin hemen sonunda 3.5 kg ile 3.7 kg arasında değişim gösterdiğini belirlemiş, sucuk örneklerinin sertlik değerlerinin soğuk koşullarda (10 °C) gerçekleştirilen depolama süresince (90 gün) giderek yükseldiğini belirlemiştir. 90 günün sonunda sucuk örneklerinin sertlik değerlerinin 12.8 kg ile 13.1 kg arasında değiştiğini saptamıştır. Araştırmacı, sucukların sertlik değerlerindeki bu artışın, depolama süresince meydana gelen nem kaybına bağlı olduğunu ifade etmiştir.

Yalınkılıç ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, farklı oranlarda portakal lifi (%0, %2 ve %4) ve yağ (%10, %15 ve %20; koyun kuyruk yağı) kullanılarak üretilen sucukların, olgunlaştırma süresince, tekstürel parametreleri incelenmiştir. Portakal lifi kullanımı tüm gruplarda sertlik, çignenebilirlik, sakızimsılık ve elastikiyet parametrelerini önemli seviyede etkilemiştir. Sertlik değeri portakal lifi kullanım oranı arttıkça artmış ve portakal lifli örneklerde 211 - 295 N aralığında bulunmuştur. Yağdaki artış sertlik değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki göstermezken yapışkanlık, anlık elastikiyet, çignenebilirlik, sakızimsılık ve elastikiyet değerleri yağ seviyesinden etkilenmiştir. Araştırmada, olgunlaştırma süresi tüm tekstürel parametreler üzerinde en etkili faktör

olarak belirlenmiştir. Olgunlaştırma süresince örneklerin sertlik, yapışkanlık, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerinde sürekli bir artış gözlenirken, en yüksek artış sertlikte tespit edilmiştir. Sertlik değeri olgunlaştırmanın 1. gününde 55 N iken 9. gününde 404 N'a yükselmiştir.

Pastırma

Kuru, kürlenmiş, geleneksel bir et ürünü olan pastırma üretimi süresince önemli fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Pastırmanın tekstürel özellikleri ve bileşimi kürlenme, kurutma, baskılama ve çemenleme işlemlerinden etkilenmektedir (Aksu ve ark., 2016). Kürlenme pastırmada görünüm, renk, tekstür, tat, aroma ve lezzet gibi özellikleri geliştirmek için uygulanan bir işlemdir (Erdemir ve Aksu, 2017). Kas yapısal proteinlerinin proteolizi, kuru kürlenme sırasında gelişen etin yumuşamasından/gevrekleşmesinden sorumlu olan ana biyokimyasal mekanizmadır. Esas olarak bu proseste yer alan enzimler proteazlar (katepsinler B, D, H ve L ve daha az ölçüde kalpainler) (Toldra ve ark., 1993) ve ekzopeptidazlardır (peptidazlar ve aminopeptidazlar) (Toldra ve Flores, 1998). Belli bir düzeyde yumuşaklık ve gevreklik kurutulmuş et ürünleri için istenen bir özelliktir ancak aşırı derecede meydana gelen proteoliz, tekstürü ve tüketici kabul edilebilirliğini olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Pastırmada önemli bir özellik olan tekstürü değerlendirmek için başlıca sertlik, anlık elastikiyet ve çiğnenebilirlik parametreleri dikkate alınmaktadır. Birinci sınıf pastırmalar orta sertlikte, kolay çiğnenen ve ağızda kalıntı bırakmayan özellikteyken üçüncü sınıf pastırmalar ise çok sert ya da çok yumuşak olup güçlülükle çiğnenebilir özelliktedir (Tekinşen ve Doğruer, 2000; Ertaş ve Doğruer, 2010). TSE Pastırma Standardına (TS 1071) göre pastırma orta kıvamda olmalı, kolay kesilebilmeli, kesme sırasında bıçağa hafifçe direnç göstermeli, aşırı sert veya yumuşak olmamalıdır. Aynı standartta pastırmanın gevrekliği ise pastırma ağıza alındığında kolay çiğnenebilmeli, kolay yutulmalı ve ağızda artık bırakmamalıdır (Anonim, 2002).

Akköse ve ark. (2018) yürüttükleri çalışmalarında manda etinden sırt, bohça, kuşgözü, şekerpare ve kürek pastırma çeşitlerini üretmişlerdir. Araştırmada pastırma çeşidinin sertlik, çiğnenebilirlik, yapışkanlık ve kohesivlik değerleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu, elastikiyet değeri üzerinde ise önemli bir etkisi olmadığı bulunmuştur. Daha hızlı bir kurumanın gerçekleştiği kuşgözü çeşidinin sertlik ve çiğnenebilirlik değerlerinin diğer pastırma çeşitlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacıların kuşgözü, sırt, bohça, kürek ve şekerpare pastırma çeşitlerinde belirledikleri ortalama sertlik değerleri sırasıyla 64 N, 38 N, 32 N, 28 N ve 29 N'dir.

Ruiz-Ramirez ve ark. (2006) geleneksel kuru kürlenmiş jambonların sertlik, yapışkanlık ve elastikiyet değerlerinin daha yüksek proteoliz indeksine sahip jambonlarda, (özellikle en düşük nem içeriğinde) daha düşük sertlik ve daha yüksek kohesivlik ve elastikiyet gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, proteoliz indeksini, kuru kürlenmiş jambon kaslarının su içeriği ve doku parametreleri (sertlik, yapışkanlık ve yaylanma) arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan parametre olarak ifade etmişlerdir.

Hastaoglu ve Vural (2018) tarafından yapılan çalışmada, aynı kürlenme karışımında iki farklı tuz (NaCl-KCl) ve iki farklı kürlenme tekniği (doğal ve kontrollü şartlarda) kullanarak üretilen pastırmalarda NaCl yerine daha yüksek oranda KCl kullanılmasının, duyu analizi sonuçlarına göre, sertlik ve çiğnemeyi olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Araştırmacılar, kuru kürlenme tekniğinin tekstür parametrelerini etkilemediğini, hammaddede kohesivlik değerlerinin ortalama 0.2-0.4 arasında olduğunu ve ortalama kohesivlik değerlerinin hammaddeye göre son üründe arttığını, en düşük değerlerin ise sadece NaCl ile tuzlanan örneklerde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Sosis ve Salam

TS 980'de sosis, kasaplık büyükbaş ve küçükbaş hayvan gövde etlerinden hazırlanan sosis hamurunun uygun kılıflara doldurulması ve belli aralıklarla boğumlanarak dizi şekline sokulması, yöntemine göre dumanlanması ve haşlanması ile elde edilen et ürünü olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2016). TS 979'da salam ise büyükbaş ve küçükbaş hayvan gövde etlerinin veya bunların karışımlarının kemik, yağ, tendon, sinir ve kıkırdaklarından ayrılıp kıyıldıktan sonra, gerekli yardımcı maddelerin katılmasıyla hazırlanan et hamurunun, kılıflara doldurulması ve tiplerine uygun tarzda dumanlanıp, suda pişirilmesiyle yapılan et mamulü olarak ifade edilmektedir (Anonim, 2017).

Girard ve ark. (1990) tarafından yürütülen bir araştırmada sosislerin tekstürünün hamurun yapısına bağlı olduğu ve sosis yapımı sırasında sosisin içindeki havanın mevcudiyetinin, yayılmasının ve hamurun karıştırılması sırasında oluşan ısının tekstürü etkilediği belirtmiştir (Ertaş ve Doğruer, 2010). Araştırmacılar tuzun (NaCl) frankfurter tipi sosislerin sululuğunu, anlık elastikiyetini, sertliğini ve kohesivliği etkilediğini ifade etmişlerdir (Girard ve ark., 1990).

Li (2006) tarafından yapılan bir çalışmada derisi alınmış, kemikleri çıkarılmış tavuk etinden ekstrakte edilen miyofibriler proteinler (MP) ve standart tuz çözeltisi ile %6 MP'li tuzlu çözelti elde edilmiştir. Bu çözelti ve MP içermeyen tuzlu su, yerel bir işletmeden alınan tavukgöğüslerine ve domuz jambonlarına ağırlıklarının %20'sine kadar enjekte edilmiştir. 60 °C'de 1 saat torbalar içerisinde su banyosunda pişirilen örnekler, pişirme kaybı ve tekstürel özellikler bakımından değerlendirilmiştir. %6 MP içeren tavukgöğüslerin MP olmayanlardan daha yüksek ($P<0.05$) sertlik ve sakızimsılığa sahip olduğu, %6 MP'li domuz jambonlarının ise MP olmayanlara göre daha yüksek ($P<0.05$) sertlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bertola ve ark. (1994) başlıca proteinleri aktin ve miyosin olmakla birlikte birkaç proteinden oluşan miyofibriler proteinlerin etin toplam protein içeriğinin %60'ını oluşturduğunu ve ısıl işlem ile denature edilen miyofibriler proteinler ve etin tekstürel özellikleri arasında ilişki olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, artan aktin denaturasyonunun etin sertliğini artırdığını belirtmişlerdir.

Yuste ve ark. (1999) çalışmalarında sırasıyla %100, 75, 50, 25 ile %0 mekanik olarak ayrılmış kümes hayvanı eti ve %0, 25, 50, 75 ile %100 kıyılmış domuz eti içeren beş çeşit sosis üretmişlerdir. Sosislere 30 dakika süreyle 50, 60, 70 ve 75 °C'de 500 MPa basınç uygulanmış veya 75 °C'de 30 dakika boyunca pişirilmişlerdir. Basınç ile muamele edilen sosislerin daha esnek ve sert fakat daha kohesiv bir yapıya sahip olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, yüksek basıncın mekanik olarak geri kazanılmış kümes hayvanı eti ile üretilen pişmiş sosislere kabul edilebilir bir tekstür kazandırabileceğini bildirmişlerdir.

Bhuyan ve ark. (2018) tarafından yapılan araştırmada geleneksel dumanlama ve sıvı duman ile muamele edilmiş domuz sosislerinin besleyicilik, fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Kontrol sosislerin sertlik, kırılganlık, çiğnenebilirlik, kohesivlik, elastikiyet ve anlık elastikiyet değerleri sırasıyla ortalama 2.8 N/cm², 8.5 N, 0.9 N cm⁻¹, 0.5, 0.6 cm ve 0.2 cm olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, farklı tütsüleme muamelelerinin sosislerin TPA değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Akşit (2018) çalışmasında 3 farklı (ayva, greyfurt ve domates) posayı 4 farklı oranda (%0.5, %1, %2 ve %3) kullanarak piliç eti ile su içinde yağ emülsiyonları oluşturmuştur. Araştırmacı pişmiş emülsiyonların sertlik değerlerinin çiğ emülsiyonların sertlik değerlerinden yüksek olduğunu bulmuştur. Araştırmada, çiğ emülsiyonların sertlik değerinin 150-247 g arasında ve pişmiş emülsiyonların sertlik değerinin 241-519 g arasında olduğu belirlenmiştir.

Sisik ve ark. (2012) yaptıkları bir araştırmada koyun kuyruğu yağının yerine mısır yağı kullanarak ve farklı seviyelerde brokoli ilave ederek ürettikleri bologna tipi sosisleri 4 °C'de 90 gün

depolanmışlardır. %100 koyun kuyruğu yağı ile üretilen sosislerin sertlik değerleri ortalama 62 N olarak belirlenirken mısır yağı ile üretilen sosislerin ortalama sertlik değerleri 58 N olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerinin koyun kuyruğu yağlı örneklerde daha yüksekken kohesivlik ve elastikiyet değerlerinin mısır yağlı sosislerde daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. %0, %5 ve %10 oranlarında brokoli kullanılarak üretilen sosislerin sertlik değerleri ise sırasıyla 63 N, 61 N ve 56 N olarak tespit edilmiştir. Brokoli ilaveli sosislerin en yüksek sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerleri %0 brokolili grupta belirlenmiş ve brokoli ilavesinin kohesivlik ve elastikiyet değerlerini etkilemediği bildirilmiştir. Depolama süresince sosislerin sertlik değerlerinin genellikle arttığı ve depolama süresinin sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Depolama süresinin kohesivlik ve elastikiyet değerleri üzerindeki etkisinin ise istatistiksel olarak önemli olduğu rapor edilmiştir.

Araştırmacılar, sığır yağının yerine farklı oranlarda soğuk pres kabak çekirdeği yağı kullanarak ürettikleri bologna tipi sosislerin sertlik, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değerlerinin önemli ölçüde azaldığını, kohesivlik ve anlık elastikiyet değerlerinin ise arttığını tespit etmişlerdir. Araştırmada tespit edilen düşük sertlik değerlerinin kabak çekirdeği yağında bulunan tekli doymamış yağ asidi ile hayvansal yağ dokusunun daha sert ve katı bir yapıya sahip olmasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir (Uzlaşır ve ark., 2020).

Kavurma

Kavurma: Büyükbaş veya küçükbaş veya kanatlı hayvan karkas etlerinin kemiksiz olarak, boyutları 7 cm'yi geçmeyen parçalar halinde doğandıktan sonra belirli oranlarda tuz ve etin elde edildiği hayvan türüne ait iç yağları ile birlikte pişirilmesiyle hazırlanan ısı işlem uygulanmış et ürünüdür (Anonim, 2018).

Et ürünlerinin tekstürünü iyileştirmek için tuz, fosfatlar ve/veya alkali ve/veya hidrokolloidler (zamklar, dekstroz ve/veya karagenanlar) kullanılmaktadır (Ranken, 2000; Long, 2012). Çeşitli araştırmalarda, aşırı pişirmenin ve su kaybının etin sertleşmesine neden olduğu rapor edilmiştir (Yuste ve ark., 1999; Ertaş ve Doğruer, 2010; Chang ve ark., 2011).

Ozcan ve Bozkurt (2015) tarafından yapılan bir araştırmada atmosferik basınçta, basınçlı ortamda ve mikrodalgada pişirme yöntemlerinin ve farklı pişirme sürelerinin (10-50 dakika arasında) kavurma üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırmada, atmosferik basınçta ve basınçlı ortamda pişirme yöntemlerinin kullanıldığı kavurmaların, mikrodalga ile pişirme yöntemiyle elde edilen kavurmaya göre daha fazla arzu edilen kalite özelliklerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Mikrodalga ile pişirilmiş kavurmaların sertlik ve çiğneme değerlerinin atmosferik basınçta ve basınçlı ortamda pişirilmiş kavurmalarınkinden anlamlı derecede farklı olduğu bulunmuştur. Sertlik ve çiğnenebilirlik değerlerinin atmosferik basınçta ve mikrodalga ile pişirilen örneklerde pişirme süresince arttığı tespit edilmiştir. Mikrodalga ile pişirilen kavurmanın daha düşük nem içeriğine sahip olmasının yemeye hazır kavurmanın daha sert olmasına neden olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, pişirme süresinin basınçlı pişirme yönteminde kavurmaların sertlik ve çiğnenebilirlik değerleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir.

SONUÇ

Etin kalitesini etkileyen ana reaksiyonlar glikojen yıkımı, rigor-mortis, glikoliz, proteoliz, oksidasyon ve lipoliz olmakla birlikte etin tüketim kalitesini ve tüketici tercihi etkileyen en önemli özellikleri arasında tekstürel yapı, çiğnenebilirlik, yumuşaklık, sululuk, aroma, lezzet ve renk sayılmaktadır. Et ve et ürünlerinin tekstürel (dokusal) özellikleri yukarıda detaylıca açıklandığı üzere

ürün çeşidine, kullanılan formülasyona, ürünün fizikokimyasal özelliklerine, mikrobiyal floraya, uygulanan işlemlere ve sürelerine, ilave edilen maddelere ve oranlarına göre değişiklik gösterebilmektedir. Gıdalarda tekstürel özellikler, duyuşal ve objektif (aletsel) değerdendirmeler olmak üzere iki şekilde belirlenebilmektedir. Çok sayıda aletsel tekstür ölçüm testi olmasına rağmen, ağızda çiğneme işlemini taklit eden ve gıdanın tüketim kalitesini belirlemede oldukça etkili olan sertlik, yapışkanlık, elastikiyet, kırılğanlık, kohesivlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik gibi parametreleri veren TPA testi oldukça önemli bir yere sahiptir.

Sonuç olarak söyleyebiliriz ki et ürünlerinde formülasyon optimizasyonu, ürün geliştirme, ürünlerde kalitatif özelliklerin iyileştirilmesi ve proseslerde işlem şartlarının ürün kalitesine etkisini belirlemede TPA kullanımı büyük önem arz etmektedir. Tekstür analizlerinden biri olan TPA'nın önemi tüketicinin algılayacağı duyuşal özellikleri objektif olarak belirlemede ve değerdendirmede öne çıkmaktadır. Ayrıca duyuşal testlere göre bütün dünyada kıyaslanabilir daha sağlıklı bilimsel veriler elde edilebilmektedir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığı beyan olunur.

Yazar Katkısı

Yazarlarım makaleye eşit oranda katkı sağladığı beyan olunur.

KAYNAKLAR

- Akköse A, Kaban G, Karaoğlu M, Kaya M, 2018. Characteristics of Pastırma Types Produced From Water Buffalo Meat. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24: 179-185.
- Aksu MI, Erdemir E, Cakici N, 2016. Changes in The Physico-Chemical and Microbial Quality During The Production of Pastırma Cured with Different Levels of Sodium Nitrite. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36: 617-625.
- Akşit Z, 2018. Gıda Atıklarından Elde Edilen Bazı Bitkisel Posaların Emülsiyon Özellikleri Ve Sosis Üretiminde Kullanımı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Anonim, 2002. Et ve Et Ürünleri-Pastırma Standardı, TS 1071. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2016. Sosis, TS 980. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2017. Salam, TS 979. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2018. Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği. Tarım ve Orman Bakanlığı, Ankara.
- Anonim, 2021. http://www.horninstr.com.tw/eng_2/texture_analyzer/eq_design_0_3_e.html (Son Erişim Tarihi: 02.04.2021).
- Barbut S, 2015. Evaluating Texture and Sensory Attributes. *The Science of Poultry and Meat Processing*. Universty of Guelph, PhD Thesis (Printed).
- Bekhit AEA, Carne A, Ha M, Franks P, 2014. Physical Interventions to Manipulate Texture and Tenderness of Fresh Meat: A Review. *International Journal of Food Properties*, 17: 433-453.
- Bellido GG, Hatcher DW, 2009. Asian Noodles: Revisiting Peleg's Analysis for Presenting Stress Relaxation Data in Soft Solid Foods. *Journal of Food Engineering*, 92: 29-36.
- Bertola NC, Bevilacqua AE, Zaritzky NE, 1994. Heat Treatment Effect on Texture Changes and Thermal Denaturation of Proteins in Beef Muscle. *Journal of Food Processing and Preservation* 18 (1): 31-46.
- Bozkurt H, Bayram M, 2006. Colour and Textural Attributes of Sucuk During Ripening. *Meat Science*, 73: 344-350.
- Bhuyan D, Das A, Laskar SK, Bora DP, Tamuli S, Hazarika M, 2018. Effect of different Smoking Methods on The Quality of Pork Sausages. *Veterinary World*, 11: 1712-1719.

- Bourne MC, 2002. Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495, USA.
- Chang HJ, Wang QA, Xu XL, Li, CB, Huang M, Zhou GH, Dai Y, 2011. Effect of Heat-Induced Changes of Connective Tissue and Collagen on Meat Texture Properties of Beef Semitendinosus Muscle. *International Journal of Food Properties*, 14: 381-396.
- Chu J, 2014. Effect of Cultivar and Growth Region on The Mechanical and Biochemical Properties of Canned Baked Beans. The University of Leeds, Leeds, West Yorkshire, England.
- Conroy PM, O'Sullivan MG, Hamill RM, Kerry, JP, 2017. Sensory Capability of Young, Middle-Aged and Elderly Irish Assessors to Identify Beef Steaks of Varying Texture. *Meat Science*, 132: 125-130.
- Del Nobile MA., Chillo S, Mentana A, Baiano A, 2007. Use of The Generalized Maxwell Model for Describing The Stress Relaxation Behavior of Solid-Like Foods. *Journal of Food Engineering* 78: 978-983.
- Demirel YN, Gurler Z 2018. The Effect of Natural Microbiota on Colour, Texture and Sensory Properties of Sucuk During The Production. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 65: 137-143.
- Epstein J, Morris CF, Huber KC, 2002. Instrumental Texture of White Salted Noodles Prepared From Recombinant Inbred Lines of Wheat Differing in The Three Granule Bound Starch Synthase (Waxy) Genes. *Journal of Cereal Science*, 35: 51-63.
- Erdemir E, Aksu, MI, 2017. Changes In The Composition Of Free Amino Acid During Production Of Pastirma Cured With Different Levels of Sodium Nitrite. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41.
- Ergönül B, 2009. Farklı Probiyotik Kültürler Kullanılarak Hindi Sucuğu Üretimi ve Kalite Üzerine Etkileri, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Ertaş N, Doğruer Y 2010. Besinlerde Tekstür. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi*, 7: 35-42.
- Gimeno O, Ansorena D, Astiasaran I, and Bello J, 2000. Characterization of Chorizo De Pamplona: Instrumental Measurements of Colour and Texture. *Food Chemistry*, 69: 195-200.
- Girard JP, Culioli J, Maillard T, Denoyer C, Touraille C, 1990. Influence of Technological Parameters on The Structure of The Batter and The Texture of Frankfurter Type Sausages. *Meat Science*, 27: 13-28.
- Gök V, 2006. Antioksidan Kullanımının Fermente Sucukların Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (Basılmış).
- Gökalg HY, Kaya M, Zorba Ö, 2010. Et ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları No: 786, Erzurum-Türkiye.
- Hastaoglu E, Vural H, 2018. New Approaches to Production of Turkish-type Dry-cured Meat Product "Pastirma": Salt Reduction and Different Drying Techniques. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38: 224-239.
- Kong FB, Tang J, Lin MS, Rasco B, 2008. Thermal effects on Chicken and Salmon Muscles: Tenderness, Cook Loss, Area Shrinkage, Collagen Solubility and Microstructure. *Lwt-Food Science and Technology*, 41: 1210-1222.
- Li CT, 2006. Myofibrillar Protein Extracts From Spent Hen Meat to Improve Whole Muscle Processed Meats. *Meat Science*, 72: 581-583.
- Long NHBS, 2012. The Effects of Selected Phosphate Salts and Hydrocolloids on The Textural Properties of Meat Products, Tomas Bata University in Zlín.
- Laranjo M, Elias M, Fraqueza MJ, 2017. The Use of Starter Cultures in Traditional Meat Products. *Journal of Food Quality*, 2017, 1-18.
- Mittal GS, Nadulski R, Barbut S, Neg SC, 1992. Textural Profile Analysis Test Conditions for Meat-Products. *Food Research International*, 25: 411-417.
- Muchenje V, Dzama K, Chimonyo M, Strydom, PE., Hugo A, Raats JG, 2009. Some Biochemical Aspects Pertaining to Beef Eating Quality and Consumer Health: A Review. *Food Chemistry*, 112: 279-289.
- Ozcan AU, Bozkurt H, 2015. Physical and Chemical Attributes of a Ready-to-Eat Meat Product during The Processing: Effects of Different Cooking Methods. *International Journal of Food Properties*, 18: 2422-2432.

- Ozturk I, Sagdic O, Yetim H, 2021. Effects of Autochthonous Yeast Cultures on Some Quality Characteristics of Traditional Turkish Fermented Sausage “Sucuk”. *Food Science of Animal Resources*, 41 (2): 196-213.
- Ranken MD 2000. *Handbook of Meat Product Technology*, Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.
- Ruiz-Ramirez J, Arnau J, Serra X, Gou P, 2006. Effect of pH₂₄, NaCl Content and Proteolysis Index on The Relationship Between Water Content and Texture Parameters in Biceps Femoris and Semimembranosus Muscles in Dry-Cured Ham. *Meat Science*, 72: 185–194.
- Sisik S, Kaban G, Karaoglu MM, Kaya M, 2012. Effects of Corn Oil and Broccoli on Instrumental Texture and Color Properties of Bologna-Type Sausage. *International Journal of Food Properties*, 15: 1161-1169.
- Szczesniak AS, 1996. Texture Profile Analysis - Methodology Interpretation Clarified (Reprinted from *Journal of Food Science*, vol 60 pg vii, 1995). *Journal of Texture Studies*, 27: R6-R7.
- Tabilo G, Flores M, Fiszman SM, Toldra F, 1999. Postmortem Meat Quality and Sex Affect Textural Properties and Protein Breakdown of Dry-Cured Ham. *Meat Science*, 51: 255-260.
- Tekinşen OC, ve Doğruer Y, 2000. Her Yönüyle Pastırma. Selçuk Üniversitesi Yayın Ünitesi, Konya.
- Toldra F, Flores M, 1998. The Role of Muscle Proteases and Lipases in Flavor Development During The Processing of Dry-Cured Ham. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38: 331-352.
- Toldra F, Rico E, Flores J, 1993. Cathepsin-B, Cathepsin-D, Cathepsin-H and Cathepsin-L Activities in The Processing of Dry-Cured Ham. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 62: 157-161.
- Uzlaşır T, Aktaş N, Gerçekaslan E, 2020. Pumpkin Seed Oil as a Partial Animal Fat Replacer in Bologna-type Sausages. *Food Science of Animal Resources*, 40 (4): 551-562.
- Velasco L, Weiss J, Loeffler M, 2021. Influence of Microbial in-situ Heteropolysaccharide Production on Textural Properties of Raw Fermented Sausages (Salami). *Journal of Food Science and Technology*, 58: 562-570.
- Wang A, Kang D, Zhang W, Zhang C, Zou Y, Zhou G, 2018. Changes in Calpain Activity, Protein Degradation and Microstructure of Beef *M. semitendinosus* by the Application of Ultrasound. *Food Chemistry*, 15 (245): 724-730.
- Wilkinson C, Dijksterhuis GB, Minekus M, 2000. From Food Structure to Texture. *Trends in Food Science & Technology*, 11: 442-450.
- Yalınkılıç, B, Karaoğlu MM, Oğraş ŞŞ, Kaban G, Kaya M, 2016. Textural Properties of Fat - Reduced Sucuk with Orange Fiber. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22: 431-435.
- Yuste J, Mor-Mur M, Capellas M, Guamis B, Pla R, 1999. Mechanically Recovered Poultry Meat Sausages Manufactured with High Hydrostatic Pressure. *Poultry Science*, 78: 914-921.

Atf İçin: Kılıç İ, Gök SG, 2021. Farklı Agregalarla Üretilen Silindire Sıkıştırılmış Betonların Donma-Çözülme Direncinin Araştırılması. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2849-2859.

To Cite: Kilic I, Gok SG, 2021. Investigation of Freeze-Thaw Resistance of Roller Compacted Concretes Produced with Different Aggregates. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2849-2859.

Farklı Agregalarla Üretilen Silindire Sıkıştırılmış Betonların Donma-Çözülme Direncinin Araştırılması

İsmail KILIÇ^{1*}, Saadet Gökçe GÖK¹

ÖZET: Silindire sıkıştırılmış betonlar (SSB), geleneksel beton üretiminde kullanılan hammaddelerin kullanılmasıyla üretilen, üretim tekniğiyle kuru karışımla çalışılmaya olanak tanıyan, yol ve baraj inşaatlarında tercih edilen bir yapı malzemesidir. Bu deneysel çalışmada, silindire sıkıştırılmış beton üretiminde farklı agrega kullanımının, betonun donma-çözülme direncine etkisi araştırılmıştır. Silindire sıkıştırılmış beton üretiminde iri agrega olarak dolomit, bazalt, mermer ve kalker kullanılmıştır. Silindire sıkıştırılmış beton üretiminde, su/çimento oranı 0.35 ve taze halde çökme değeri sıfır olan beton karışımları hazırlanmış ve bu karışımlar iki kademe sıkıştırılarak kalıba yerleştirilmiştir. Numuneler, dökümden bir gün sonra kalıptan çıkartılarak kür havuzunda bekletilmiştir. Kirece doymun suda 90 gün boyunca bekletilen suya doymun küp numuneler, +20°C sıcaklıkta 12 saat, -20°C sıcaklıkta 12 saat olmak üzere tekrarlayan donma-çözülme çevrimlerine maruz bırakılmıştır. 25, 50 ve 75 çevrim sonunda silindire sıkıştırılmış beton numunelerdeki ağırlık ve ultrases geçiş hızları kaydedilmiştir. 75 çevrim sonunda numunelerin ortalama basınç dayanımı ile verilerdeki standart sapma ve değişkenlik katsayısı değerleri belirlenmiştir. 75 donma-çözülme döngüsü sonunda, basınç dayanımı kaybı, dolomit agregası ile üretilen numunelerde %12.2, bazalt ile üretilenlerde %13.8, mermer ile üretilenlerde %3.3, kalker ile üretilenlerde %4.6 olarak belirlenmiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda, agrega türünün silindire sıkıştırılmış betonların donma-çözülme dayanıklılığı üzerinde etkili olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Agregası, dayanıklılık, donma-çözülme döngüsü, ultrases geçiş hızı, silindire sıkıştırılmış beton

Investigation of Freeze-Thaw Resistance of Roller Compacted Concretes Produced with Different Aggregates

ABSTRACT: Roller compacted concretes are a building material that can be produced using the raw materials used in traditional concrete production, which allows working with dry mix with the production technique, and is preferred for use in road and dam constructions. In this experimental study, the effect of using different aggregates in roller compacted concretes on the freeze-thaw resistance of concrete was investigated. Dolomite, basalt, marble and limestone were used as coarse aggregates in the production of roller compacted concrete. In roller compacted concrete production, concrete mixtures with zero slump value and water/cement ratio of 0.35 were prepared, and these mixtures were compressed in two stages and placed in the mold. The specimens were demolded 24 h after casting and moist-cured. The water-saturated cube specimens, which were kept in lime-saturated water for 90 days, were subjected to repeated freeze-thaw cycles of 12 hours at +20°C and 12 hours at -20°C. At the end of 25, 50 and 75 cycles, the weight and ultrasonic pulse velocity (UPV) of roller compacted concrete specimens were recorded. At the end of 75 cycles, the average compressive strength, standard deviation and coefficient of variation values of the specimens were determined. At the end of 75 freeze-thaw cycles, the compressive strength loss was determined as 12.2% in the samples produced with dolomite aggregate, 13.8% in those produced with basalt, 3.3% in those produced with marble, and 4.6% in those produced with limestone. As a result of the experimental study, it was observed that the aggregate type was effective on the freeze-thaw resistance of the roller compacted concretes.

Keywords: Aggregate, durability, freeze-thaw cycle, ultrasonic pulse velocity, roller compacted concrete

¹ İsmail KILIÇ ([Orcid ID: 0000-0001-5556-512X](https://orcid.org/0000-0001-5556-512X)), Saadet Gökçe GÖK ([Orcid ID: 0000-0002-7879-1610](https://orcid.org/0000-0002-7879-1610)), Kırklareli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Kırklareli, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: İsmail KILIÇ, e-mail: ismail.kilic@klu.edu.tr

GİRİŞ

Silindirle sıkıştırılmış betonlar (SSB), geleneksel betona göre kuru kıvama sahip, taze halde çökmenin sıfır olduğu betonlardır. Dayanıklılık özellikleri, düşük maliyet, hızlı ve kolay üretim, düşük hidratasyon ısı gibi avantajlarıyla sıklıkla karayolu, baraj ve havaalanı pisti inşaatlarında tercih edilmektedir (Pei-wei ve ark., 2006; Amarnath ve Ganesh Babu, 2011; Mardani-Aghabaglou ve ark., 2013). Erken yaşlardaki dayanımının yüksek olması, aşınma ve erozyon direnci gibi olumlu yönleriyle öne çıkan silindirle sıkıştırılmış betonların tasarımı farklı yöntemlerle yapılabilmektedir (Mardani-Aghabaglou ve ark., 2020).

Donma-çözülme direnci, betonun dayanıklılık özelliklerinden biridir. Betonun yapısı gereği, içerisinde kılcal boşluklar bulunmaktadır. Su/bağlayıcı oranı arttığında, kılcal boşluk hacminde artış meydana gelir ve malzemenin su emme kapasitesi artar. Kılcal boşluklardan beton içerisine giren su donduğunda, hacminde yaklaşık % 9 oranında bir artış meydana gelmektedir. Beton içerisinde bu hacim artışını karşılayabilecek miktarda boşluk bulunmadığında, donan su, beton içerisinde gerilmeler oluşturur, oluşan iç gerilmeler betonun çekme dayanımını aştığında betonda çatlak oluşumu gerçekleşir. Özellikle betonun suya doymun olması durumunda bu durum önem arz eder. Tekrar eden donma-çözülme döngüleri, beton yüzeyinde bozulmalara, dökülmelere, kesitte çatlaklara sebebiyet verebilmektedir. Hava sürükleyici katkı kullanımı ile beton içinde sürüklenmiş hava boşluğu oluşturularak bu durumun engellenmesi mümkündür. Su/bağlayıcı oranını azaltarak daha geçirimsiz bir beton elde etmek de donma-çözülme direncini olumlu yönde etkileyecektir. Erken yaşlarda, betonun dona karşı korunması, priz gecikmesinin engellenmesi ve dayanım kayıplarının önlenmesi açısından önemlidir. Donma-çözülme direnci, betonun doymunluk derecesinden, geçirgenliğinden ve donabilecek su miktarından etkilenir (Mindess ve ark., 2003).

Silindirle sıkıştırılmış betonlar, geleneksel betona göre daha yeni bir yapı malzemesi olup bu malzemenin donma-çözülme etkisine karşı dayanıklılığı ve diğer özellikleri üzerine araştırmalar yapılmaktadır (Dolen, 1991; Kilic ve Gok, 2021a; Mardani-Aghabaglou ve ark., 2013; Abbaszadeh ve Modarres, 2017; Rad ve Modarres, 2017; Zhang ve ark., 2018; Algin ve Gerginci, 2020; Kilic ve Gok, 2021b). Karışım oranları ve karışımda kullanılan bileşenler, silindirle sıkıştırılmış betonun donma-çözülme direnci üzerinde etkilidir (Ghafoori ve Cai, 1998; Delatte ve Storey, 2005; Hazaree ve ark., 2011). Silindirle sıkıştırılmış betonların dona karşı dirençlerinin geleneksel betona göre düşük olduğu ve don etkisi nedeniyle hava sürüklenmemiş betonlarda mikroçatlak oluşumunun gözlemlendiği birçok çalışmada bildirilmiştir. Üretim aşamasında laboratuvar koşulları ile saha koşullarının farklılığı nedeniyle meydana gelebilen değişiklikler ve bu tür kuru karışımların, saha koşullarında üretimde uygun bir hava boşluğu sistemi elde etmedeki zorluk sonuçlar üzerinde etkili olabilmektedir. Uygun bağlayıcı miktarı ve beton tasarımı ile yeterli don direnci elde edilebilmektedir (PCA, 2004; Luhr, 2006). Sıkıştırma işlemi sırasında düzensiz hava boşlukları oluşmaktadır, silindirle sıkıştırılmış betonun yeterli don direncine sahip olabilmesi için donmaya dirençli agregalar kullanılarak üretilmesi, uygun hava boşluğu sistemine sahip olması, belirli bir olgunluk derecesine kadar uygun kür koşullarının sağlanması, böylece beton içerisinde donabilecek suyun azaltılması gerekir (Ragan, 1986).

Betonu oluşturan bileşenlerin kalitesi, beton özelliklerine doğrudan etki eder. Beton üretiminde kullanılan malzemeler arasında en büyük hacmi agregaların oluşturduğu düşünüldüğünde, agregaların özelliklerinin betonun fiziksel, mekanik ve dayanıklılık özellikleri üzerinde etkisi olacağı aşikardır. Agregalar, jeolojik oluşumlarına göre sınıflandırılırsa, magmatik (volkanik), sedimanter (tortul) ve metamorfik (başkalaşım) olmak üzere üç gruba ayrılırlar. Bu çalışmada, dolomit, bazalt, mermer ve

kalker agregaları kullanılarak silindirle sıkıştırılmış beton üretimi yapılmış, agrega türünün silindirle sıkıştırılmış beton numunelerin donma-çözülme direnci üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada, bağlayıcı olarak CEM I 42.5 R Portland çimentosu ve karma suyu olarak Kırklareli şebeke suyu kullanılmıştır. Karışımlarda, iri agrega olarak dolomit, bazalt, mermer ve kalker olmak üzere dört farklı agrega türü kullanılarak üretim gerçekleştirilmiştir, ince agrega olarak ise bu agregaların yanı sıra doğal kum kullanılmıştır. Agregalar elenerek boyutlarına göre ayrılmış, kırmataş II (12-19 mm), kırmataş I (4-12 mm) ve kırmataş tozu (0-4 mm) olacak şekilde üç farklı boyutta kullanılmıştır. Her karışımda ayrıca 0-4 mm boyut aralığında doğal kum kullanılmıştır.

Dolomit, kireçtaşlarında sönmemiş kirecin yerini kısmen ya da tamamen kalsine manyezitin alması ile oluşan, masif yapılı, köşeli ve sert olan genellikle bej renkli taşlardır. Jeolojik kökenlerine göre, tortul taşlar olarak sınıflandırılmaktadır. Deneysel çalışmada kullanılan dolomit agregası Pınarhisar bölgesinden temin edilmiş olup iri agrega olarak dolomit kullanılan beton numunelerinde, D kodu kullanılmıştır.

Bazalt, volkanik taşlardan olup masif yapılı, sert ve dayanıklı bir taştır. Siyah ve koyu gri tonlu renklere sahiptir. Bu çalışmada kullanılan bazalt agregası, Afyon bölgesinden temin edilmiş olup bazalt kullanılarak üretilen numunelerde, B kodu kullanılmıştır.

Mermer, başkalaşım sonucunda kalkerin (kireçtaşı) yeniden kristalleşmesiyle meydana gelmektedir. Mermer, masif yapı ve taneli dokuya sahiptir. Bu taşın renkleri genellikle beyaz veya açık gridir. Kökenlerine göre başkalaşım taşlar olarak sınıflandırılmaktadır. Çalışmada kullanılan mermer agregası, Afyon bölgesinden temin edilmiş olup mermer agregası kullanılarak üretilen beton numuneleri M kodu ile ifade edilmiştir.

Kalker (kireçtaşı), kalsiyum karbonattan oluşan tortul bir kayadır. Kalker, oldukça sağlam ve aşınmaya karşı dayanıklıdır. Kökenlerine göre tortul taşlar olarak sınıflandırılmaktadır. Deneysel çalışmada kullanılan kalker agregası Silivri-Çatalca bölgesinden temin edilmiştir. Kalker agregasından üretilen silindirle sıkıştırılmış beton numunelerinde K kodu kullanılmıştır.

Agregalara ilişkin fiziksel özellikler ve Los Angeles aşınma kaybı değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Agregaların özellikleri (Savaş, 2019)

Agrega Türü	Sıkışık Birim Hacim Ağırlık (g cm ⁻³)	Özgül Ağırlık	Su Emme (%)	Los Angeles (LA) Aşınma Kaybı (%)
Dolomit	Kırmataş II	2.80	0.56	19.6
	Kırmataş I	2.80	0.37	
	Kırmataş Tozu	1.59	2.81	
		1.61	1.75	
Bazalt	Kırmataş II	1.90	2.81	10.6
	Kırmataş I	1.56	2.82	
	Kırmataş Tozu	1.63	2.83	
		1.80	1.56	
Mermer	Kırmataş II	1.60	2.70	42.9
	Kırmataş I	1.75	2.71	
	Kırmataş Tozu	1.89	2.74	
		1.60	1.92	
Kalker	Kırmataş II	1.68	2.80	24.8
	Kırmataş I	1.75	2.81	
	Kırmataş Tozu	1.64	2.82	
			1.16	
Doğal Kum		2.76	1.30	-

Karayolları Genel Müdürlüğü Teknik Şartnamesi'ne (KGM, 2006) göre yol kaplamalarında kullanılacak iri agregalar için aşınma kaybı %30'dan az olmalıdır. Deneylerde kullanılan iri agregalardan sadece mermer agregası bu sınır değerine çıkmıştır. Farklı amaçla kullanılabilme ihtimali nedeniyle, deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. Ayrıca TS 706 EN 12620+A1 standardına göre, binalarda kullanılacak agregalarda, 500 devir sonrası aşınma kaybının %50'nin altında olması gerekmektedir (TSE, 2009). Deneylerde kullanılan agregalarda bu değer sağlanmaktadır.

Deneysel çalışmalarda kullanılan agrega karışımının granülometrisi Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Agrega granülometrisi

Agrega Türü	% Geçen Elek açıklığı (mm)													
	19	16	12,5	9,5	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.075	0.063	
Dolomit	100	86	73	68	63	49	41	32	22	11	5	3	2	
Bazalt	100	90	78	70	64	53	45	36	24	11	4	2	1	
Mermer	100	90	78	73	68	50	44	39	28	14	3	1	0	
Kalker	100	96	86	77	67	42	29	22	14	6	3	2	1	

Beton karışım miktarları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Beton karışım miktarları (1 m³)

Beton Kodu	S/Ç	Su (kg m ⁻³)	Çimento (kg m ⁻³)	Kırmataş II (kg m ⁻³)	Kırmataş I (kg m ⁻³)	Kırmataş Tozu (kg m ⁻³)	Doğal Kum (kg m ⁻³)
D	0.35	150	429	488	488	488	488
B	0.35	150	429	293	587	587	489
M	0.35	150	429	378	567	567	378
K	0.35	150	429	195	584	389	681

Çalışmada küp numuneler kullanılmıştır. Her agrega türü için 3 adet şahit, 3 adet ise donma-çözülme çevriminde kullanılmak üzere 6 numune üretilmiştir.

Metot

Farklı agregalarla yapılan karışımlarda su/bağlayıcı oranı 0.35 ve çökme sıfır olacak şekilde tasarım yapılmıştır.

ASTM C 1435 (ASTM, 2014) standardına göre silindirle sıkıştırılmış beton numunelerinin üretimi yapılmıştır. Sıkıştırma işlemi Şekil 1'de gösterilen, kalıp şekli ile uyumlu özel üretilmiş başlık kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Küp numunelerin sıkıştırılma işlemi iki kademe gerçekleştirilmiştir. Her bir tabaka, 20 saniye boyunca sıkıştırılmıştır.

Çalışmada, 15 cm kenar uzunluklu küp numuneler üretilmiştir. Üretilen numuneler, üretimden bir gün sonra kalıptan çıkarılmış, donma-çözülme kabineye konana kadar, kür havuzunda ve kirece doymun suda 90 gün bekletilmiştir.

Silindirle sıkıştırılmış beton numuneleri, 90 gün boyunca kür havuzunda, kirece doymun suda bekletildikten sonra tekrarlayan donma-çözülme çevrimine maruz bırakılmıştır. Her bir çevrim, 12 saat süresince +20°C sıcaklık ve 12 saat süresince -20°C sıcaklıkta bekletme aşamalarından oluşmaktadır. Her bir çevrim, 1 günlük zaman dilimine denk gelmektedir. 25, 50 ve 75 çevrim sonunda numuneler tartılarak ağırlıkları kaydedilmiş, ultrases geçiş hızı, Şekil 2'de gösterilen Proceq marka Pundit PL-200 ultrasonik test cihazı ile belirlenmiştir. Dört farklı iri agrega kullanılarak üretilen silindirle sıkıştırılmış beton numunelerinde ultrases geçiş hızı ASTM C 597 (ASTM, 2002) standardına göre tespit edilmiştir.



Şekil 1. SSB üretim aşaması



Şekil 2. Ultrasonik test cihazı

Basınç dayanımı deneyi 75 çevrim donma-çözölmeye maruz kalan küp numuneler ile şahit numuneler üzerinde yapılmıştır. Silindirle sıkıştırılmış beton numunelerinde basınç dayanımı, TS EN 12390-3 standardına göre belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Donma-çözölme etkisine maruz bırakılmayan (şahit) numunelerdeki ortalama ultrases geçiş hızları Çizelge 4'te verilmiştir.

ASTM C 597'ye (ASTM, 2002) göre ultrases geçiş hızı 3.5 ile 4.5 km s⁻¹ arasındaysa beton kalitesi iyi kabul edilir. Farklı agregalar kullanılarak üretilen tüm SSB numunelerinde ultrases geçiş hızının 3.5 km s⁻¹'den büyük olduğu görölmektedir. Mermer ve kalker ile üretilen numunelerde beton kalitesi iyi iken, dolomit ve bazalt ile üretilen numunelerde ultrases geçiş hızı 4.5 km s⁻¹'den büyük olduğundan, bu agregalarla üretilen numunelerde ASTM C 597 (ASTM, 2002) tanımına göre beton kalitesinin çok iyi olduğu söylenebilir.

Çizelge 4. Donma-çözölme etkisine maruz bırakılmayan numunelerde ultrases geçiş hızı

	Ortalama Ultrases Geçiş Hızı (km s ⁻¹)	Standart Sapma	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	4.83	0.09	1.86
B	4.73	0.04	0.85
M	4.19	0.06	1.43
K	3.80	0.30	7.89

Donma-çözölme etkisine maruz kalmayan numuneler incelendiğinde, değişkenlik katsayılarının düşük olduğu ve dağılımların homojen olduğu ifade edilebilir. Kalker ile üretilen numunelerde ortalama ultrases geçiş hızı daha düşük, değişkenlik katsayısı ise daha büyük olmuştur. Ultrases geçiş hızının büyük olduğu numunelerde, boşluk miktarının daha az olduğu söylenebilir, buna bağlı olarak bu numunelerde geçirimsizliğin daha az olması ve basınç dayanımının daha büyük olması beklenmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde, dolomit agregası ile üretilen numunelerde beton kalitesinin daha iyi

olması beklenmektedir. Bu sonucun elde edilmesinde, sıkıştırma işlemi de etkili olmaktadır. Sabit sıkıştırma süresinde daha iyi sıkışan numuneler, daha düşük boşluk oranına sahip olacağından basınç dayanımı, beton durabilitesi ve beton kalitesi de bu durumdan etkilenecektir.

Şahit numunelerin basınç dayanımları Çizelge 5'te verilmiştir. Burada, beton basınç dayanımı sonuçlarının ultrases geçiş hızı verileriyle uyumlu olduğu görülmektedir. Ultrases geçiş hızı büyük olan numunelerde, daha büyük basınç dayanımı elde edilmiştir. Tahribatsız bir deney yöntemi olan ultrases geçiş hızının belirlenmesi, beton içerisindeki boşluk miktarı hakkında bilgi verdiği için, dolaylı olarak beton basınç dayanımı hakkında fikir verebilmektedir. Bununla birlikte, ölçüm alınan nokta değişikçe ultrases geçiş hızı değerlerinde değişme olacağı ve sıkıştırma yönünün de elde edilen sonuçlar üzerinde etkili olabileceğinin göz önünde bulundurulmasında fayda vardır. Şahit numunelerin beton basınç dayanımları incelendiğinde, standart sapmaların düşük, değişkenlik katsayılarının da buna bağlı olarak düşük ve dağılımın homojen olduğu görülmektedir.

Çizelge 5. Donma-çözülme etkisine maruz bırakılmayan numunelerin basınç dayanımları

	Basınç Dayanımı (MPa)	Standart Sapma	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	78.8	0.6	0.76
B	68.8	3.1	4.51
M	48.2	1.7	3.53
K	47.5	1.2	2.53

25 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerdeki ağırlık değişimleri Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. 25 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerin ağırlık değişimi

	Ortalama Ağırlık Değişimi (%)	Standart Sapma (%)	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	-0.85	0.28	32.94
B	-1.58	0.20	12.66
M	-1.68	0.48	28.57
K	-4.34	0.09	2.07

25 donma-çözülme döngüsünün ardından, numunelerde bir miktar ağırlık kaybı görülmüştür ancak belirgin bir çatlak oluşumu ya da numune yüzeyinde hasar gözlenmemiştir. En fazla ağırlık değişiminin kalker ile üretilen agregalarda olduğu görülmektedir. Öte yandan, bu çizelgede değişkenlik katsayılarının arttığı, dolomit ve mermer agregaları ile üretilen numunelerde dağılımın homojenlikten uzaklaştığı görülmektedir.

25 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerin ultrases geçiş hızı değerleri Çizelge 7'de verilmiştir. Burada da en yüksek ultrases geçiş hızı değerleri, dolomit agregası ile üretilen silindirle sıkıştırılmış beton numunelerinde elde edilirken, en düşük değerlerin kalker agregası ile üretilen numunelerde olduğu görülmektedir. Bazı agrega türleri için, donma-çözülme etkisine maruz bırakılmayan numunelerde daha düşük ultrases geçiş hızı değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Bu sonucun elde edilmesinde sıkıştırma işleminin etkili olduğu, farklı numuneler üzerinden ve farklı noktalardan alınan ölçümlerin sonuçları değiştirmiş olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, numune yaşlarının farklı oluşu ve devam eden hidrasyon reaksiyonunun boşluk yapısını etkilemesi de sonuçlar üzerinde etkili olabilmektedir.

50 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerdeki ağırlık değişimleri Çizelge 8'de verilmiştir. Ağırlıklardaki azalmanın artan çevrim sayısı ile birlikte arttığı görülmektedir. Bununla birlikte, numunelerde 50 çevrim sonunda dağılıma, parçalanma gibi bir durumla karşılaşılmasıdır.

Çizelge 7. 25 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerde ultrases geçiş hızı (km s^{-1})

	Ortalama Ultrases Geçiş Hızı (km s^{-1})	Standart Sapma	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	4.95	0.02	0.40
B	4.61	0.08	1.74
M	4.44	0.14	3.15
K	4.14	0.25	6.04

Çizelge 8. 50 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerin ağırlık değişimi

	Ortalama Ağırlık Değişimi (%)	Standart Sapma (%)	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	-0.97	0.25	25.77
B	-1.82	0.16	8.79
M	-1.72	0.69	40.12
K	-4.40	0.05	1.14

50 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerin ultrases geçiş hızı değerleri Çizelge 9'da verilmiştir. Ultrases geçiş hızı değerlerine göre 50 çevrim sonunda beton kalitesinin iyi seviyelerde olduğu görülmektedir.

Çizelge 9. 50 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerde ultrases geçiş hızı (km s^{-1})

	Ortalama Ultrases Geçiş Hızı (km s^{-1})	Standart Sapma	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	4.92	0.00	0.00
B	4.56	0.09	1.97
M	4.42	0.13	2.94
K	4.13	0.22	5.33

75 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerdeki ağırlık değişimleri Çizelge 10'da verilmiştir. En fazla ağırlık değişimi, 75 çevrim sonunda da, kalker agregası ile üretilen numunelerde gözlenmiştir.

75 çevrim sonunda en az ağırlık değişiminin dolomit agregası ile üretilen numunelerde olduğu görülmektedir. Öte yandan, saha koşullarının laboratuvarındaki sıkıştırma koşullarından farklı olabileceği öngörüldüğünden, uygulamada boşluk yapısının farklı olabileceği ve bu durumun donma-çözülme direnci üzerinde etkili olabileceğinin vurgulanmasında fayda bulunmaktadır.

Çizelge 10. 75 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerin ağırlık değişimi

	Ortalama Ağırlık Değişimi (%)	Standart Sapma (%)	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	-1.27	0.19	14.96
B	-2.16	0.15	6.94
M	-1.74	0.39	22.41
K	-4.75	0.10	2.11

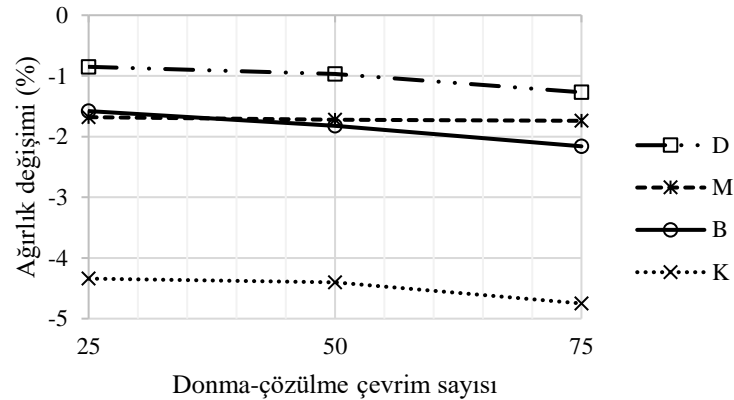
75 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerin ultrases geçiş hızı değerleri Çizelge 11'de verilmiştir. Ortalama ultrases geçiş hızı değerlerine göre beton kalitesi iyi seviyelerde olmasına rağmen, ultrases geçiş hızı değerlerinde belirgin bir düşüş olması nedeniyle deney 75 çevrim sonunda sonlandırılmıştır.

Çizelge 11. 75 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerde ultrases geçiş hızı (km s^{-1})

	Ortalama Ultrases Geçiş Hızı (km s^{-1})	Standart Sapma	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	4.90	0.03	0.61
B	4.55	0.17	3.74
M	4.33	0.23	5.31
K	4.04	0.27	6.68

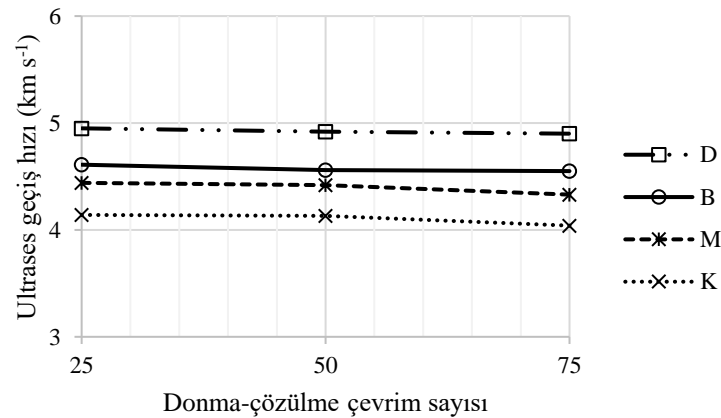
Donma-çözülme çevrim sayısına bağlı olarak ağırlık değişimi Şekil 3'te verilmiştir. Sıkıştırma derecesinin elde edilen sonuçlarda ve ağırlıklar arasındaki farkta etkili olduğu söylenebilir.

Çevrim sayısından bağımsız olarak en fazla yüzdece ağırlık kaybı, kalker ile üretilen numunelerde olmuştur. En az ağırlık kaybının dolomit agregası kullanılarak üretilen silindire sıkıştırılmış beton numunelerde olduğu görülmektedir.



Şekil 3. Donma-çözülme sayısına bağlı olarak ağırlık değişimi

Agrega türüne göre, donma-çözülme çevrim sayısına bağlı olarak ultrases geçiş hızının değişimi Şekil 4'te verilmiştir. En düşük ultrases geçiş hızı değerleri kalker kullanılarak üretilen silindire sıkıştırılmış betonlarda elde edilmiştir.



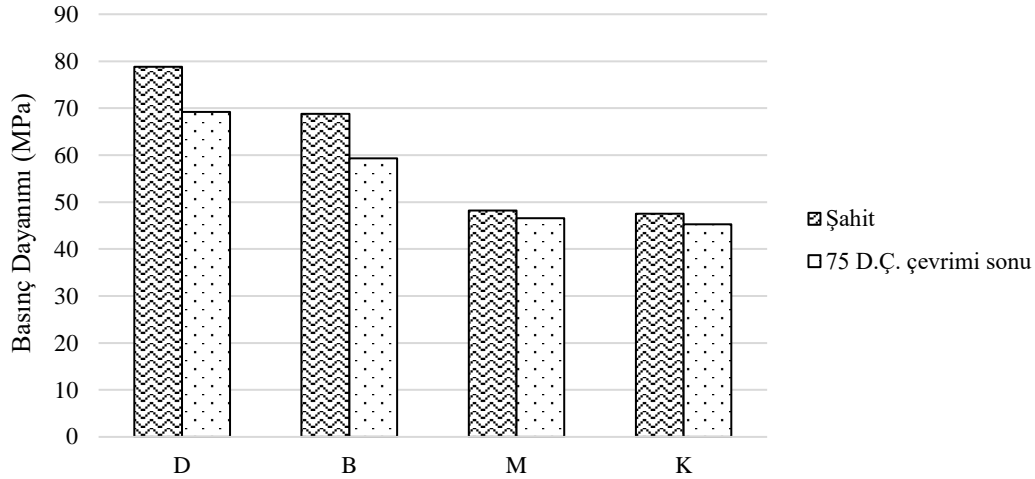
Şekil 4. Ultrases geçiş hızının donma-çözülme çevrim sayısına bağlı değişimi

Ultrases geçiş hızının en yüksek olduğu numuneler, dolomit kullanılarak üretilen silindire sıkıştırılmış betonlar olmuştur.

75 donma-çözülme çevrimi sonunda deneyler sonlandırılmış ve numuneler üzerinde basınç deneyi gerçekleştirilmiştir. Basınç deneyinden elde edilen sonuçlar Çizelge 12'de verilmiştir. Donma-çözülme etkisine maruz bırakılmayan numunelerin basınç dayanımları ile 75 donma-çözülme çevrimi sonunda elde edilen basınç dayanımı değerleri Şekil 5'te grafik olarak gösterilmiştir.

Çizelge 12. 75 donma-çözülme çevrimi sonunda numunelerin basınç dayanımı (MPa)

	Basınç Dayanımı (MPa)	Standart Sapma	Değişkenlik Katsayısı (%)
D	69.2	5.9	8.53
B	59.3	1.8	3.04
M	46.6	2.0	4.29
K	45.3	1.0	2.21



Şekil 5. Basınç dayanımı

Farklı çalışmalarda, betonun don direnci üzerinde etkili olan en önemli faktörün, çimento hamurunun düzgün dağılmış hava gözenek sistemi bulundurması olduğu belirtilmiştir (Pigeon ve ark., 1996; Janssen, 1997; Şahin, 2003). Geleneksel betonda, düzgün dağılmış hava boşlukları hava sürükleyici katkı kullanımıyla oluşturulabilmekte, bu şekilde betonun donma-çözülme dayanıklılığı artırılabilir. Silindirle sıkıştırılmış betonlarda, sıkıştırma işleminden kaynaklanan düzensiz dağılımlı gözenek sistemi oluşması donma-çözülme dayanıklılığı üzerinde olumsuz etki yaratabilmektedir. 75 çevrim sonundaki basınç dayanımları incelendiğinde, silindirle sıkıştırılmış betonlarda dayanım kaybı görülmektedir, bu kayıp düşük dayanımlı numunelerde daha az olmuştur. 75 donma-çözülme döngüsü sonunda, basınç dayanımı kaybı, dolomit agregası ile üretilen numunelerde %12.2, bazalt ile üretilenlerde %13.8, mermer ile üretilenlerde %3.3, kalker ile üretilenlerde %4.6 olarak saptanmıştır. En düşük ortalama basınç dayanımı kalker ile üretilen numunelerde elde edilmekte olup 75 donma-çözülme çevrimi neticesinde bu numunelerde ortalama basınç dayanımı 45.3 MPa olarak kaydedilmiştir. Deneysel çalışmada, agrega türünün silindirle sıkıştırılmış betonun donma-çözülme dayanıklılığı üzerinde etkili olduğu görülmüş, mermer ve kalker ile üretilen numunelerde nihai dayanım daha düşük olmasına rağmen donma-çözülme etkisi sonucunda dayanım kayıpları daha düşük seviyelerde olmuştur. Bu sonucun elde edilmesinde, daha boşluklu yapının donan suyun hacim genişlemesine izin vermesi etkili olmuş, bu boşluklu yapı ise daha düşük basınç dayanımı değerleriyle sonuçlanmıştır. Geleneksel beton üretiminde hava sürükleyici katkı kullanımının donma-çözülme dayanıklılığını artırması ancak beton basınç dayanımında katkısız numunelere göre düşüş meydana getirmesi de bu sonucu destekler niteliktedir. Geleneksel beton üretiminde, bu çalışmada elde edilen verileri destekleyecek şekilde, agrega türünün betonun donma-çözülme etkisine olan direncini etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Şengül ve ark., 2003). Betonun donma-çözülme dayanıklılığı üzerinde, su/bağlayıcı oranı, çekme dayanımı, sıcaklık ve nem durumunu belirten kür koşulları, donma hızı, betondaki boşluk yapısı, boyut ve dağılımı, boşlukların aralarındaki bağlantı şekli, betonun doygunluk derecesi, donabilecek su miktarı gibi faktörler etkilidir (Şengül ve ark., 2003). Silindirle sıkıştırılmış betonlarda, bu faktörlere ek olarak boşluk yapısını değiştiren sıkıştırma işleminin de etkili olacağı düşünülmektedir.

SONUÇ

Çalışmadan elde edilen sonuçlar şunlardır:

- Donma-çözülme etkisine maruz bırakılmayan numunelerde, ultrases geçiş hızı ve basınç dayanımı değerlerine bakılarak dolomit agregası ile üretilen silindirle sıkıştırılmış beton numunelerin beton kalitesinin en iyi olduğu söylenebilir.
- Bazalt ve dolomit agregası ile üretilen numunelerde, mermer ve kalkerle üretilenlere göre daha yüksek basınç dayanımları elde edilmiştir. Bazalt ve dolomitin, taş türü olarak diğerlerinden daha sert ve dayanıklı olmaları bu sonucun elde edilmesinde etkili olmuştur.
- Agregası türü, silindirle sıkıştırılmış betonun donma-çözülme dayanıklılığı üzerinde etkili olmuştur.
- Mermer ve kalker ile üretilen SSB numunelerde basınç dayanımı daha düşük olmuş, buna karşın donma-çözülme etkisi sonucunda dayanım kayıpları daha az olmuştur. Kireçtaşı ve kireçtaşının başkalaşımı sonucu oluşan mermerin yüksek oranda CaCO_3 içermesi, agregalardaki gözeneklilik miktarı ya da karışımlardaki agregası granülometrisinin farklılığı böyle bir sonucun oluşmasında etkili olmuş olabilir.
- Bu konu ile ilgili olarak ilerleyen çalışmalarda, donma-çözülme çevrim sayısının artırılması, bu çalışmada uygulanan kütle donma deneyleri yerine yüzeysel donma deneylerinin uygulanması, hava sürükleyici katkı kullanımı ile SSB üretimi yapılarak katkı kullanımının donma-çözülme direnci üzerindeki etkisinin incelenmesi, saha koşullarını birebir temsil eden silindirle sıkıştırılmış beton uygulamalarının uzun süreli yerinde gözlenmesi ile araştırmaların artırılması faydalı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, deneysel çalışmalardaki katkılarından dolayı İnş. Yük. Müh. Ahmet Okan Savaş'a teşekkür ederler.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları, aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar, makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Abbaszadeh R, Modarres A, 2017. Freeze-Thaw Durability of Non-Air-Entrained Roller Compacted Concrete Designed for Pavement Containing Cement Kiln Dust. *Cold Regions Science and Technology*, 141, 16-27.
- Algin Z, Gerginci S, 2020. Freeze-Thaw Resistance and Water Permeability Properties of Roller Compacted Concrete Produced with Macro Synthetic Fibre. *Construction and Building Materials*, 234, 117382, 1-9.
- Amarnath Y, Ganesh Babu K, 2011. Transport Properties of High Volume Fly Ash Roller Compacted Concrete. *Cement and Concrete Composites*, 33 (10): 1057-1062.
- ASTM C 1435, 2014. "Standard Practice for Molding Roller-Compacted Concrete in Cylinder Molds Using a Vibrating Hammer". American Society for Testing and Materials, ASTM International, USA.
- ASTM C 597, 2002. "Standard Test Method For Pulse Velocity Through Concrete". American Society for Testing and Materials, ASTM International, USA.
- Delatte N, Storey C, 2005. Effects of Density and Mixture Proportions on Freeze-Thaw Durability of Roller-Compacted Concrete Pavement. *Transportation Research Record Journal of the Transportation Research Board*, 1914 (1): 45-52.
- Dolen TP, 1991. Freezing and Thawing Durability of Roller-Compacted Concrete. *ACI Symposium Publication*, 126, 101-114.

- Ghafoori N, Cai Y, 1998. Laboratory-Made Roller Compacted Concretes Containing Dry Bottom Ash: Part II—Long-Term Durability. *Materials Journal*, 95 (3): 244-251.
- Hazaree C, Ceylan H, Wang K, 2011. Influences of Mixture Composition on Properties and Freeze-Thaw Resistance of RCC. *Construction and Building Materials*, 25, 313-319.
- Janssen DJ, 1997. The Influence of Material Parameters on Freeze-Thaw Resistance with and without Deicing Salt, *Frost Resistance of Concrete*. Edited by M.J. Setzer and R. Auberg, E&FN SPON, 3-10, New York, USA.
- Karayolları Genel Müdürlüğü Teknik Şartnamesi, 2006. Karayolları Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Kilic I, Gok SG, 2021a. A Study on Investigating the Properties of Alkali-Activated Roller Compacted Concretes, *Advances in Concrete Construction*, 12 (2): 117-123.
- Kilic I, Gok SG, 2021b. Strength and Durability of Roller Compacted Concrete with Different Types and Addition Rates of Polypropylene Fibers, *Revista de La Construcción*, 20 (2): 205-214.
- Luhr DR, 2006. Frost Durability of Roller-Compacted Concrete Pavements: Research Synopsis. 1-4.
- Mardani-Aghabaglou A, Andıç-Çakır Ö, Ramyar K, 2013. Freeze-thaw Resistance and Transport Properties of High-Volume Fly Ash Roller Compacted Concrete Designed by Maximum Density Method. *Cement and Concrete Composites*, 37, 259-266.
- Mardani-Aghabaglou A, Bayqra SH, Özen S, Altun MG, Faqiri ZA, Ramyar K, 2020. Silindirle Sıkıştırılmış Beton Karışımlarının Tasarım Yöntemleri ve Yapılan Çalışmalar. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 26 (3): 419-431.
- Mindess S, Young JF, Darwin D, 2003. *Concrete*, Second Edition, Prentice Hall Pearson Education Inc., New Jersey, ABD.
- Pei-wei G, Sheng-xing W, Ping-hua L, Zhong-ru W, Ming-shu T, 2006. The Characteristics of Air Void and Frost Resistance of RCC with Fly Ash and Expansive Agent. *Construction and Building Materials*, 20 (8): 586-590.
- Pigeon M, Marchand V, Pleau R, 1996. Frost Resistant Concrete. *Construction and Building Materials*, 10 (5): 339-347.
- Portland Cement Association, 2004. Frost Durability of Roller-Compacted Concrete Pavements, Research and Development Bulletin RD 135, Service d'Expertise en Matériaux Inc., Canada.
- Rad SAM, Modarres A, 2017. Durability Properties of Non-Air Entrained Roller Compacted Concrete Pavement Containing Coal Waste Ash in Presence of De-icing Salts. *Cold Regions Science and Technology*, 137, 48-59.
- Ragan SA, 1986. Evaluation of the Frost Resistance of Roller-Compacted Concrete Pavements. *Transportation Research Record 1062*, TRB, National Research Council, 25-32, Washington.
- Savaş AO, 2019. Farklı Tür Agregalarla Üretilen Silindirle Sıkıştırılmış Betonların Fiziksel ve Mekanik Özelliklerinin Araştırılması, *Kırklareli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış)*.
- Şahin R, 2003. Normal Portland Çimentolu Betonların Don Direncinin Taguchi Yöntemi ile Optimizasyonu ve Hasar Analizi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış)*.
- Şengül Ö, Taşdemir C, Koruç Ş, Sönmez R, 2003. Agregat Türünün Betonun Donma-Çözülme Dayanıklılığına Etkisi. III. Ulusal Kırmataş Sempozyumu, 3-4 Aralık 2003, İstanbul, 43-50.
- TS 706 EN 12620+A1, 2009. "Beton agregaları". Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- TS EN 12390-3, 2003. "Sertleşmiş Beton Deney Numunelerinde Basınç Dayanımının Tayini" Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Zhang W, Zhang J, Chen S, Gong S, 2018. Degradation of Roller-Compacted Concrete Subjected to Freeze-Thaw Cycles and Immersion in Potassium Acetate Solution. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2018, Article ID 4282181, 8 pages. DOI: 10.1155/2018/4282181.

Atf İçin: Erdoğan ZÖ, Koçer MB, Sayın S, Küçükolbaşı S, 2021. Farmasötik Preparatlarda Ondansetron Tayini için Yöntem Geliştirilmesi, İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2860-2869.

To Cite: Erdoğan ZÖ, Koçer MB, Sayın S, Küçükolbaşı S, 2021. Development of Electrochemical Sensor for Determination of Ondansetron in Pharmaceutical Preparations, Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2860-2869.

Farmasötik Preparatlarda Ondansetron Tayini İçin Elektrokimyasal Sensör Geliştirilmesi

Zehra Özden ERDOĞAN^{1*}, Mustafa Barış KOÇER², Serkan SAYIN³, Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI²

ÖZET: Bu çalışmada, farmasötik preparatlardaki ondansetron içeriğinin belirlenmesi için karbon nanotüp immobilize diester-kaliks[4]arene (CNT-Calix-DE) dayalı elektrokimyasal sensör geliştirildi. Sensör hazırlama aşamasında, camsı karbon elektrot yüzeyi CNT-Calix-DE ile modifiye edildi. Sensörün yüzey morfolojisi, elektrokimyasal karakterizasyonu ve analitik performansı, taramalı elektron mikroskopu (SEM), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve diferansiyel puls anodik sıyırma voltametri (DPASV) kullanılarak incelendi. Optimum deneysel koşullar altında, geliştirilen sensör ondansetrona karşı 1.0-10.0 µM konsantrasyon aralığında doğrusal cevap gösterdi. Sensörün analitik uygulanabilirliği farmasötik preparatlarda ondansetron tayini yapılarak araştırıldı.

Anahtar Kelimeler: ondansetron, sensör, farmasötik preparat

Development of Electrochemical Sensor for Determination of Ondansetron in Pharmaceutical Preparations

ABSTRACT: In this study, an electrochemical sensor based on carbon nanotube immobilized with diester-functionalized calix[4]arene (CNT-Calix-DE) was developed to determine the ondansetron content in pharmaceutical preparations. During the sensor preparation stage, the glassy carbon electrode surface was modified with CNT-Calix-DE. The surface morphology, electrochemical characterization and analytical performance of the sensor were examined using scanning electron microscope (SEM), electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV). Under optimal experimental conditions, the developed sensor showed a linear response to ondansetron in the concentration range of 1.0-10.0 µM. Analytical applicability of the sensor was investigated by determination of ondansetron in pharmaceutical preparations.

Keywords: ondansetron, sensor, pharmaceutical preparations

¹ Zehra Özden ERDOĞAN ([Orcid ID: 0000-0002-1687-973X](https://orcid.org/0000-0002-1687-973X)), Yüksek İhtisas Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Programı, Ankara, Türkiye

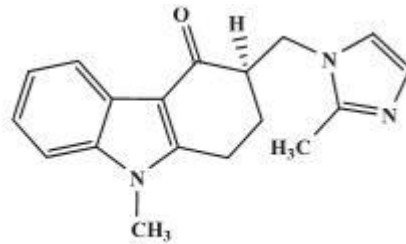
² Mustafa Barış KOÇER ([Orcid ID: 0000-0001-8439-1966](https://orcid.org/0000-0001-8439-1966)), Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI ([Orcid ID: 0000-0002-5129-5385](https://orcid.org/0000-0002-5129-5385)) Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Konya, Türkiye

³ Serkan SAYIN, ([Orcid ID: 0000-0003-0518-3208](https://orcid.org/0000-0003-0518-3208)), Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Giresun, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Zehra Özden ERDOĞAN, e-mail: duruzera@gmail.com

GİRİŞ

Ondansetron (OND), (RS)-9-metil-3[(2-metil-1H-imidazol-1-yl)-metil]-1,2,3,9-tetrahidro-4H-karbazol-4-on, 5-HT₃-reseptör antagonist serotonin yüksek seçicilikteki inhibitörüdür (Şekil 1). OND'nin antiemetik aktivitesi, hem merkezi (medüller kemoreseptör bölgesi) hem de çevresel olarak (GI yolu) mevcut 5-HT reseptörlerinin inhibisyonu yoluyla sağlanır (Espinoza Bosch ve ark., 2017). OND, etkili antiemetik aktivite gösterdiğinden, kemoterapi ve radyasyona bağlı mide bulantısı ve kusmayı önlemede yardımcı olur (Del Fevero ve ark., 1993). Son yapılan çalışmalar, gastrointestinal motilite bozuklukları, alkolizim, kokain bağımlılığı, uyuşturucu yoksunluğu, vertigo, serebellar tremor ve Parkinson hastalığı tedavisine bağlı psikoz gibi diğer hastalıkların tedavisinde OND'nin yeni bir uygulamasını ortaya çıkarmıştır (Wilde ve Markham, 1996).



Şekil 1. Ondansetronun kimyasal yapısı

Farmasötik preparatlarda ve biyolojik sıvılarda OND'nin tayini için spektrofotometrik (Raza ve ark., 2007), kapiler bölge elektroforez (Arama ve ark., 2011), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Colthup ve Palmer, 1989; Colthup ve ark.d, 1991; Bauer ve ark., 2002), enantiyoseçici LC/MS/MS (Alvarez ve ark., 2011; Musshoff ve ark., 2010) ve süperkritik akışkan kromatografi/ardışık kütle spektrometri (Hsieh ve ark., 2006) gibi farklı analitik teknikler kullanılmaktadır. Ancak bu teknikler kompleks örnek hazırlama işlemi ve yoğun solvent kullanımı gerektirmesinin yanında cihaz maliyeti de yüksektir. Farmasötik preparat ve biyolojik sıvılardaki bağlantılı moleküllerin belirlenmesinde, elektrokimyasal yöntemler diğer yöntemlere kıyasla hızlı cevap, yüksek hassasiyet, düşük maliyet gibi avantajlara sahiptir (Nigovic ve Hocevar, 2011; Nigovic ve Spajic, 2011).

Yapılan çalışmalarda, dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ve kare dalga voltametrisi (SWV) gibi elektrokimyasal yöntemlerin, farmasötik dozaj formları ve biyolojik sıvılardaki organik molekül içeren ilaç ve bağlantılı moleküllerin tayini için oldukça hassas olduğu kanıtlanmıştır (Nigovic, 2006; Liu ve ark., 2006). Hassas ve seçici analitik uygulamalar için uygun kimyasal olarak modifiye elektrotlar kullanmak elektrokimyasal yöntemlerin avantajlarından (Zen ve ark., 2003). Son yıllarda, kimyasal olarak modifiye elektrotlar oluşturmak için, elektrot yüzeyi üzerine modifiye malzemesi olarak kaliksarenler kullanılmaktadır (Kun ve ark., 2013).

Konuk-konak zeminine dayanan moleküler tanıma olayları, günümüzde araştırma ilgisi çekmiştir. Bu olaylar, çeşitli elektrotlar üzerine organik makrosiklik moleküllerin modifiye edildiği elektrokimyasal sensörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhou ve ark., 2013; Chen ve ark., 2013; Zhou ve ark., 2013). Siklodekstrinler ve taç eterlerden sonra üçüncü en iyi konakçı molekül olarak kabul edilen boşluk şeklinde siklik fenol molekülleri olan kaliksarenler, hedef molekül ile kararlı konuk-konakçı kompleksleri oluşturması, yüksek moleküler seçicilik ve çok moleküllü tanıma yeteneklerinden dolayı elektrokimyasal sensörlerde yaygın olarak kullanılırlar. İlk zamanlarda, kaliksarenler ve türevleri ile ilişkili çoğu çalışma, metal iyonları ile olan uygulamalarına odaklanmıştır (Lu ve ark., 2003; Honeygurch ve ark., 2002; Wang ve ark., 2010; Ebdelli ve ark., 2011; Canpolat ve ark., 2007; Becker ve ark., 2008). Günümüzde ise, folik asit, dopamin, norepinefrin ve serotonin gibi küçük

biyomoleküllerin tayinine yönelik uygulamaları artmıştır (Vaze ve Srivastava, 2007; Doyle ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2009; Wang ve ark., 2013).

Bu çalışmada çok duvarlı karbon nanotüp ile fonksiyonlandırılmış kaliksaren elektrot modifiye malzemesi olarak kullanılarak ondansetron tayini için elektrokimyasal sensör hazırlandı. Literatürde rapor edilen ondansetronun elektrokimyasal tayinine yönelik çalışmalar (Zaabal ve ark., 2018; Nigovic ve ark., 2004) olmasına rağmen ondansetronun elektrokimyasal tayini için kaliksarenin elektrot modifiye malzemesi olarak kullanıldığı çalışma daha önce rapor edilmemiştir. Yüzey modifikasyonunda kullanılan CNT-Calix-DE'nin yüzeyde nasıl dağıldığı taramalı elektron mikroskopu ölçümleri alınarak araştırıldı. Elektrokimyasal sensörün optimum deneysel şartlarını belirlemek için; pH, madde miktarı, biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi gibi çeşitli parametrelerin sensörün akım cevabına etkisi incelendi. Ayrıca sensör için doğrusal çalışma aralığı ve tekrar üretilebilirlik gibi performans faktörleri belirlendi. Çalışmanın son aşamasında ise hazırlanan sensör, farmasötik preparatlarda ondansetron içeriğinin belirlenmesinde kullanıldı.

MATERYAL VE METOT

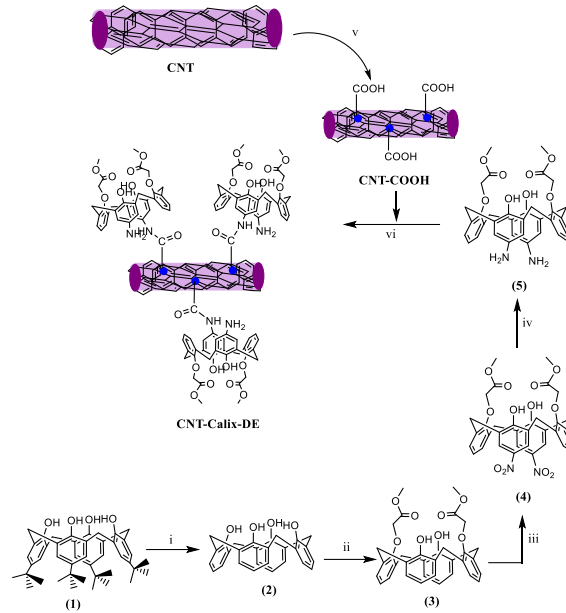
Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

Elektrokimyasal ölçümlerde IVIUM elektrokimyasal analizör kullanıldı. IR spektrumlar, KBr peletleri aracılığı ile Perkin-Elmer 1605 FTIR spektrometre cihazı, elemental analiz ölçümleri ise Leco CHNS-932 analizör kullanılarak alındı. Çözeltilerin pH değerleri VWR pH 110L pH metre ve bağlı pH elektrodu ile ayarlandı. Ondansetron Sigma-Aldrich, sodyum dihidrojen fosfat monohidrat (%99.0-102.0), di-sodyum hidrojen fosfat dihidrat (%99.5), potasyum heksaziyanoferrat (III) (> %99.0) ve potasyum heksaziyanoferrat (II) trihidrat (%99.5) Merck ve Zofer ampul (4 mg 2 mL⁻¹) ise Adeka firmalarından temin edildi. Elektrot yüzey modifikasyonunda kullanılan kaliksaren bazlı karbon nanotüp (CNT-Calix-DE) laboratuvar ortamında sentezlendi. Standart çözeltiler, Millipore Milli-Q Plus su arıtma sisteminden elde edilen saf su ile günlük olarak hazırlandı.

CNT-Calix-DE Sentezi:

CNT-COOH: Karbon nanotüpün karboksillendirilme işlemi literatürde verilen prosedüre göre yapıldı (Zhang ve ark., 2008). Ticari karbon nanotüp (CNT) (2.0 g) 25 mL HNO₃ ve 75 mL H₂SO₄ karışımı ile oda sıcaklığında 1 gün etkileştirildi. Karışım dikkatli bir şekilde Et₂O ile etkileştirilerek fazla asit uzaklaştırıldı. Sonra su ile nötral pH a kadar yıkandı ve vakum etüvünde 70 °C de kurutuldu.

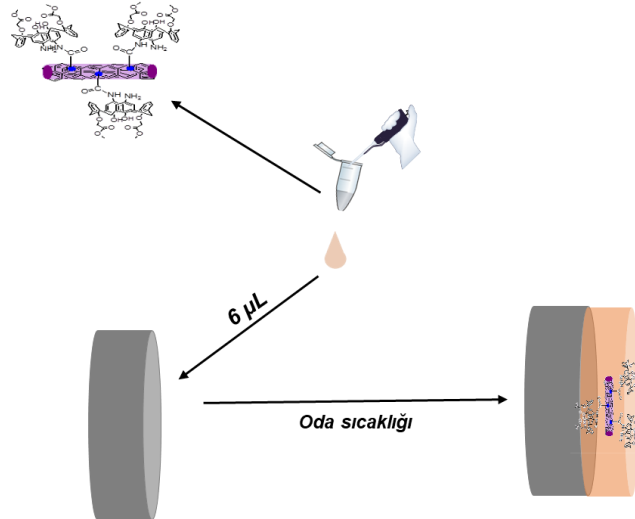
CNT-Calix-DE :CNT-COOH (0.4 g), DCC(Disikloheksilkarbodimit) (0.25 g, 1.21 mmol) ve HOBt(1-hidroksibenzotriazol) (0.16 g, 1.21 mmol) nin 15 mL DMF(Dimetilformamit) deki karışımına diamin **5** (0.4 g, 0.668 mmol) ilave edilerek karışım 3 gün oda sıcaklığında karıştırıldı. Karışım sonra süzüldü, CH₂Cl₂ ve distile su ile birkaç kez yıkandı. Elde edilen katı vakum etüvünde kurutuldu. CNT-Calix-DE sentezinin işlem basamakları Şekil 2'de gösterildi.



Şekil 2. Karboksillendirilmiş karbon nanotüp (CNT-COOH) üzerine diester-aminokaliksaren immobilizasyonunun şematik olarak gösterimi. Reaksiyon şartları: (i) AlCl₃, fenol, toluen (ii) Metilbromasetat, K₂CO₃, CH₃CN (iii) HNO₃, DCM (iv) Raney-Ni, hidrazin, MeOH (v) HNO₃, H₂SO₄ (vi) DCC, HOBT, DMF

Modifiye Elektrodun Hazırlanması

Modifikasyon işleminden önce, camsız karbon elektrot (GCE) yüzeyi BASi marka temizleme kitleri (MF-2060 PK-4) kullanılarak 0.05 M alümina süspansiyonu ile temizlendi ve elektrot yüzeyi saf su ve etanolde sırasıyla 2 dakika ultrasonik banyoda sonike edildi. Metanolde çözülen CNT-Calix-DE (1 mg mL⁻¹) 'den 6.0 µL GCE yüzeyine damlatıldı. Kurutulduktan sonra, GCE/CNT-Calix-DE çözünmeyen malzemelerin uzaklaşması için saf su ile yıkandı. Elektrot modifikasyon işlemi Şekil 3'te gösterildi.



Şekil 3. Elektrot modifikasyon işlemi

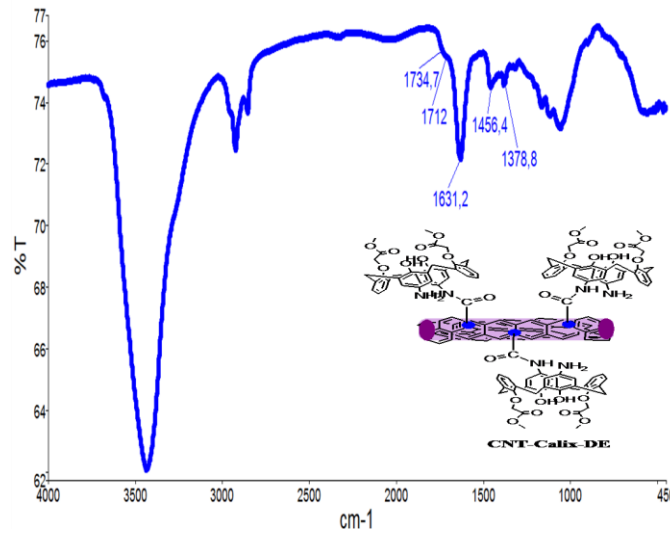
Elektrokimyasal Protokol

GCE, GCE/Calix-DE ve GCE/CNT-Calix-DE 'nin elektrokimyasal karakterizasyonu elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) yöntemi kullanılarak, 0.01 V genlik potansiyeli ile 0.05-100 000Hz frekans aralığında 0.1 M KCl içeren redoks prob çözeltisinde (Fe(CN)₆^{3-/4-}) incelendi. Optimum çalışma şartlarında, GCE/CNT-Calix-DE'in ondansetron cevabı diferansiyel puls anodik sıyırma voltametri (DPASV) yöntemi ile incelendi. Tüm elektrokimyasal ölçümler oda sıcaklığında, 0.1 M fosfat tampon çözeltisinde (PBS) alındı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

CNT-Calix-DE Karakterizasyon

CNT-Calix-DE sentezinin ilk aşamasında ticari olarak alınan karbon nanotüp (CNT) karboksillendirildi. İkinci aşamada ise karboksillendirilmiş CNT üzerine kaliksarenin immobilizasyon işlemi yapıldı. İşlem sonucunda elde edilen verim 0.7 gr'dır. CNT-Calix-DE'nin yapısını detaylı incelemek için FTIR ölçümleri alındı (Şekil 4). FTIR (KBr): 1735, 1712 ve 1631 cm^{-1} (C=O), 1456 ve 1379 cm^{-1} (C=C) (Şekil 4). CNT-COOH üzerindeki hidrazin amid türevi yüklü kaliksarenin miktarı hakkında detaylı bilgi edinebilmek için ise elementel analiz yöntemi kullanıldı. Elementel analiz sonuçları Çizelge 1'de gösterildi.



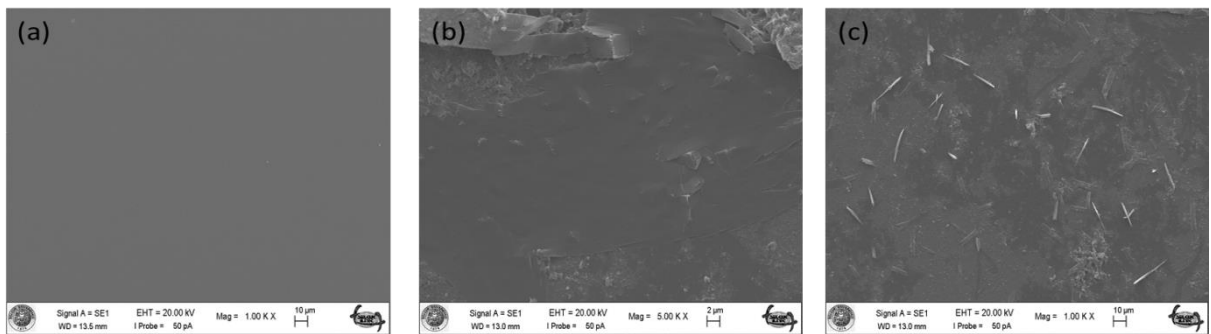
Şekil 4. CNT-Calix-DE maddenin FTIR (KBr) sonuçları

Çizelge 1. CNT-Calix-DE'nin element analiz sonucu

	C (%)	H (%)	N (%)	Bağlanma miktarı (mmol/g) ^a
CNT-Calix-DE	64.97	5.60	9.34	13.34

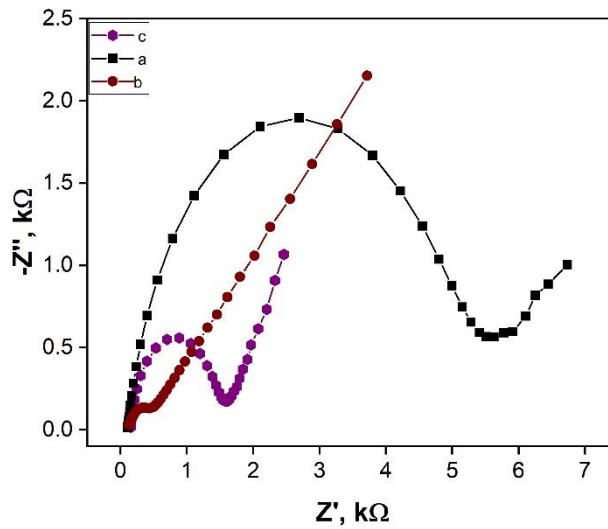
Elektrotların Yüze Morfolojisi ve Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Modifikasyon prosesinde kullanılan malzemelerin yüzeyde nasıl dağıldığını incelemek ve elektrot yüzeyindeki değişimleri belirlemek için GCE, GCE/Calix-DE ve GCE/CNT-Calix-DE'in taramalı elektron mikroskop (SEM) ile ölçümleri alındı. Ölçümler karşılaştırıldığında, GCE yüzeyinin daha pürüzsüz bir görüntü de (Şekil 5a) olduğu, Calix-DE ve CNT-Calix-DE modifiye elektrot yüzeylerinde ise pürüzlülüğün arttığı görüldü. (Şekil 5b ve 5c). Ayrıca SEM görüntüsü CNT-Calix-DE'in GCE yüzeyinde homojen dağıldığı gösterdi (Şekil 5c).



Şekil 5. a) GCE b) GCE/Calix-DE ve c) GCE/CNT-Calix-DE in SEM görüntüleri

Elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), modifikasyon işlemi sonrasında elektrot yüzeylerinde değişen elektron transfer özelliklerini incelemek için kullanıldı. Hazırlanan elektrotların yüzey empedans ölçümleri 0.1 M KCl içeren redoks probunda ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$) alındı ve Nyquist eğrileri çizildi (Şekil 6). Nyquist eğrileri, yüksek frekanslarda sınırlı elektron transferine karşılık gelen bir yarı-dairesel kısım ve düşük frekanslarda difüzyon ile ilişkili bir doğrusal kısımdan oluşur (Liu ve ark., 2006; Wang, 2000). Eğriler incelendiğinde, GCE/Calix-DE'in diğer elektrotlara göre daha yüksek bir yarı-daireye yani en yüksek elektron aktarım direncine sahip olduğu görüldü. Bu yüksek direnç, kaliksarenin elektrot yüzeyinde engelleyici tabaka oluşturmasından dolayı elektron transfer hızının ve elektrot iletkenliğinin azalmasından kaynaklanabilir. Elektrot yüzeyi CNT-Calix-DE birleşimi ile modifiye edildikten sonra ise yarı- daire küçülmekte, elektron aktarım direnci azalmaktadır. CNT'nin, Calix-DE üzerinde elektron aktarımını kolaylaştırıcı ve iletkenliği iyileştirici yönde etki yaptığı söylenebilir.



Şekil 6. Nyquist eğrileri: a) GCE b) GCE/Calix-DE c) GCE/CNT-Calix-DE (0.1 M KCl içeren 0.05 M $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde)

Optimizasyon Parametreleri

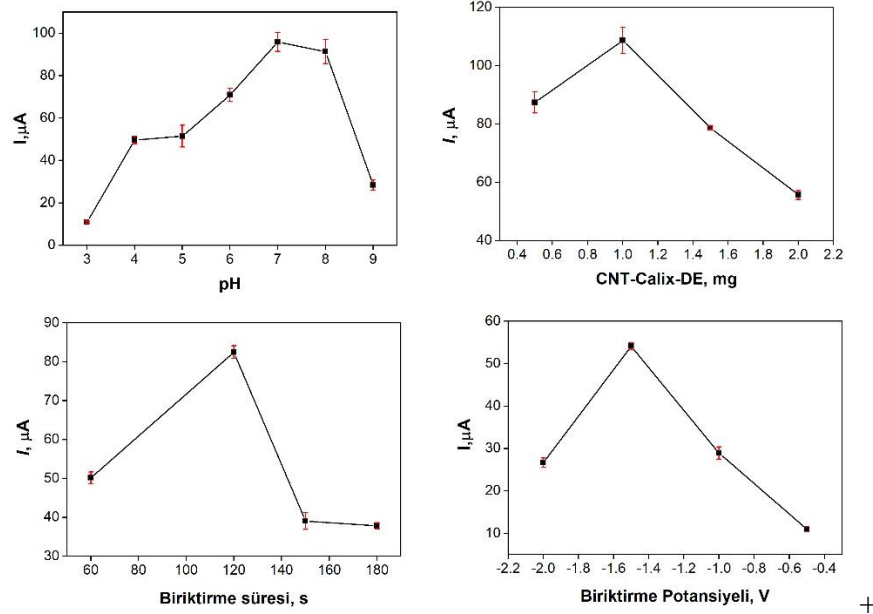
Optimum deneysel koşullara karar vermek için, pH, CNT-Calix-DE miktarı, biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi gibi parametrelerin elektrot cevabına etkisi araştırıldı.

Akım cevabına pH değerinin etkisi, 3.0-9.0 pH aralığında incelendi. Yükseltgenme pik akımında pH 3.0'ten 7.0'ye kadar artma, pH 7.0'den sonra ise pik akımında azalma olduğu görüldü (Şekil 7). Asidik pH değerlerinde, kaliksaren ve ondansetrondaki amin ve karbonil grupları protonlanabileceğinden iki molekül birbirini itecektir. Bazik pH değerlerinde ise, fosfat tamponundaki Na^+ iyonları kaliksarenle etkileşime girebileceğinden ondansetron kaliksaren ile bağlanamaz. Kaliksaren ve ondansetron arasındaki en iyi etkileşimin nötr ortamda gerçekleşeceği düşünüldüğü ve en yüksek akım cevabının da pH 7.0'de elde edilmiş olmasından dolayı, pH 7.0 optimum değer olarak seçildi.

Elektrot yüzey modifikasyonunda kullanılan malzemenin optimize edilmesi, elektrot cevabının iyileştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu amaçla elektrot yüzey modifikasyon malzemesi olarak kullanılan CNT-Calix-DE'nin 4 farklı miktarı (0.5 mg, 1.0 mg, 1.5 mg ve 2.0 mg) 1mL etanolde çözüldü ve hazırlanan bu çözeltiler ile elektrot yüzeyleri modifiye edildi. Hazırlanan elektrotların ondansetrona karşı akım cevapları incelendiğinde, en iyi akım cevabının 1.0 mg CNT-Calix-DE kullanılarak hazırlanan elektrot ile elde edildiği görüldü. Bundan dolayı, ileriki çalışmalarda 1.0 mg optimum miktar olarak kullanıldı.

Sıyırma voltametrilerinde, biriktirme potansiyeli ve biriktirme süresi elektrot cevabını etkileyen önemli parametrelerdir. Pik akımına biriktirme potansiyelinin ve bitirme süresinin etkisi incelendi ve sırasıyla optimum değerler olarak -1.5 V ve 120 s seçildi.

Optimizasyon parametreleri ile ilgili deneysel sonuçlar Şekil 7’de toplu olarak gösterildi.



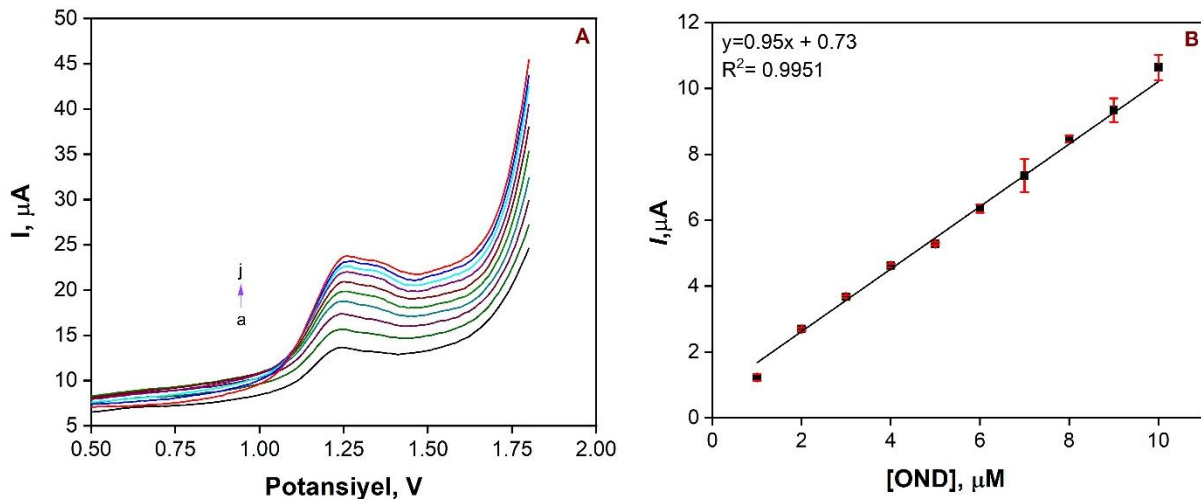
Şekil 7. GCE/CNT-Calix-DE için optimizasyon parametreleri ([OND]: 117.6 μM)

Performans Faktörleri

Ondansetron tayini için hazırlanan elektrodun doğrusal çalışma aralığı ve gözlenebilme sınırı; artık akımın büyük oranda azaltıldığı, bunun sonucu olarak da duyarlılığın arttığı diferansiyel puls anodik sıyırma voltametri (DPASV) yöntemi kullanılarak belirlendi. Optimum deneysel koşullar altında, farklı ondansetron konsantrasyonları için DPASV ile elde edilen akım cevapları grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 8). Şekil incelendiğinde, pik akımları 0.4 μM gözlenebilme sınırı ile 1.0-10.0 μM aralığında ondansetron konsantrasyonu ile orantılı olarak doğrusal olduğu gözlemlendi. Ondansetron tayini için korelasyon eşitliği:

$$I_p(\mu A) = 0.95C_{OND} + 0.73 \quad (R^2 = 0.9951)$$

(1)



Şekil 8. 0.1 M fosfat tamponunda (pH 7.0) GCE/CNT-Calix-DE'nin farklı ondansetron konsantrasyonlarında A) diferansiyel puls anodik sıyırma voltamogramı ve B) kalibrasyon eğrisi (a-j: 1.0-10.0 μM)

Geliştirilen bir sensörün tekrar üretilebilirliğinin iyi olması yani art arda yapılan analizlerde elde edilen sonuçların birbirine yakın olması çok sayıda analizin yapılabilmesi için oldukça önemlidir. Ondansetron tayini için hazırlanan sensörün tekrar üretilebilirliği, optimum CNT-Calix-DE miktarı kullanılarak hazırlanan 3 farklı elektrot ile belirli ondansetron derişimde (5 μM) akım cevaplarının bağıl standart sapmasının (BSS) hesaplanması ile belirlendi. GCE/CNT-Calix-DE için tekrar üretilebilirlik değeri %2.82 olarak bulundu. Sensör sistemlerinin analitik uygulamalardaki kullanılabilirliğinin iyi olduğunun söylenebilmesi için, tekrar üretilebilirlik değerinin %5'ten küçük olması beklenir (Akyüz, 2011). Bu durum göz önüne alındığında, ondansetron tayini için hazırladığımız elektrokimyasal sensörün tekrar üretilebilirlik değeri kabul edilebilir seviyededir.

GCE/CNT-Calix-DE'nin performans faktörleri ve regresyon verileri Çizelge 2'de gösterildi.

Çizelge 2. DPASV yöntemi ile OND tayini için kullanılan GCE/CNT-Calix-DE'nin performans faktörleri ve regresyon verileri

Performans Faktörleri	GCE/CNT-Calix-DE
Doğrusal Çalışma Aralığı, μM	1.0-10.0
Kalibrasyon Denklemi	$I(\mu\text{A})=0.95C_{\text{OND}}+0.73$
Korelasyon Sabiti, R^2	0.9951
Duyarlılık, $\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$	0.95
Eğimin standart sapması, $\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$	4.45×10^{-17}
Kesim noktası, μA	0.73
Kesimin standart sapması, μA	2.71×10^{-16}
LOD, μM	0.4
Tekrar üretilebilirlik, % B.S.S ($N=3$)	2.82

Sensörün Analitik Uygulanabilirliği

Sensörün pratik analizlerde kullanılabilirliği, farmasötik preparatlarda ondansetron tayini yapılarak araştırıldı. Numune çözeltisi hazırlama aşamasında, piyasadan temin edilen farmasötik preparattan (Zofer, Adeka) belirli bir miktar alınarak saf su ile yaklaşık 1/5 oranında seyreltildi. Hazırlanan bu numune çözeltisi kullanılarak OND miktarı standart katma yöntemi ile tayin edildi. Standart katma yönteminde, numune ilaç çözeltisine standart OND çözeltisinden belirli miktarlarda eklemeler yapılarak kalibrasyon eğrileri çizildi ve bu eğriler kullanılarak hesaplamalar yapıldı. Numune çözeltisinde bulunan OND miktarları ve geri kazanım değerleri Çizelge 3'te verildi. Geri kazanım değerlerinin %95.9-%106.8 aralığında olması hazırlanan elektrokimyasal sensörün farmasötik preparatlarda OND tayininde başarılı bir şekilde kullanılabileceğini gösterdi.

Çizelge 3. GCE/CNT-Calix-DE kullanılarak ilaç numunesinde standart katma yöntemi ile elde edilen geri kazanım sonuçları

OND miktarı, mg	Bulunan, mg	% Geri Kazanım
0.73	0.70	95.9
0.73	0.78	106.8
0.73	0.69	94.5
		99.07 \pm 6.73

SONUÇ

Bu çalışmada, farmasötik preparatlarda ondansetron içeriğinin belirlenmesi için elektrokimyasal sensör hazırlanmasında ilk defa kullanılan CNT-Calix-DE'nin elektroaktif yüzeyi artırarak elektrot iletkenliğini iyileştirdiği görüldü. GCE/CNT-Calix-DE'nin, ondansetrona karşı iyi bir duyarlılık (0.95 $\mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$) ve tekrar üretilebilirlik göstermesinin yanı sıra standart katma yöntemi ile elde edilen sonuçlar, bu elektrot kullanılarak farmasötik preparatlarda yüksek doğrulukla ondansetron tayini yapılabileceğini

gösterdi. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, CNT-Calix-DE'nin farmasötik prepatların analizine yönelik sensör uygulamalarında yüzey modifikasyon malzemesi olarak kullanılabilirliği söylenebilir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Akyüz E, 2011. Ürik asit tayini için yeni bir biyosensör geliştirilmesi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Alvarez JC, Charbit B, Grassin Delye S, Demolis JL, Funck Brentano C, Abe E, 2011. Human plasma quantification of droperidol and ondansetron used in preventing postoperative nausea and vomiting with a LC/ESI/MS/MS method. *Journal of Chromatography B*, 879:187-190.
- Arama C, Varvara V, Monciu CM, 2011. Development and validation of a new capillary zone electrophoresis method for the assay of ondansetron. *Farmacia*, 59:34-43.
- Bauer S, Störner E, Kaise R, Tremblay PB, Brockmoller J, Roots I, 2002. Simultaneous determination of ondansetron and tropisetron in human plasma using HPLC with UV detection. *Biomedical Chromatography*, 16:187-190.
- Becker A, Tobias H, Porat ZE, Mandler D, 2008. Detection of uranium(VI) in aqueous solution by a calix[6]arene modified. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 621:214-221.
- Canpolat EC, Sar E, Coskun NY, Cankurtaran H, 2007. Determination of trace amounts of copper in tap water samples with a calix[4]arene modified carbon electrode by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Electroanalysis*, 19:1109-1115.
- Chen M, Meng Y, Zhang W, Zhou J, Xie J, Diao GW, 2013. Beta-cyclodextrin polymer functionalized reduced-graphene oxide: application for electrochemical determination of imidacloprid. *Electrochimica Acta*, 108:1-9.
- Colthup PV, Felgate CC, Palmer JL, Scully NL, 1991. Determination of Ondansetron in Plasma and Its Pharmacokinetics in the Young and Elderly. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80:868-871.
- Colthup PV, Palmer JL, 1989. The determination in plasma and pharmacokinetics of ondansetron. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 25:71-74.
- Del Favero A, Roila F, Tonato M, 1993. Reducing chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Drug Safety*, 9(6):410-428.
- Doyle R, Breslin CB, Rooney AD, 2009. A simple but highly selective electrochemical sensor for dopamine. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 23:93-98.
- Ebdelli R, Rouis A, Mlika R, Bonnamour I, Jaffrezic-Renault N, Ben Ouada H, Davenas J, 2011. Electrochemical impedance detection of Hg²⁺, Ni²⁺ and Eu³⁺ ions by a new azo-calix[4]arene membrane. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 661:31-38.
- Espinosa Boch M, Ruiz Sanchez AJ, Sanchez Rojas F, Bosch Ojeda C, 2017. Review of analytical methodologies for the determination of 5-HT₃ receptor antagonists. *Microchemical Journal*, 132:341-350.
- Honeychurch KC, Hart JP, Cowell DC, Arrigan DWN, 2002. Voltammetric behaviour and trace determination of cadmium at a calixarene modified screen-printed carbon electrode. *Electroanalysis*, 14:177-185.
- Kun Z, Shuai Y, Dongmei T, Yuyang Z, 2013. Electrochemical behaviour of propranolol hydrochloride in neutral solution on calixarene/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 709:99-105.
- Liu C, Yao J, Tang H, Zhu S, Hu J, 2006. The electrochemical behaviour of p-benzenediol on a self-assembled monolayers Pt electrode modified with N-(2-mercapto-1,3,4-thiadiazol-5-yl)-N'(4-substituted-aryl)acetyl)urea. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386:1905-1911.

- Liu Y, Yuan R, Chai Y, Tang D, Dai J, Zhong X, 2006. Direct electrochemistry of horseradish peroxidase immobilized on gold colloid/cysteine/nafion-modified platinum disk electrode. *Sens. Actuators B*, 115:109-115.
- Lu JQ, He XW, Zeng XS, Wan QJ, Zhang ZZ, 2003. Voltammetric determination of mercury(II) in aqueous media using glassy carbon electrodes modified with novel calix[4]arene. *Talanta*, 59:553-560.
- Musshoff F, Madea B, Stüber F, Stamer UM, 2010. Enantioselective Determination of Ondansetron and 8-Hydroxyondansetron in Human Plasma from Recovered Surgery Patients by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*, 34:581-586.
- Nigovic B, 2006. Electrochemical properties and square wave voltammetric determination of pravastatin. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384:431-437.
- Nigovic B, Hocevar SB, 2011. Antimony film electrode for direct cathodic measurement of sulfasalazine. *Electrochimica Acta*, 58:523-527.
- Nigovic B, Sadikovic M, Sertic M, 2004. Multi-walled carbon nanotubes/Nafion composite film modified electrode as a sensor for simultaneous determination of ondansetron and morphine. *Talanta*, 122:187-194.
- Nigovic B, Spajic J, 2011. A novel electrochemical sensor for assaying of antipsychotic drug quetiapine. *Talanta*, 86:393-399.
- Raza A, Ijaz AS, Rehman A, Rasheed U, 2007. Spectrophotometric Determination of Ondansetron Hydrochloride in Pharmaceutical Bulk and Dosage Forms. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 54:223-227.
- Vaze VD, Srivastava AK, 2007. Electrochemical behaviour of folic acid at calixarene based chemically modified electrodes and its determination by adsorptive stripping voltammetry. *Electrochimica Acta*, 53:1713-1721.
- Wang F, Wei XH, Wang CB, Zhang SS, Ye BX, 2010. Langmuir-Blodgett film of p-tert-butylthiacalix[4]arene modified glassy carbon electrode as voltammetric sensor for the determination of Hg(II). *Talanta*, 80:1198-1204.
- Wang F, Wu Y, Lu K, Ye B, 2013. A simple but highly sensitive and selective calixarene-based voltammetric sensor for serotonin. *Electrochimica Acta*, 87:756-762.
- Wilde MI, Markham A, 1996. Ondansetron: A review of its pharmacology and preliminary clinical findings in novel applications. *Drugs*, 52:773-794.
- Zaabal M, Boulache M, Bakirhan NK, Kaddour S, Saidat B, Ozkan SA, 2018. A facile strategy for construction of sensor for detection of ondansetron and investigation of its redox behaviour and thermodynamic parameters. *Electroanalysis*, 30:1-13.
- Zen JM, Kumar AS, Tsai DM, 2003. Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry. *Electroanalysis*, 15:13
- Zhang HL, Liu Y, Lai GS, Yu AM, Huang YM, Jin CM, 2009. Calix[4]arene-crown-4-ether modified glassy carbon electrode for electrochemical determination of norepinephrine. *Analyst*, 134:2141-2146.
- Zhang T, Xu M, He L, Xi, K, Gu, M, 2008. Synthesis, characterization and cytotoxicity of phosphoryl choline-grafted water-soluble carbon nanotubes. *Carbon*, 46:1782-1792.
- Zhou J, Chen M, Diao GW, 2013. Calix-4,6,8-arenesulfonates functionalized reduced graphene oxide with high supramolecular recognition capability: fabrication and application for enhanced host-guest electrochemical recognition. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5:828-836.
- Zhou J, Chen M, Xie J, Diao GW, 2013. Synergistically enhanced electrochemical response of host-guest recognition based on ternary nanocomposites: reduced graphene oxide-amphiphilic pillar[5]arene-gold nanoparticles, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5:11218-11224.

Atf İçin: Köse A, 2021. 4-((3-(Triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit Birimi İçeren Yeni Hidrazon Türevlerinin Sentezi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2870-2879.

To Cite: Köse A, 2021. Synthesis of New Hydrazone Derivatives Bearing 4-((3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)oxy)benzohydrazide. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2870-2879.

4-((3-(Triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit Birimi İçeren Yeni Hidrazon Türevlerinin Sentezi

Aytekin KÖSE^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, 4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit birimi bulunduran yedi yeni hidrazon türevlerinin sentezi gerçekleştirildi. Başlangıç bileşiği olarak kullanılan 4-hidroksibenzoik asit metanol içerisinde katalitik miktarda sülfürik asit ile metil esterine dönüştürüldü. Ester bileşiği, 2-bromo-3(triflorometil)piridin ile reaksiyona sokularak 4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzoikasit metil esteri elde edildi. Daha sonra Ester bileşiği hidrazin hidrat ile hidrazitine dönüştürüldü. Hidrazit bileşiği seçilmiş sübtitüe aldehytler ile katılma-eliminasyon reaksiyonuna maruz bırakılarak hedef hidrazon türevleri sentezlendi. Sentezlenen bileşiklerin yapıları ¹H, ¹³C NMR ve HRMS spektroskopileri ile aydınlatıldı. Toplamda dört kademe organik sentez, basit kimyasal modifikasyonlar, yüksek skalada sentezlenebilme, ucuz kimyasal reaktifler ve kısa sentez süreleri bu çalışmanın avantajları olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Hidrazit, metilparaben, S_NAr mekanizması, hidrazon, 2-bromo-3(triflorometil)piridin, kondenzasyon reaksiyonu

Synthesis of New Hydrazone Derivatives Bearing 4-((3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)oxy)benzohydrazide

ABSTRACT: In this work, seven new hydrazone derivatives containing 4-((3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)oxy) benzohydrazide unit were synthesized. The 4-hydroxybenzoic acid used as the starting compound was converted to its methyl ester with a catalytic amount of sulfuric acid in methanol. The ester compound was reacted with 2-bromo-3-(trifluoromethyl)pyridine to give 4-((3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)oxy)benzoic acid methyl ester. The ester compound was then converted to hydrazide with hydrazine hydrate. Target hydrazone derivatives were synthesized by reacting the hydrazide compound with selected substituted aldehydes via an addition-elimination reaction. The structures of the synthesized compounds were elucidated by ¹H, ¹³C NMR and HRMS spectroscopies. In total, four steps of organic synthesis, simple chemical modifications, high-scaled synthesizing, cheap chemical reagents and short synthesis times were determined as the advantages of this study.

Keywords: Hydrazide, methylparaben, S_NAr mechanism, hydrazone, 2-bromo-3-(trifluoromethyl)pyridine, condensation reaction

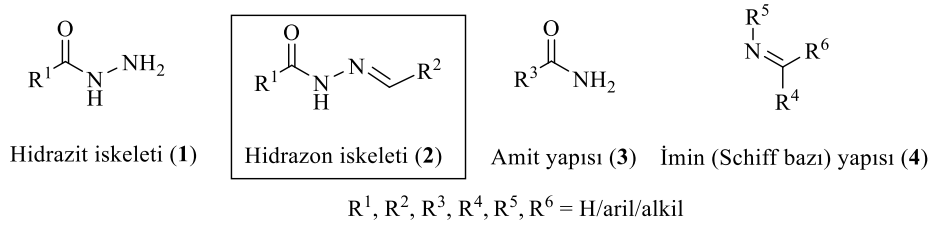
¹Aytekin KÖSE (Orcid ID: 0000-0003-2448-3716), Aksaray Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Aksaray, Türkiye, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Aytekin KÖSE, e-mail: aytekinose@aksaray.edu.tr

GİRİŞ

Reaktif azometin grubu (CO–NH–N=CH) içeren hidrazit yapısındaki bileşikler, pek çok ilaç molekülünün gelişimine ve oluşumuna katkı sağlayan önemli organik moleküllerdir. Bu grubu yapısında bulunduran ilaçlar anti-inflamasyon (Salgın-Gökşen ve ark., 2007), anti-mikobakteriyal (Mamolo ve ark., 2003), anti-mikrobiyal (Cukurovali ve ark., 2006), analjezik (Lima ve ark., 2000), anti-malaryal, anti-viral, anti-tümör (Rollas ve Küçükgüzel 2007; Lisina ve ark., 2008) gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca monoaminoksidaz (MAO), siklooksijenaz (COX), hidrolaz gibi pek çok enzimi inhibe ettiğinden dolayı hidrazitlerin önemi her geçen gün artmaktadır (Cywin ve ark., 2003; Raghav ve Singh, 2014; Evranos-Aksöz ve ark., 2015).

Diğer taraftan hidrazitlerden elde edilen hidrazonların bilinen farmakolojik ve farmakokinetik özelliklerinden dolayı çalışma alanları büyük bir hızla genişlemekte ve her geçen gün yeni yapılar sentezlenerek yeni biyokimyasal özellikleri rapor edilmektedir. Bu nedenle bu sınıfa dahil olan organik yapıların sentezi oldukça önem taşımaktadır. Hidrazonlar, imin (schiff bazı) 4 ve amit 3 birimi içeren bileşiklerdir. Bu sınıf bileşiklerin sentezleri genellikle aldehitler veya ketonlar ile hidrazitler arasında katalitik miktarda asetik asit varlığında ve çözücüsüz veya polar çözücüler içerisinde, yüksek ısıda, bir molekül su çıkışı ile gerçekleşmektedir (Siddiqui ve ark., 2012; Taha ve ark., 2013; Backes ve ark. 2014; Oliveira ve ark., 2014).



Şekil 1. Hidrazit **1**, hidrazon **2**, amit **3** ve iminlerin **4** genel yapıları.

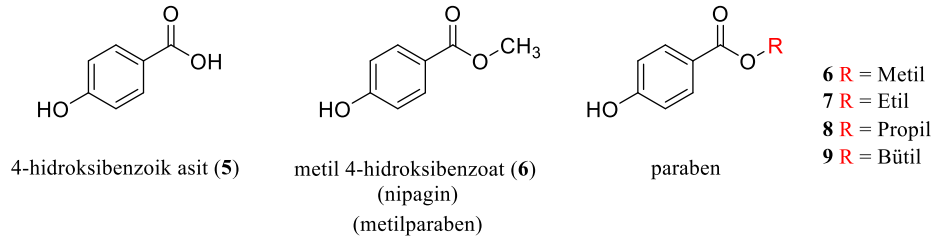
Bu tür reaksiyonlarda, R¹-R⁶ ile gösterilen gruplar sentez çalışmalarında konjugasyonun sağlanabilmesi için genellikle aromatik yapılar olarak tercih edilmekte ve sentezler buna göre tasarlanmaktadır. Hidrazit iskelet yapısındaki **1** nolu moleküle dikkat edilirse iki azot atomu birbirine tekli bağ üzerinden doğrudan bağlı durumdadır. Karbonil grubunun alfa azotu üzerindeki elektronlar karbonil ile konjuge iken beta konumdaki azotun elektronları lokalizedir. Her iki heteroatomun bu şekilde bağlı olması yapıdaki polariteyi artırmakta ve bileşiği suda daha çözünebilir hale getirmektedir. Literatürde de yapılan bazı çalışmalar bu durumu desteklemektedir (Periakaruppan ve ark., 2018).

Hidrazon türevlerinin sentezi üzerine literatürde pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda şekil 1 de gösterilen iskelet yapıdaki R grupları genellikle süstitüe aromatik bileşiklerdir. Sapura ve grubu 4-hidroksibenzoikasitten (**5**) başlayarak toplamda on sekiz adet hidrazon molekülü sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin hepsinde R² ile gösterilen aromatik halka üzerinde OCH₃, N(CH₃)₂, NO₂ grupları içeren aldehitlerin kondenzasyon reaksiyonunu incelemişlerdir. Bu bileşiklerin kalitatif yapı aktivite ilişkisi (QSAR) ve anti-mikrobiyal çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Sapura ve ark., 2014). Bhole ve Bhusari tarafından 4-hidroksibenzoik asit ile anti-hipertansif aktivite ve 3D-QSAR çalışmaları rapor edilmiştir. Şekil 1'de **2** nolu yapıdaki R² grubunda çeşitli alkil, süstitüe fenil ve heteroaril grupları bulunduran yapılar ile gerçekleştirilen çalışmada toplamda on dört molekül sentezlenmiş ve 3D-QSAR çalışmaları yardımıyla bu yapılardan bazılarının anti-hipertansif aktivite gösterdiği kan basınç seviyelerinde yapılan test ölçüm metotları ile belirlenmiştir (Bhole ve Bhusari, 2011). Nurkenov ve grubu 2- ve 4-hidroksibenzoik asitler ile farklı süstitüe aromatik aldehitleri kondanse ederek sentezledikleri yirmi üç adet fenolik yapıdaki hidrazon bileşikleri ile katepsin E ve elastaz enzimleri

üzerinde inhibisyon çalışmaları yapmışlardır. Çalışmalar neticesinde bu enzimleri inhibe edebilen bazı yapıların olduğu belirlenmiş ve bu bileşikler moleküler modelleme çalışmaları ile desteklenmiştir (Nurkenov ve ark., 2017). Burada sunulan çalışmada literatürde bilinmeyen yedi adet yeni hidrazon bileşiği sentezlendi ve bu bileşiklerin sentez metodolojisi ve yapıları spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatıldı.

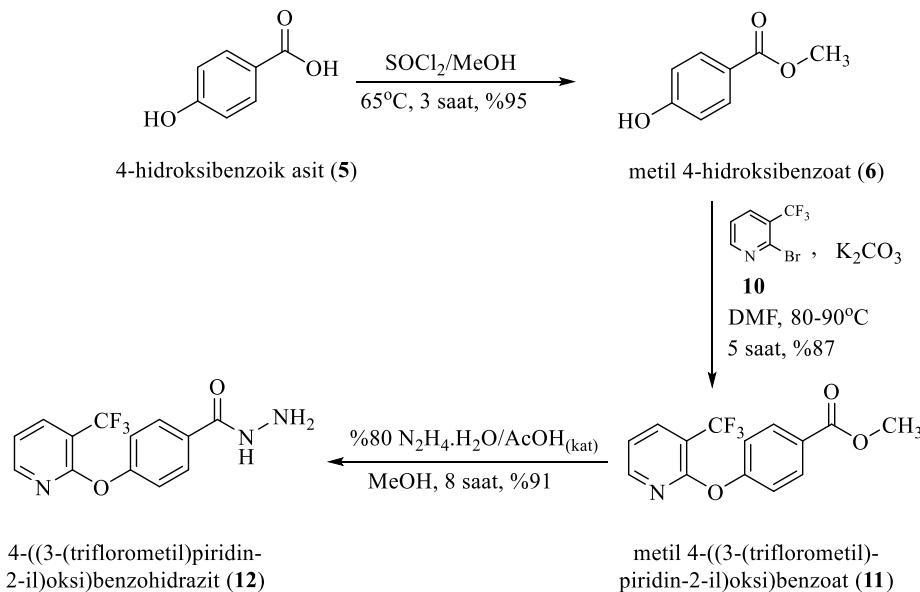
MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada yeni hidrazon türevi bileşiklerin sentezleri literatürde bilinen metotlar kullanılarak gerçekleştirildi. Tasarlanan sentez stratejisine göre, sentezlerde aromatik nükleofilik yer değiştirme ve kondenzasyon reaksiyonları kullanıldı. Hedef ürünlerin sentezi için ilk etapta dört basamaklı reaksiyon serisi planlandı ve mikro ölçekli olarak çalışıldı. İstenilen yapıları oluşturabilmek için öncelikli olarak tasarlanan sentez planında dört pozisyonundan piridinoksi türevi ile süstitüe olmuş benzohidrazitin sentezi gerçekleştirildi. Bu hidrazit birimi ve ilgili aldehytler arasında gerçekleşen kondenzasyon reaksiyonları neticesinde hedef hidrazon bileşikleri elde edildi.



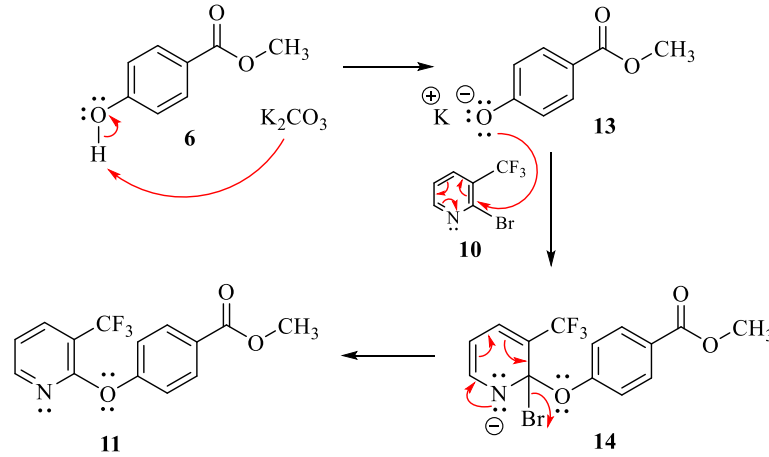
Şekil 2. 4-hidroksibenzoikasit (5) ve bunun ester formları (6-9).

Hidrazit bileşiğinin sentezi için başlangıç bileşiği olarak 4-hidroksibenzoik asit (5) kullanıldı. İlk olarak bu yapıdaki karboksilik asit, metil esterine dönüştürüldü. Ester 6, metilparaben olarak da bilinen metil 4-hidroksibenzoat bileşiğidir (şekil 2). Bu bileşiğin diğer adı ise nipagin'dir. Metil 4-hidroksibenzoat (6) bileşiği bazı kaynaklarda sadece paraben olarak ifade edilse de gerçekte metilparabendir. Paraben adı ise genel olarak 4-hidroksibenzoik asitin ester yapısındaki türevlerini (metil 6, etil 7, propil 8 veya bütil paraben 9) ifade etmek için kullanılmaktadır (Andersen, 2008). Metilparaben (6) ilaç ve kozmetikte çok sıklıkla kullanılan koruyucu bir malzemedir.



Şekil 3. Başlangıç bileşiği olarak 4-hidroksibenzoik asit (5) kullanılarak sentezi gerçekleştirilen reaksiyonların ilk üç kademesi

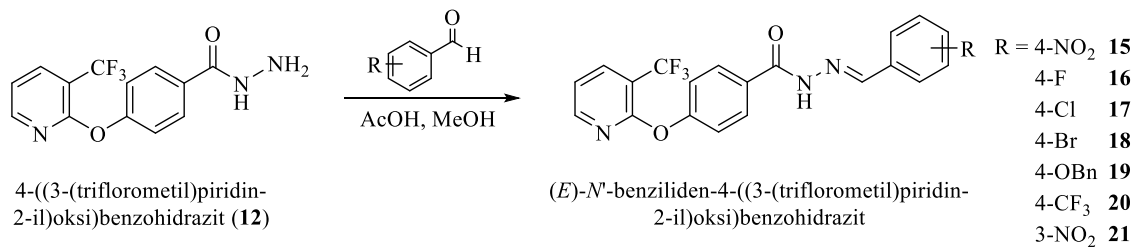
4-Hidroksibenzoik asit (**5**), metil ester yapısına metanol içerisinde tiyonil klorür kullanılarak ve 3 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılarak dönüştürüldü. Bu sürenin sonunda %95 verimle metil 4-hidroksibenzoat (**6**) elde edildi. Böylece, sonraki reaksiyonlar için karboksilik asit grubu korunmuş oldu. Metil 4-hidroksibenzoat (**6**) bileşiğinde bulunan hidroksil grubu, 2-bromo-3-(triflorometil)piridin (**10**) ile bazik şartlar altında S_NAr mekanizması üzerinden reaksiyona sokularak **11** nolu diaril eter yapısı elde edildi. Bunun için metil 4-hidroksibenzoat (**6**), 2-bromo-3-(triflorometil)piridin (**10**) ve potasyum karbonat, DMF içerisinde karıştırıldı ve bu karışım 80-90°C'de beş saat boyunca reaksiyona maruz bırakılarak istenilen ürün oluşumu sağlandı (Şekil 3) (Beaulieu ve ark., 2013). Hem triflorometil grubu hem de azot atomu kuvvetli elektron çekici gruplar olduğundan **10** nolu yapıdaki bromun bağlı olduğu karbon atomu oldukça elektropozitifdir.



Şekil 4. 2-Bromo-3-(triflorometil)piridin (**10**) ile metilparaben (**6**) arasında gerçekleştirilen S_NAr reaksiyonunun mekanizması

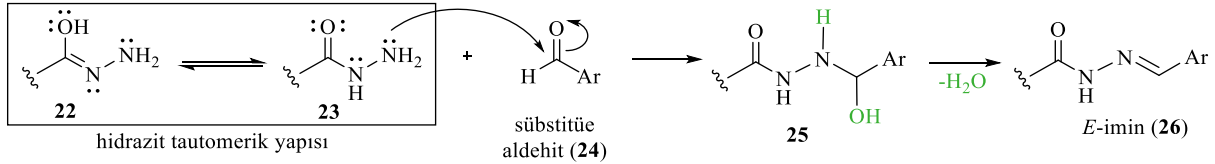
Çalışmanın bu kademesi (2. kademe) nükleofilik aromatik süstitüsyon (S_NAr) tepkimesidir. Bu reaksiyon 80-90°C'de ve polaritesi yüksek çözücülerde (DMF, DMSO, MeCN) yapılmaktadır. Bu kademedede, ester **6** bileşiğindeki fenol birimi kullanılan bazla fenoksit **13**'e dönüştürülmekte ve fenoksit anyonu **13**, 2-bromo-3-(triflorometil)piridin (**10**) bileşiğinin elektropozitif konumda olan iki numaralı karbonuna saldırmakta ve bu yapının aromatikliğini bozmaktadır. Şekil 4'te görülen mekanizma üzerinden elektronların delokalizasyonu ile aromatiklik geri kazanılırken brom atomu yapıdan ayrılmaktadır.

Bu kademenin ardından piridin-2-oksi türevi **11** nolu bileşikteki ester fonksiyonel grubu hidrazin hidrat ile yer değiştirme reaksiyonuna tabi tutuldu ve **12** nolu hidrazit türevi elde edildi. Hidrazin hidrat kullanılarak, katalitik miktarda asetik asit varlığında metanol içerisinde sekiz saat kaynatmak suretiyle elde edilen hidrazit bileşiği, hedef bileşiklerin sentezi için anahtar bileşik olarak kullanıldı. Hidrazon bileşiklerini sentezlemek için aromatik halkada çeşitli süstitüe grupların bulunduğu benzaldehit türevlerinin kullanılması planlandı.



Şekil 5. Süstitüe aldehitler kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyon kademesi ve oluşan hidrazon yapıları (**15-21**)

12 nolu bileşik, sübtitüe benzaldehitler ile metanol içerisinde ve katalitik miktarda asetik asit varlığında istenilen hidrazit yapılarına dönüştürüldü (Şekil 5). Bu kademe için 4-nitrobenzaldehyt, 4-florobenzaldehyt, 4-klorobenzaldehyt, 4-bromobenzaldehyt, 4-benziloksibenzaldehyt, 4-triflorometilbenzaldehyt ve 3-nitrobenzaldehyt seçilerek bir molekül su çıkışı ile istenilen hidrazitlerin sentezi gerçekleştirildi. Sentezlenen bileşiklerinin verimlerinin %38-96 arasında olduğu yapılan saflaştırmalar sonrası belirlendi (Çizelge 1). Kondenzasyon reaksiyonu hidrazit molekülündeki karbonil grubuna göre beta pozisyonda bulunan azot atomu üzerinden gerçekleşmektedir. Çünkü bu azot atomunun nükleofilik özelliği komşu azota göre daha fazladır.

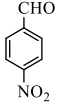
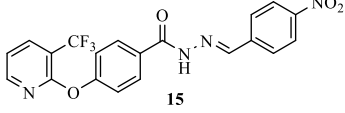
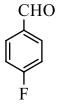
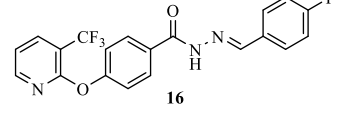
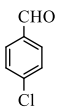
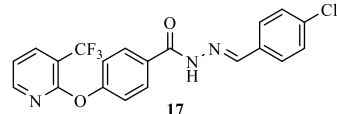
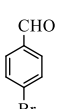
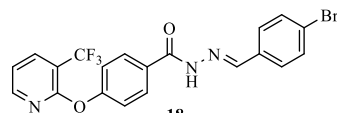
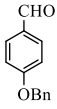
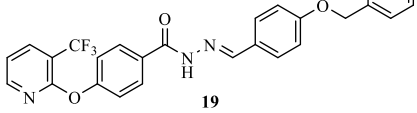
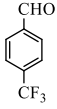
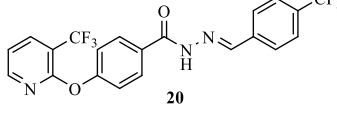
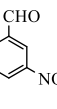
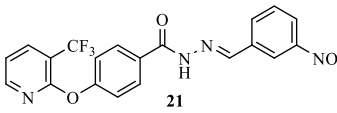


Şekil 6. Hidrazit türevi ile aromatik aldehitler arasında gerçekleştirilen kondenzasyon tepkimesi.

Hidrazit türevi bileşiklerin tautomer yapısı şekil 6'da görülmektedir. **23** nolu yapının beta pozisyonunda bulunan azot atomu, üzerindeki lokalize halde bulunan elektron çifti ile güçlü nükleofilik özelliktedir. Bu azotun aldehit karboniline atak yapması sonucu ilk olarak **25** nolu yapı oluşmaktadır. Burada oluşan hidroksil grubu molekülden, proton ile birlikte su molekülü halinde elimine olmakta ve stereospesifik olarak *E*- konfigürasyona sahip imin **26** tek ürün olarak oluşmaktadır. Bu kademeden itici gücü, yapıdan ayrılan su molekülünün kararlılığı ve oluşan çift bağın aromatik halka ile yaptığı konjugasyondur.

Çizelge 1'de, sentezlenen hidrazonların ve kullanılan aldehitlerin açık yapıları, reaksiyon süreleri, erime noktaları ve verimler görülmektedir. Toplamda dört kademe ile hedef ürünlerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezler değerlendirildiğinde; çalışma, basit kimyasal transformasyonlar, kısa reaksiyon süreleri, yüksek skalada çalışabilme imkanı, ticari olarak ucuz reaktiflerin kullanımı, reaksiyon sonrası çöktürme yöntemi (ekstraksiyon veya kolon kromatografisi gerektirmeyen) ile saflaştırılmaları, herhangi bir asimetric merkez içermediği için izomer oluşmaması ve yan ürün oluşumuna imkan vermemeleri gibi avantajlar sağlamaktadır. Çalışma, bu ürünlerin literatüre ilk kez kazandırılmaları ve potansiyel biyoaktif özelliğe sahip olmalarından dolayı önem arz etmektedir. Sentezlenen tüm yapıların karakterizasyonları spektroskopik yöntemler kullanılarak gerçekleştirildi. Özellikle, 2-bromo-3-(triflorometil)piridin (**10**) bileşiğinin ana iskelet yapısına bağlanmadan önce ve bağlandıktan sonra alınan sonuç spektrumlardaki kimyasal kayma değerlerindeki değişimler, yapı aydınlatma işleminde oldukça kolaylık sağladı. Reaksiyon sonucu oluşan ürünlerdeki aromatik halka protonlarının başlangıç bileşiklerindeki aromatik halka protonlarına göre elektron yoğunluğuna bağlı olarak kimyasal kayma değerlerinde küçük değişimler gözlemlendi. Örneğin, reaksiyondan önce **6** nolu molekülde fenolik hidroksil grubu aromatik halkaya mezomerik olarak elektron sağlarken piridin grubunun bağlanmasından sonra elektronlar her iki halkaya dağılmasıyla halkalardaki elektron yoğunluğu ve buna bağlı olarak kimyasal kaymalarda farklılıklar meydana geldi. Bu durum, ¹H NMR spektrumundaki aromatik bölgenin analizinde kolaylaştırmıştır.

Çizelge 1. Aldehitlerin ve sentezlenen sonuç ürünlerin açık yapıları, erime noktaları, sentez süreleri ve saflaştırma sonrası elde edilen verimleri

Sıra	Aldehit	Hidrazon yapısı	Reaksiyon süresi (saat)	Erime noktası	Verim(%)
1			3	136-138°C	86
2			3	179-181°C	88
3			3	107-109°C	96
4			3	112-114°C	51
5			4	203-205°C	87
6			5	191-193°C	60
7			8	190-192°C	38

BULGULAR VE TARTIŞMA

Genel

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözücüler ticari olarak satın alındı. Sentezlenen tüm ürünlerin karakterizasyonları spektroskopik yöntemler kullanılarak analiz edildi. NMR spektrumları 500 MHz (¹H) ve 125 MHz (¹³C) Bruker cihazı ile hem CDCl₃ hem de DMSO-*d*₆ kullanılarak gerçekleştirildi. Erime noktası ölçümü Buchi melting point B-450 aleti ile yapıldı. Kütle spektrumları, ESI yöntemi ile 70 eV voltajda ThermoFinnigan yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi cihazı ile ölçüldü. Kromatografik saflaştırmalar 60 Å (52-73 Å), 70-230 mesh ASTM, 63-200 µm silika jel ile yapıldı.

Metil 4-hidroksibenzoat (metilparaben) (6) Sentezi:

4-Hidroksibenzoik asit (**5**) (5.0 g, 36.20 mmol) metanol (120 mL) içerisinde çözüldü ve çözelti 0°C'ye buz banyosu yardımı ile soğutuldu. Bu çözelti üzerine tiyonil klorür (5.17 g, 3.15 mL, 43.44 mmol) yavaşça, damla damla ilave edildi. İlave bittikten sonra buz banyosu uzaklaştırıldı ve reaksiyon karışımı 3 saat boyunca 65°C'de geri soğutucu altında kaynatıldı. Süre sonunda karışım oda sıcaklığına getirildi ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Kalıntı etil asetat ile seyreltilerek su ile ekstraksiyon işlemine

tabi tutuldu. Sulu faz etil asetat ile üç kez yıkandıktan sonra birleştirilen organik fazlar sodyum sülfat ile kurutuldu. Yüksek vakum altında çözücü uzaklaştırıldı ve metil 4-hidroksibenzoat (**6**), hafif sarı renkli katı madde olarak elde edildi (5.25 g, 34.51 mmol, %95 verim). **Erime noktası:** 123-125°C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.35 (*s*, 1H), 7.83-7.80 (*m*, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, 2H), 6.87-6.84 (*m*, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, 2H), 3.77 (*s*, 3H). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 166.5, 162.4, 131.8, 120.7, 115.7, 51.9.

Metil 4-((3-(triflorometil)-piridin-2-il)oksi)benzoat (**11**) Sentezi:

Metil 4-hidroksibenzoat (**6**) (1.0 g, 6.57 mmol), 2-bromo-3(triflorometil)piridin (**10**) (1.63 g, 7.23 mmol), ve potasyum karbonat (1.82 g, 13.15 mmol) DMF (20 mL) içerisinde karıştırıldı ve bu karışım 80-90°C'ye ısıtılarak reaksiyon başlatıldı. Geri soğutucu altında 5 saat boyunca reaksiyon karıştırıldı. Bu sürenin sonunda ince tabaka kromatografisi yapılarak metil 4-hidroksibenzoat (**6**) bileşiğinin bittiği anlaşıldı ve reaksiyon durduruldu. Oda sıcaklığına getirilen reaksiyon karışımının çözücüsü yüksek vakum ve yüksek sıcaklık altında uzaklaştırıldı. Kalıntı etil asetat ile seyreltildi ve doygun tuzlu su eklenerek ekstraksiyon yapıldı. Sulu faz üç kez etil asetat ile yıkandıktan sonra organik fazlar birleştirilerek sodyum sülfat üzerinden kurutuldu. Evaporatörde çözücü uzaklaştırıldı ve kalan kısım kolon kromatografisi ile (EtOAc-Hekzan) saflaştırıldı. Kolon sonrası beyaz renkli katı bir madde olarak metil 4-((3-(triflorometil)-piridin-2-il)oksi)benzoat (**11**) elde edildi (1.7 g, 5.72 mmol, %87 verim). **Erime noktası:** 56-58°C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.20 (*dd*, *J* = 5.0, 1.5 Hz, 1H), 8.02 (*m*, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, 2H), 7.91 (*dd*, *J* = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 7.15-7.12 (*m*, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, 2H), 7.03 (*dd*, *J* = 7.5, 5.5 Hz, 1H), 3.82 (*s*, 3H).

4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (**12**) Sentezi:

Metil 4-((3-(triflorometil)-piridin-2-il)oksi)benzoat (**11**) (1.0 g, 3.36 mmol) bileşiği metanol (50 mL) içerisinde çözüldü. Üzerine %80'lik hidrazin hidrat (0.63 mL, 10.09 mmol) ve katalitik oranda (%10 mol) asetik asit eklendi. Karışım yaklaşık 65°C'de sekiz saat boyunca kaynatıldı. Başlangıç bileşiğinin tükendiği ince tabaka kromatografisi ile anlaşıldı ve reaksiyon durdurularak oda sıcaklığına getirildi. Reaksiyon çözücüsü vakumda uzaklaştırıldı ve kalıntı çok az metanol içerisinde tekrar çözüldü. Üzerine eter ilave edilerek karıştırmak suretiyle çökmesi sağlandı. Yaklaşık yarım saatlik bir karıştırma işleminin ardından oluşan katı-sıvı karışımından, katı kısımda bulunan 4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (**12**) süzme yöntemi ile ayrıldı ve eter ile yıkanarak kurutuldu (0.91 g, 3.06 mmol, %91 verim). **Erime noktası:** 183-185°C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.46 (*bs*, 1H), 8.57 (*d*, 1H, *J* = 3.5 Hz), 8.10 (*d*, 1H, *J* = 9.0 Hz), 8.01 (*dd*, 1H, *J* = 7.5, 1.00 Hz), 7.44 (*dd*, 1H, *J* = 8.0, 5.0 Hz), 7.28 (*d*, 1H, *J* = 2.0 Hz), 7.10 (*dd*, 1H, *J* = 9.0, 3.0 Hz).

4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (**12**)'in Aldehitler ile Verdiği Kondenzasyon Reaksiyonunun Genel Sentez Prosedürü:

4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (**11**) (0.1 g, 0.34 mmol) bileşiği metanol (40 mL) içerisinde çözüldü ve üzerine aldehit bileşiği (0.41 mmol) ilave edildi. Katalitik miktarda (%10 mol) asetik asit ilavesi ile reaksiyon kaynatıldı. Çizelge 1'de gösterilen sürelerde reaksiyonlar (ince tabaka kromatografisi yapılarak) durduruldu. Metanol vakumda uzaklaştırıldı ve kalan kısım çok az miktarda metanol ile seyreltildi. Bu karışıma çöktürme yöntemi uygulanarak hidrazon yapıları **15-21** saflaştırıldı. Bunun için metanolde çözünen karışımın üzerine çökme gerçekleşene kadar eter ilave edildi. Katı kısım süzme işlemi ile ayrıldı, eter ile yıkandı ve kurutulularak miktarı tartıldı.

(*E*)-*N'*-(4-nitrobenziliden)-4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (**15**): 0.125 g, 0.290 mmol, %86 verim. **Erime noktası:** 136-138°C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.13 (*bs*, 1H), 8.50 (*bs*, 1H), 8.35 (*d*, 1H, *J* = 4.0 Hz), 8.22-8.17 (*m*, 3H), 7.99 (*d*, 2H, *J* = 8.5 Hz), 7.92 (*d*, 2H, *J*

= 8.0 Hz), 7.30 (*dd*, 1H, $J = 7.5, 5.5$ Hz), 7.27 (*d*, 2H, $J = 8.5$ Hz). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ 163.1, 159.5, 156.3, 152.1, 148.3, 145.7, 141.1, 138.5 (*q*, $J = 4.4$ Hz), 130.4, 130.1, 128.4, 124.5, 123.3 (*q*, $J = 270.2$ Hz), 121.9, 119.9, 113.4 (*q*, $J = 32.6$ Hz). HRMS (M-H $^+$, ESI, 70 eV); C₂₀H₁₃F₃N₄O₄-H $^+$ hesaplanan: 429.08106; bulunan: 429.08127.

(*E*)-*N*'-(4-florobenziliden)-4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (16): 0.120 g, 0.297 mmol, %88 verim. Erime noktası: 179-181°C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 8.24-8.21 (*m*, 2H), 8.08 (*dd*, 1H, $J = 8.0, 1.5$ Hz), 7.92 (*d*, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.82-7.76 (*m*, 2H), 7.21-7.18 (*m*, 3H), 7.08-7.05 (*m*, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ 164.8, 162.2 (*d*, $J = 248.4$ Hz), 159.5, 156.6, 150.9, 147.9, 137.4 (*q*, $J = 4.5$ Hz), 130.6 (*d*, $J = 3.1$ Hz), 129.5 (*d*, $J = 8.75$ Hz), 129.2, 122.8 (*q*, $J = 269.5$ Hz), 121.1, 118.9, 115.5, 115.3, 114.2 (*q*, $J = 33.2$ Hz). HRMS (M-H $^+$, ESI, 70 eV); C₂₀H₁₃F₄N₃O₂-H $^+$ hesaplanan: 402.08656; bulunan: 402.08673.

(*E*)-*N*'-(4-klorobenziliden)-4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (17): 0.135 g, 0.321 mmol, %96 verim. Erime noktası: 107-109°C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 12.01 (*bs*, 1H), 8.49 (*bs*, 1H), 8.42 (*d*, 1H, $J = 4.0$ Hz), 8.28 (*d*, 1H, $J = 7.5$ Hz), 8.04 (*d*, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.76 (*d*, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.50 (*d*, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.37 (*dd*, 1H, $J = 7.5, 5.0$ Hz), 7.33 (*d*, 2H, $J = 8.5$ Hz). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ 162.9, 159.5, 156.2, 152.1, 146.9, 138.4 (*q*, $J = 4.5$ Hz), 135.0, 133.7, 130.6, 130.0, 129.4, 129.1, 123.2 (*q*, $J = 270.1$ Hz), 121.8, 119.8, 113.4 (*q*, $J = 32.9$ Hz). HRMS (M-H $^+$, ESI, 70 eV); C₂₀H₁₃ClF₃N₃O₂-H $^+$ hesaplanan: 418.05701; bulunan: 418.05736.

(*E*)-*N*'-(4-bromobenziliden)-4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (18): 0.08 g, 0.172 mmol, %51 verim. Erime noktası: 112-114°C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 12.00 (*bs*, 1H), 8.46 (*s*, 1H), 8.42 (*d*, 1H, $J = 3.5$ Hz), 8.29 (*dd*, 1H, $J = 7.5, 1.0$ Hz), 8.03 (*d*, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.70 (*d*, 2H, AB sisteminin A kısmı, $J = 8.5$ Hz), 7.65 (*d*, 2H, AB sisteminin B kısmı, $J = 8.5$ Hz), 7.38 (*dd*, 1H, $J = 7.5, 5.0$ Hz), 7.34 (*d*, 2H, $J = 8.5$ Hz). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ 162.9, 159.5, 156.2, 152.1, 147.0, 138.5 (*q*, $J = 4.12$ Hz), 134.1, 132.7, 132.3, 131.7, 130.0, 129.4, 123.8, 123.2 (*q*, $J = 270.4$ Hz), 121.8, 119.9, 113.4 (*q*, $J = 32.7$ Hz). HRMS (M-H $^+$, ESI, 70 eV); C₂₀H₁₃BrF₃N₃O₂-H $^+$ hesaplanan: 462.00650; bulunan: 462.00687.

(*E*)-*N*'-(4-(benziloksi)benziliden)-4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (19): 0.144 g, 0.293 mmol, %87 verim. Erime noktası: 203-205°C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 11.79 (*bs*, 1H), 8.44-8.41 (*m*, 2H), 8.31 (*dd*, 1H, $J = 7.5, 1.5$ Hz), 8.01 (*d*, 2H, $J = 9.0$ Hz), 7.70 (*d*, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.48 (*d*, 2H, $J = 7.5$ Hz), 7.42-7.32 (*m*, 6H), 7.12 (*d*, 2H, $J = 8.5$ Hz), 5.17 (*s*, 2H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ 162.7, 160.4, 159.5, 156.0, 152.1, 148.1, 138.5 (*q*, $J = 4.12$ Hz), 137.2, 130.9, 129.9, 129.2, 128.9, 128.4, 128.2, 127.6, 123.3, (*q*, $J = 270.0$ Hz), 121.8, 119.9, 115.6, 113.4 (*q*, $J = 32.8$ Hz), 69.8. HRMS (M-H $^+$, ESI, 70 eV); C₂₇H₂₀F₃N₃O₃-H $^+$ hesaplanan: 490.13785; bulunan: 490.13803.

(*E*)-*N*'-(4-(triflorometil)benziliden)-4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (20): 0.092 g, 0.203 mmol, %60 verim. Erime noktası: 191-193°C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 12.11 (*bs*, 1H), 8.55 (*s*, 1H), 8.43 (*d*, 1H, 4.0 Hz), 8.30 (*dd*, 1H, $J = 7.5, 1.5$ Hz), 8.03 (*d*, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.96 (*d*, 2H, $J = 7.5$ Hz), 7.81 (*d*, 2H, $J = 8.0$ Hz), 7.39 (*dd*, 1H, $J = 7.5, 5.0$ Hz), 7.35 (*d*, 2H, $J = 8.0$ Hz). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ 163.0, 159.49, 159.48, 156.3, 152.1, 146.4, 138.8, 138.5 (*q*, $J = 4.25$ Hz), 130.5, 130.3, 130.1, 129.8, 128.1, 126.2 (*q*, $J = 3.25$ Hz), 124.5 (*q*, $J = 270.5$ Hz), 123.2 (*q*, $J = 270.2$ Hz), 113.4 (*q*, $J = 32.9$ Hz). HRMS (M-H $^+$, ESI, 70 eV); C₂₁H₁₃F₆N₃O₂-H $^+$ hesaplanan: 452.08337; bulunan: 452.08365.

(*E*)-*N*'-(3-nitrobenziliden)-4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit (21): 0.055 g, 0.128 mmol, %38 verim. Erime noktası: 190-192°C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 8.76 (*s*, 1H), 8.48 (*s*, 1H), 8.35 (*d*, 1H, $J = 3.5$ Hz), 8.31 (*d*, 1H, $J = 8.0$ Hz), 8.27 (*d*, 1H, $J = 7.5$ Hz), 8.22 (*d*, 1H, $J = 7.5$ Hz), 8.07 (*d*, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.74-7.71 (*m*, 1H), 7.35-7.32 (*m*, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-

d_6): δ 165.5, 165.0, 159.9, 156.8 ($q, J = 4.6$ Hz), 150.9, 148.8, 146.4, 137.5 ($q, J = 4.5$ Hz), 136.2, 132.9, 129.8, 129.3, 129.2, 124.3, 123.8, 121.8, 121.2, 118.9. **HRMS (M-H⁺, ESI, 70 eV)**; C₂₀H₁₃F₃N₄O₄-H⁺ hesaplanan: 429.08106; bulunan: 429.08115.

SONUÇ

Bu çalışmada imin yapısına doğrudan bağlı çeşitli süstitüe benziliden grubu içeren yedi yeni hidrazon türevi sentezlendi. Bileşiklerin yapısı spektroskopik yöntemler ile aydınlatıldı. Sentezler aromatik nükleofilik yer değiştirme (S_NAr) ve kondenzasyon reaksiyonu üzerinden gerçekleştirildi. Sentetik hidrazon yapılarının bilinen biyokimyasal aktiviteleri düşünüldüğünde, bu çalışmada sentezlenen yedi hidrazon türevi bileşiğin daha önce sentezlenmemiş olması ve biyoaktif özelliklere sahip 4-hidroksibenzohidrazit türevlerine alternatif yapılar içermesi bakımından önem taşımaktadır. Devam eden mekanistik sentez çalışmaları neticesinde yeni hidrazon türevlerinin sentezi ve bu yapıların bir sonraki basamak olan farmakokinetik, farmakolojik ve kemoterapötik etkilerinin araştırılması planlanmaktadır.

Çıkar Çatışması

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması sırasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim.

Yazar Katkısı

Makalenin planlama, yürütme ve yazımının makalenin tek yazarı olarak tarafımdan yapıldığını beyan ederim.

KAYNAKLAR

- Andersen FA, 2008. Final amended report on the safety assessment of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, isopropylparaben, butylparaben, isobutylparaben, and benzylparaben as used in cosmetic products. *International Journal of Toxicology*, 27: 1–82.
- Backes GL, Neumann DM, Jursic BS, 2014. Synthesis and antifungal activity of substituted salicylaldehyde hydrazones, hydrazides and sulfohydrazides. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22: 4629-4636.
- Beaulieu PL, Coulombe R, Duan J, Fazal G, Godbout C, Hucke O, Jakalian A, Joly MA, Lepage O, Llinàs-Brunet M, Naud J, Poirier M, Rioux N, Thavonekham B, Kukolj G, Stammers TA, 2013. Structure-based design of novel HCV NS5B thumb pocket 2 allosteric inhibitors with submicromolar gt1 replicon potency: Discovery of a quinazolinone chemotype. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23: 4132–4140.
- Bhole RP ve Bhusari KP, 2011. Synthesis, antihypertensive activity, and 3D-QSAR studies of some new *p*-hydroxybenzohydrazide derivatives. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences*, 2: 119–134.
- Cukurovali A, Yilmaz I, Gur S, Kazaz C, 2006. Synthesis, antibacterial and antifungal activity of some new thiazolyldiazone derivatives containing 3-substituted cyclobutane ring. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 41: 201–207.
- Cywin CL, Firestone RA, McNeil DW, Grygon CA, Crane KM, White DM, Kinkade PR, Hopkins JL, Davidson W, Labadia ME, Wildeson J, Morelock MM, Peterson JD, Raymond EL, Brown ML, and Spero DM, 2003. The Design of potent hydrazones and disulfides as cathepsin S inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 11: 733-740.
- Evrano-Aksöz B, Baysal İ, Yabanoğlu-Çiftçi S, Djikic T, Yeleği K, Uçar G, and Ertan R. 2015. Synthesis and Screening of Human Monoamine Oxidase-A Inhibitor Effect of New 2-Pyrazoline and Hydrazone Derivatives. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences*, 348: 743-756.
- Lima PC, Lima LM, da Silva KCM, Léda PHO, de Miranda ALP, Fraga CAM, Barreiro EJ, 2000. Synthesis and analgesic activity of novel *N*-acylarylhydrazones and isosters, derived from natural saffrole. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 35: 187–203.

- Lisina SV, Brel AK, Mazanova LS, Spasov AA, 2008. Synthesis and antipyretic activity of new salicylic acid derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42: 574-576.
- Mamolo MG, Falagiani V, Zampieri D, Vio L, Banfi E, Scialino G, 2003. Synthesis and antimycobacterial activity of (3,4-diaryl-3*H*-thiazol-2-ylidene)-hydrazide derivatives. *Il Farmaco*, 58: 631-637.
- Nurkenov OA, Satpaeva ZB, Schepetkin IA, Khlebnikov AI, Turdybekov KM, Seilkhanov TM, Fazylov SD, 2017. Synthesis and biological activity of hydrazones of *o*- and *p*-hydroxybenzoic acids. Spatial structure of 5-bromo-2-hydroxybenzylidene-4-hydroxybenzohydrazide. *Russian Journal of General Chemistry*, 87: 2299–2306.
- Oliveira PFM, Baron M, Chamayou A, Andre-Barres C, Guidetti B, Baltas M, 2014. Solvent-free mechanochemical route for green synthesis of pharmaceutically attractive phenolhydrazones. *RSC Advances*, 4: 56736–56742.
- Periakaruppan P, Abraham R, Mahendran K, Ramanathan M, 2018. Simple synthesis of hydrazones with quorum quenching activity at room temperature in water. *Environmental Chemistry Letters*, 16: 1063-1067.
- Raghav N. and Singh, M, 2014. SAR studies of differently functionalized chalcones based hydrazones and their cyclized derivatives as inhibitors of mammalian cathepsin B and cathepsin H. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22: 4233-4245.
- Rollas S ve Küçükgülzel ŞG, 2007. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. *Molecules*, 12: 1910-1939.
- Salgın-Gökşen U, Gökhan-Kelekçi N, Göktaş Ö, Köysal Y, Kılıç E. Işık Ş, Aktay G, Özalp M, 2007. 1-Acylthiosemicarbazides, 1,2,4-triazole-5(4*H*)-thiones, 1,3,4-thiadiazoles and hydrazones containing 5-methyl-2-benzoxazolinones: synthesis, analgesic-anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15: 5738–5751.
- Sapra A, Kumar P, Kakkar S, Narasimhan B, 2014. Synthesis, antimicrobial evaluation and QSAR studies of *p*-hydroxy benzoic acid derivatives. *Drug Research*, 64: 17-22.
- Siddiqui SM, Salahuddin A, Azam A, 2012. Synthesis, characterization and antiamoebic activity of some hydrazone and azole derivatives bearing pyridyl moiety as a promising heterocyclic scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 49: 411-416.
- Taha M, Ismail NH, Jamil W, Yousuf S, Jaafar FM, Ali MI, Kashif SM, Hussain E, 2013. Synthesis, evaluation of antioxidant activity and crystal structure of 2,4-dimethylbenzoylhydrazones. *Molecules*, 18: 10912–10929.

Atf İçin: Akkoyun MB, Bengü AŞ, Temel Y, Akkoyun HT, Ekin S, Çiftci M, 2021. STZ İle Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Rosa Pisiformis(Christ) D.Sons'un Bazı Metabolik Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2880-2889.

To Cite: Akkoyun MB, Bengü AŞ, Temel Y, Akkoyun HT, Ekin S, Çiftci M, 2021. The Effect of *Rosa Pisiformis* (Christ) D.Sosn on Some Metabolic Enzyme Activities in STZ Applied Diabetic Rats. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2880-2889.

The Effect of *Rosa Pisiformis* (Christ) D.Sosn on Some Metabolic Enzyme Activities in STZ Applied Diabetic Rats

Mahire Bayramoğlu AKKOYUN^{1*}, Aydın Şükrü BENGÜ², Yusuf TEMEL³, Hurrem Turan AKKOYUN¹, Suat EKİN⁴, Mehmet CİFTCİ⁵

ABSTRACT: This study was aimed to study in vivo impacts of *Rosa pisiformis* (Christ) D.Sosn. (VANF F13827 END.) on some metabolic enzymes (G6PD, 6PGD, GR, TrxR and GST) in Streptozotocin (STZ) applied diabetic rats. 32 male Wistar albino rats divided four groups. Group I: Control, Group II:Streptozotocin, Group III: *Rosa pisiformis* and Group IV: Streptozotocin+*Rosa pisiformis*. Experimental study continued for 30 days and enzyme activities were spectrophotometrically measured. *R.p.* fruit extract and STZ+*R.p.* fruit extract administrations increased Glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) activity meaningfully compared to control (p<0.001). 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD) enzyme activity reduced in diabetes group compared to control, whereas it increased in *R.p.* fruit extract and STZ+*R.p.* fruit administered groups. Glutathione reductase (GR) activity raised in *R.p.* fruit administered group compared to control group meaningfully (p<0.001). Thioredoxin reductase (TrxR) activity decrease no statistical importance in diabetic rats compared control whereas this activity increased in *Rosa pisiformis* fruit extract group. Glutathione S-transferases (GST) enzyme activity reduction significantly in STZ group compared to control (p<0.05). As a result, It is thought that the fruits of *Rosa pisiformis*, which grows as an endemic species belonging to the Rosaceae family, may have a reducing or preventing effect on the 6PGD, TrxR and GST enzyme activities in rats by inhibiting caused by STZ.

Keywords: G6PD, GR, GST, 6PGD, *Rosa pisiformis*, TrxR

STZ İle Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Rosa Pisiformis(Christ) D.Sons'un Bazı Metabolik Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

ÖZET: Bu çalışmada Streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanlarda *Rosa pisiformis* (Christ) D.Sosn. (VANF F13827 END.) 'in bazı metabolik enzimler üzerine in vivo etkilerinin araştırılması amaçlandı. 32 adet wistar albino cinsi erkek sıçan dört gruba ayrıldı. Grup I:Kontrol, Grup II:Streptozotosin, Grup III: *Rosa pisiformis*, Grup IV: Streptozotosin + *Rosa pisiformis*. Deneysel çalışma 30 gün sürdürüldü ve enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktivitesinde *R.p.* meyve ekstraktı ve STZ+*R.p.* meyve ekstraktı uygulanan gruplarda kontrole kıyaslandığında anlamlı düzeyde artış görüldü(p<0.001). 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD) enzim aktivitesi diyabet oluşturulan grupta kontrole oranla azaldı. Aksine *R.p.* meyve ekstraktı ve STZ+*R.p.* meyve ekstraktı uygulanan grupta arttı. Glutasyon reduktaz (GR) enzim aktivitesi *R.p.* meyve ekstraktı uygulanan grupta kontrole oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldi (p<0.001). Tioredoksin redüktaz (TrxR) aktivitesi diyabetik sıçanlarda kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir azalma göstermezken, *Rosa pisiformis* meyve ekstraktı uygulanan grupta arttı. Glutasyon S-transferaz (GST) enzim aktivitesinin STZ uygulanan grupta kontrole oranla anlamlı şekilde azaldığı görüldü (p<0.05). Sonuç olarak; Rosaceae familyasına ait endemik bir tür olarak yetişen *Rosa pisiformis* meyvelerinin sıçanlarda 6PGD, TrxR ve GST enzim aktiviteleri üzerine STZ'nin neden olduğu inhibisyonu azaltıcı yada önleyici etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: G6PD, GR, GST, 6PGD, *Rosa pisiformis*, TrxR

¹Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN([Orcid ID: 0000-0001-5150-5402](https://orcid.org/0000-0001-5150-5402)), Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University, Siirt, Turkey. ²Aydın Şükrü BENGÜ ([Orcid ID: 0000-0002-7635-4885](https://orcid.org/0000-0002-7635-4885)), Health Services Vocational School, Bingöl University, Bingöl, Turkey. ³Yusuf TEMEL ([Orcid ID: 0000-0001-8148-3718](https://orcid.org/0000-0001-8148-3718)), Solhan Health Services Vocational School, Bingöl University, Bingöl, Turkey. ⁴Hurrem Turan AKKOYUN([Orcid ID:0000-0002-4547-8003](https://orcid.org/0000-0002-4547-8003)), Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University, Siirt, Turkey. ⁵Suat EKİN ([Orcid ID: 0000-0002-6502-5028](https://orcid.org/0000-0002-6502-5028)), Department of Chemistry, Faculty of Sciences, YYU University, Van, Turkey. ⁵Mehmet ÇİFTCİ([Orcid ID: 0000-0003-4971-4242](https://orcid.org/0000-0003-4971-4242)), Department of Chemistry, Faculty of Arts and Sciences, Bingöl University, Bingöl, Turkey.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mahire Bayramoğlu Akkoyun, e-mail: mahireakkoyun@siirt.edu.tr

ETHICS COMMITTEE APPROVAL: For the animal experiment in this article, Ethics Committee Approval was obtained with the decision of the "Bingöl University Rectorate Animal Experiments Local Ethics Committee", with the decision dated 21.02.2018 Meeting No 2018/02, Decision No: 02/07.

INTRODUCTION

Diabetes is an important metabolic disease defined by an increasing degree of deterioration in carbohydrate, fat and protein metabolism, especially in developed countries in recent year (Sensoy and Gençoğlan, 2009; Yüzüak and Aybak, 2015). It includes many metabolic disorders such as hyperglycemia, dyslipidemia, glycosuria (Cilaker-Mıcılı et al., 2012). Diabetes can influence various organ-systems in the metabolism and can cause critical complications over time (Metelko et al., 2000). In general, complications are considered as microvascular or macrovascular. Microvascular complications contain harm to the nervous system, injury to the kidney system, and diabetic retinopathy. Macrovascular complications are considered as cardiovascular illness, stroke and peripheral vascular illness. Peripheral vascular illness can cause uncured tissue injuries, gangrene, and ultimately amputation (Deshpande et al., 2008). Streptozotocin is produced by *Streptomyces achromogenes*. Streptozotocin (STZ) is an antineoplastic antibiotic (Szkudelski, 2001). It is known as a potential oxidative stress source and can cause DNA damage (Imaeda et al., 2002). Streptozotocin is a highly potent cytotoxic agent for pancreatic β cells (Junod et al., 1969). It have been used for the development of diabetes by intravenous injection in emprical animals due to their high toxicity to β cells (Rossini et al., 1977; Lezen, 2008). Plants are used in many fields such as medicine, nutrition, culinary, dyeing, odor thickening, cigarettes, cosmetics and other fields. The herbs are welds of compounds with antioxidant activity such as pharmacologically active components like phenolic acids, flavonoids, anthocyanins (Lopez et al., 2007). Since prehistoric times, plants have been the basis of nearly all drug treatment until the development of synthetic drugs (Djeridane et al., 2006). Concerns about the use of synthetic drugs and antioxidants for instance BHA, BHT and TBHQ have recently increased their relevance to plant-based compounds such as phenolic compounds, flavonoids, and hydroxamic acids on natural antioxidants (Balasundram et al., 2006). The previous studies have indicate that a diet wealthy in plants has protective effects against some diseases for example cancer, obesity, hypertension, diabetes, cataract and cardiovascular diseases (Halvorsen et al., 2002; Acosta-Montoya et al., 2010). *Rosa pisiformis* (Christ) D. Sosn. plant is an endemic plant species of the Rosaceae family that grows in our country to Turkey (Ercisli, 2005). The elements of the Rosaceae family are mostly used for nutrition and medical goals. This is explained by the phenolic compounds present in the family and it has been reported that the members have biochemical activity such as antioxidant, antimutagenic and anticarcinogenic (Ercisli, 2007). Glucose 6-phosphate dehydrogenase is an enzyme catalyzing transformation of glucose-6-phosphate to 6-phosphogluconolactone via reduction of NADP^+ , firstly and speed-limiting step in pentose phosphate metabolic pathway (Au et al., 2000; Temel and Koçyiğit, 2017; Bayindir et al., 2018; Karaman et al., 2020). 6- phosphogluconate dehydrogenase is the third enzyme of the pentose phosphate metabolic pathway and catalyzes 6-PGA (6-phosphogluconate) to D-riboluse-5-phosphate in asset of NADP^+ (Beydemir et al., 2004; Bayindir et al., 2018; Bayramoğlu Akkoyun et al., 2018; Temel and Taysi, 2018). As a result of the reactions catalyzed by G6PD and 6PGD, NADPH is produced which protects cells against reactive molecules by producing decreased glutathione (GSH) (Nelson and Cox, 2000). Therefore, G6PD and 6PGD may be described as second-order antioxidant enzymes (Kozar et al., 2000; Çiftçi et al., 2001). Glutathione reductase catalyzes the reduction of reduced glutathione disulfide (GSSG) to decreased form (GSH) in the asset of NADPH (Akkemik et al., 2011; Tandoğan et al., 2011; Adem and Çiftçi, 2016; Temel et al., 2017; Aybek et al., 2020). Thioredoxin reductase are enzymes catalyzing the catalytic area with Cys-Val-Asn-Val-Gly-Cys amino acids and with the binding site nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH) (Temel et al; 2017; Temel and Taysi, 2018). They also contain selenocysteine in

the C-terminal region required for redox activity. Thioredoxin has an effect on gene expression, signal transduction, regulation of redox activity and oxidative damage (Sen and Packer, 1996). Glutathione S-transferases are generally cytosolic, mitochondrial and microsomal enzymes which are present in metabolism (Pljesa-Ercegovac et al., 2018; Temel et al., 2018; Zariç, 2018; Özaslan et al., 2019; Türkan et al., 2020).

In our study, it was aimed to study in vivo impacts of *Rosa pisiformis* (Christ) D.Sosn. (VANF F13827 END.) on some metabolic enzymes (G6PD, 6PGD, GR, TrxR and GST) in STZ applied diabetic rats.

MATERIALS AND METHODS

In vivo Effect of Streptozotocin and *Rosa pisiformis* (Christ) D. Sosn

32 male Wistar albino rats (250-300 gr weight) were acquired from the Experimental Research Center of Bingol University. Four groups of rats were formed: Group I: control (C: %0.9 NaCl), Group II: Streptozotocin (STZ:60 mg kg⁻¹ single dose, i.p.) (Wang et al., 2000), Group III: *Rosa pisiformis* (*R.p.*:300 mg kg⁻¹, with gavage) (Bayramoglu et al., 2016) and Group IV: Streptozotocin+*Rosa pisiformis* (STZ 60 mg kg⁻¹ single dose, i.p, *R.p.*:300 mg kg⁻¹, with gavage). Animals were kept in cages in a controlled room provided with a stable heat of 20-22 °C and a 12 hour light-dark period. Water and food were given *ad libitum*. Following this adaptation period to their cages for a week, experimental procedures had started. Twelve hours prior to the experiment, feeding except water was stopped and blood samples were taken at the end of the 30th day and prepared for experimental analyzes.

Obtainment of the Hemolysate

Blood samples were taken into EDTA inclusive and centrifuged at 2500 x g for 15 min. Plasma and leukocytes were then eliminated. The erythrocytes were washed 3 times with KCl (0.16 M) and the supernatant was removed by centrifugation of the samples each time (2,500 x g). Erythrocytes were hemolysed with 5 times the volume of erythrocyte volumes and then centrifuged at +4 °C and 10,000 x g for 30 min to eliminate cell membranes and insoluble parts. The supernatant was kept for analysis (Bayramoğlu Akkoyun et al., 2018; Temel and Bayindir, 2019).

Measurement of activity of the some metabolic enzymes

G6PD and 6PGD enzyme activities were measured according to the Beutler process (Beutler, 1971; Çiftçi et al., 2001), The enzyme activity of GR was evaluated spectrophotometrically at 340 nm according to the Carlberg and Mannervik process (Calberg and Mannervik, 1986; Tandoğan et al., 2011). The thioredoxin reductase (TrxR) enzyme activity assay was evaluated at 412 nm according to the Holmgren process (Holmgren 1977; Branco et al., 2014; Temel et al., 2017). GST enzyme activity was evaluated according to the proposed process defined by Habig et al (Habig et al., 1974).

Analysis of kinetic data

SPSS version 20 program was used for in vivo analyzes. Conclusions were statistically analyzed using one-way ANOVA with post hoc Least important difference (LSD) test.

RESULTS AND DISCUSSION

For the G6PD enzyme; Group II (STZ) ($p > 0.05$), Group III (*R.p.* fruit) and Group IV (Stz + *R.p.* fruit) were found to be $p < 0.001$ when compared with the control group. In group 2, the enzyme activity rise in no significant differences ($p > 0.05$) and in group 3 and 4 it was found that enzyme activities increased important ($p < 0.001$). For 6PGD enzyme; group II was determined to be ($p > 0.05$) Group III ($p > 0.05$) Group IV ($p > 0.05$) when compared with the control group. There was no important significance decrease in enzyme activity in the group II and insignificant rise in the group

III and group IV. For the GR enzyme; Group II ($p > 0.05$), Group III $p < 0.001$ compared to the control group. Group IV was found to be ($p > 0.05$). There was a no significant rise in GR enzyme activity in the second group ($p > 0.05$). There was a statistically important rise in the third group ($p < 0.001$). There was statistically unimportant change in the group IV and the enzyme activity values were near to the control group ($p > 0.05$). For the TrxR enzyme; When compared with the control group, Group II was determined to be ($p > 0.05$) Group III ($p > 0.05$), Group IV ($p > 0.05$). A statistically unimportant increase in enzyme activity in the *Rosa pisiformis* fruit extract group and no significant reduce in the STZ+*R.p.* fruit group were found ($p > 0.05$). In addition TrxR enzyme activity in diabetic rats decreased no significant ($p > 0.05$). For the GST enzyme; Group II was determined to be $p < 0.05$, Group III was found to be $p > 0.05$ and Group IV was found to be $p > 0.05$ in comparison with the control group. A statistically importance decline ($p < 0.05$) in the diabetic group, no important decrease ($p > 0.05$) in the *Rosa pisiformis* fruit group and STZ+ *R.p.* fruit group was determined.

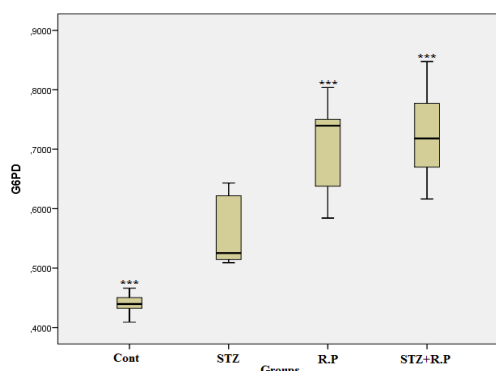


Figure 1. In vivo effect of STZ and *Rosa pisiformis* on rat erythrocyte G6PD enzyme activity of groups (***) $p < 0.001$.

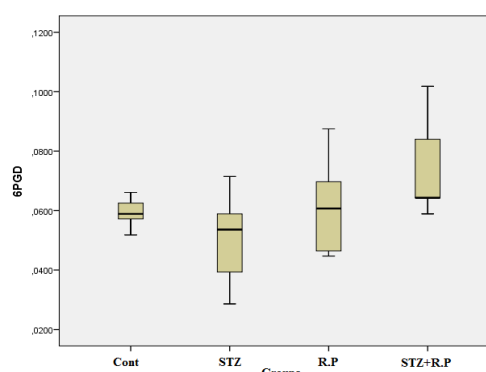


Figure 2. In vivo effect of STZ and *Rosa pisiformis* on rat erythrocyte 6PGD enzyme activity of groups

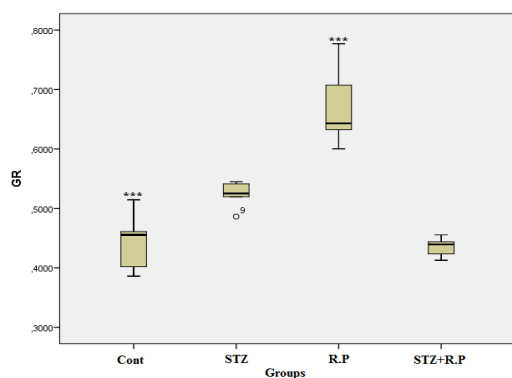


Figure 3. In vivo effect of STZ and *Rosa pisiformis* on rat erythrocyte GR enzyme activity of groups (***) $p < 0.001$

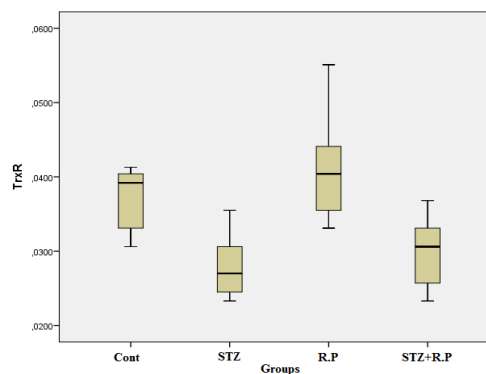


Figure 4. In vivo effect of STZ and *Rosa pisiformis* on rat erythrocyte TrxR enzyme activity of groups

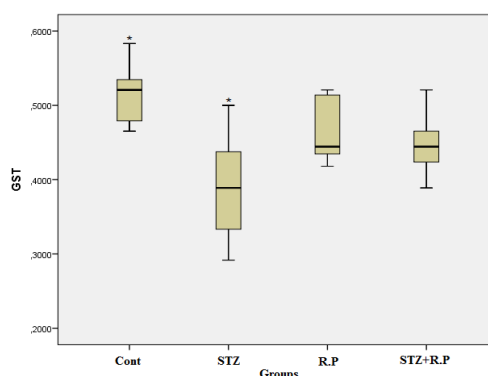


Figure 5. In vivo effect of STZ and *Rosa pisiformis* on rat erythrocyte GST enzyme activity of groups (* $p < 0.05$).

Diabetes is a serious problem worldwide, characterized by increased cardiovascular mortality associated with the development of nephropathy, neuropathy, retinopathy (Maritim et al., 2003). In accordance with, the World Health Organization, over 150 million human in the world have diabetes mellitus (Akbarzadeh et al., 2007). Today, the inadequacy of the antioxidant defense mechanism against the oxidative stress created by the increase of free radicals is one of the most important elements in the emergence of diabetes and its effects (Maritim et al., 2003). STZ has long been used to create diabetes mellitus (DM) in empirical animals (Federiuk et al., 2004). In rats, STZ administration causes a serious and stationary injury with a decrease in insulin levels. STZ damages the beta cells of the pancreatic Langerhans islets and entail the development of a cytotoxic model of diabetes causing type I diabetes mellitus (Öztaşan et al., 2005).

In late years there has been in the world trend towards the use of spontaneous phytochemicals found in fruit plants, vegetables, oilseeds, beans, fruits (Lee et al., 2003). These plant-derived natural antioxidants are especially important due to their phenolic content. Epidemiologic research have demonstrated that consumption of herbal food containing antioxidants is helpful for health, and that cancer has many preventative effects, especially cardiovascular diseases (Sultana et al., 2009). In this study, the impact of *Rosa pisiformis* fruit extract grown as an endemic species on the activities of important metabolic enzymes for example G6PD, 6PGD, GR, TrxR, and GST in diabetic rats with STZ were investigated. When group enzyme activity levels were evaluated in the study; an increase in the STZ group was observed when the glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) enzyme activity was compared with the control group, but this increase was not statistically importance ($p > 0.05$). Enzyme activity in *R.p.* fruit administered and STZ+*R.p.* fruit application groups was found to be increased compared to control, and this rise was statistically significant ($p < 0.001$). When the 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD) activity, which is one of the important enzymes of the pentose phosphate pathway, was evaluated, there was a decrease in the STZ administered group compared to the control group and no significant increase in the *R.p.* fruit administered group and similarly the STZ+*R.p.* fruit administered group compared to the control group. When the glutathione reductase activity level, which is very important in antioxidant defense system, is evaluated; there was a statistically insignificant increase in the diabetic group (STZ) when the enzyme activity was compared to the control ($p > 0.05$). A statistically significant increase was observed in the *R.p.* fruit application group compared to the control ($p < 0.001$). In the STZ+*R.p.* fruit group, the enzyme activity values were found to be close to the control group. When TrxR enzyme activity was evaluated; TrxR enzyme activity in diabetic rats decreased statistically insignificant ($p > 0.05$). There was a statistically insignificant increase in enzyme activity in the *Rosa pisiformis* fruit extract group and a statistically insignificant reduce in the STZ+*R.p.* fruit group ($p > 0.05$). STZ+*R.p.* fruit, when compared to STZ group, enzyme activities were increased and close to the control group. Its suggests that *Rosa pisiformis* plant extract may reduce the inhibitory impact of STZ on TrxR enzyme activity. When compared to the GST enzyme activity control group; the increase in activity in *R.p.* and STZ+*R.p.* fruit groups, in which the enzyme activity in the diabetes group decreases, suggesting that the *R.p.* fruit extract on GST enzyme activity may also inhibit the inhibitory effect of STZ. In a study using a different species of *Rosa*, *Rosa damascena* Mill showed that they have antidiabetic effect on diabetic rats (Gholamhoseinian et al., 2009). Orhan et al. have determined that *Rosa canina* fruit used in traditional medicine is used for diabetes mellitus and has antidiabetic effect (Orhan et al., 2009). Another line of the Rosaceae family has also been reported to have antidiabetic effect (Taghizadeh et al., 2016). A different study, the effects of *Rosa damascene* flowers on alpha-glucosidase enzyme activity in normal and diabetic rats have been evaluated (Gholamhoseinian et al., 2009). The results

obtained in the study we have presented are in accordance with the literature studies given. The results support each other. In another study, 30 different plants from 17 families were diagnosed for diabetes treatment. Roseaceae family has an important place among these families and has antidiabetic effect (Taghizadeh et al., 2016). In a different study conducted by Vianna et al., ethanol extract of a different species belonging to the rosaceae family was used in rats with diabetes mellitus using STZ. At the end of the study, it was reported that the species belonging to the rosaceae family has an anti-diabetic effect (Vianna et al., 2011). Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects were investigated in streptomycin-induced diabetic mice in a study with a different species belonging to Rosaceae familia. It has been revealed that the species belonging to the Rosaceae family will support the traditional use (Kifle and Belayneh., 2020). In a review conducted by Rahimi et al., it was stated that oligosaccharide fractions isolated from *Rosa canina* may have positive effects on diabetes induced by using STZ in rats (Rahimi et al., 2020). Within the scope of the study, different metabolic enzyme activities with important relative in the antioxidant defense system were evaluated.

CONCLUSION

The conclusions of our study suggest that *Rosa pisiformis* fruits grown as an endemic strain of the Rosaceae family regulated of G6PD, 6PGD, GR, GST and TrxR enzyme activities in diabetic rats. The results of this research will be a guide for the studies investigating the medical use of the *Rosa pisiformis* family and its effect on biological systems and enzymes.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks to Prof Dr Fevzi Özgökçe for describing the *Rosa pisiformis* (Christ) D.Sosn. plant.

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest regarding the present study.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Acosta-Montoya Ó, Vaillant F, Cozzano S, Mertz C, Pérez AM, Castro MV, 2010. Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltdl.) during three edible maturity stages. *Food Chemistry*, 119(4), 1497–1501.
- Adem S, Ciftci M, 2016. Purification and biochemical characterization of glucose 6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase and glutathione reductase from rat lung and inhibition effects of some antibiotics. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 6366(January), 1–7.
- Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR, Jamshidi S, Farhangi A, Allah Verdi A, Rad BL, 2007. Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 22(2), 60–64.
- Akkemik E, Şentürk M, Özgeriş FB, Taşer P, Ciftci M, 2011. In vitro effects of some drugs on human erythrocyte glutathione reductase. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 41(2), 235-241.
- Au SWN, Gover S, Lam VMS, Adams MJ, 2000. Human glucose-6-phosphate dehydrogenase: The crystal structure reveals a structural NADP⁺ molecule and provides insights into enzyme deficiency. *Structure*, 8(3), 293–303.

- Aybek H, Temel Y, Ahmed BM, Ağca C. A, Çiftci M, 2020. Deciphering of The Effect of Chemotherapeutic Agents on Human Glutathione S-Transferase Enzyme and MCF-7 Cell Line. *Protein & Peptide Letters*, 27, 1–7.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S, 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203.
- Bayindir S, Temel Y, Ayna A, Ciftci M, 2018. The synthesis of N-benzoylindoles as inhibitors of rat erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(9), 1–9
- Bayramoğlu Akkoyun M, Bengü AŞ, Temel Y, Akkoyun HT, Ekin S, Ciftci M, 2018. The effect of astaxanthin and cadmium on rat erythrocyte G6PD, 6PGD, GR, and TrxR enzymes activities in vivo and on rat erythrocyte 6PGD enzyme activity in vitro. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(8), 1–5.
- Bayramoğlu M, Ekin S, Kızıлтаş H, Oto G, Susen EA, Özgökçe F, 2016. Antioxidant properties of *Rosa pisiformis* and its protective effect against isoproterenol-induced oxidative stress in rats. *Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 41 (4): 232-242.
- Beutler E, 1971. Red cell metabolism. A manual of biochemical methods. Vol. 12.
- Beydemir S, Ciftci M, Yilmaz H, Kufrevioglu O, 2004. 6-Phosphogluconate Dehydrogenase: Purification, Characterization and Kinetic Properties from Rat Erythrocytes. *Turkish J. Vet. Animal Sci.*, 28, 707–714.
- Branco V, Godinho-santos A, Gonçalves J, Lu J, Holmgren A, Carvalho C, 2014. Free Radical Biology and Medicine Mitochondrial thioredoxin reductase inhibition , selenium status , and Nrf-2 activation are determinant factors modulating the toxicity of mercury compounds. *Free Radical Biology and Medicine*, 73, 95–105.
- Carlberg I, Mannervik B, 1986. Reduction of 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonate by glutathione reductase and the effect of NADP+ on the electron transfer. *Journal of Biological Chemistry*, 261(4), 1629-1635.
- Ciftci M, Bilici D, Kufrevioglu OI, 2001. Effects of metamizol and magnesium sulfate on enzyme activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes in vitro and from rat erythrocytes in vivo. *Pharmacol Res*, 44(1), 7–11
- Cilaker-Mıçılı S, Ergür Bu, Özoğul C, Sarıoğlu S, Bağrıyanık A, Tuğyan K, Pekçetin Ç, Sönmez Ü, Tekmen I, Erbil G, Akdoğan Gg, Özyurt D, Buldan Z, 2012. Deneysel Hipertansiyon ve Diyabet Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Böbreğin İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi, 91–101.
- Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M, 2008. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Physical therapy*, 88: 1254-1264.
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N, 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654–660.
- Ercisli S, 2005. Rose (*Rosa* spp.) germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52(6), 787–795.
- Ercisli S, 2007. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*, 104(4), 1379–1384.
- Federiuk IF, Casey HM, Quinn MJ, Wood MD, Ward WK, 2004. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: Route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comparative Medicine*, 54(3), 252–257.

- Gholamhoseinian A, Fallah H, Sharifi far F, 2009. Inhibitory effect of methanol extract of *Rosa damascena* Mill. flowers on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia in normal and diabetic rats. *Phytomedicine*, 16(10), 935–941.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB, 1974. Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130–7139.
- Halvorsen BL, Holte K, Myhrstad MCW, Barikmo I, Hvattum E, Remberg SF, Blomhoff R, 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, 132(3), 461–471.
- Holmgren A, 1977. Bovine thioredoxin system. Purification of thioredoxin reductase from calf liver and thymus and studies of its function in disulfide reduction. *Journal of Biological Chemistry*, 252(13), 4600-4606.
- Imaeda A, Kaneko T, Aoki T, Kondo Y, Nagase H, 2002. DNA damage and the effect of antioxidants in streptozotocin-treated mice. *Food and Chemical Toxicology*, 40(7), 979–987.
- Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE, 1969. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *The Journal of clinical investigation*, 48(11), 2129–2139.
- Karaman M, Temel Y, Bayindir S, 2020. Inhibition effect of rhodanines containing benzene moieties on pentose phosphate pathway enzymes and molecular docking. *Journal of Molecular Structure*, 1220, 128700.
- Kifle Z D, Belayneh YM, 2020. Antidiabetic and Anti-hyperlipidemic Effects of the Crude Hydromethanol Extract of *Hagenia abyssinica* (Rosaceae) Leaves in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 13, 4085.
- Kozar RA, Weibel CJ, Cipolla J, Klein AJP, Haber MM, Abedin MZ, Trooskin SZ, 2000. Injury, 28(7).
- Lee SE, Hwang HJ, Ha JS, Jeong HS, Kim JH, 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sciences*, 73(2), 167–179.
- Lenzen S, 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216–226.
- López V, Akerreta S, Casanova E, García-Mina JM, Cavero RY, Calvo MI, 2007. In vitro antioxidant and anti-rhizopus activities of lamiaceae herbal extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(4), 151–155.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB, 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17(1), 24–38
- Metelko Z, Pavlić-Renar I, Tomić M, Bratanić N, 2000. New diagnostic criteria and classification of diabetes mellitus. *Lijecnicki vjesnik*, 122(5–6), 99–102.
- Nelson DL, Cox MM, 2000. *Lehninger principles of biochemistry*, Worth Publishers. New York, 407,800-814.
- Orhan N, Aslan M, Hoşbaş S, Deliorman Orhan D, 2009. Antidiabetic effect and antioxidant potential of *Rosa canina* fruits. *Pharmacognosy Magazine*, 5(20), 309–315.
- Özaslan MS, Balcı N, Demir Y, Gürbüz M, Küfrevioğlu Öİ, 2019. Inhibition effects of some antidepressant drugs on pentose phosphate pathway enzymes. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 72(March).
- Öztaşan N, Altinkaynak K, Akçay F, Göçer F, Dane Ş, 2005. Effects of mad honey on blood glucose and lipid levels in rats with streptozocin-induced diabetes. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(5), 1093–1096.

- Pljesa-Ercegovac M, Savic-Radojevic A, Matic M, Coric V, Djukic T, Radic T, Simic T, 2018. Glutathione transferases: Potential targets to overcome chemoresistance in solid tumors. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12).
- Rahimi M, Sajadimajd S, Mahdian Z, Hemmati M, Malekkhatabi P, Bahrami G, Derakhshankhah H, 2020. Characterization and anti-diabetic effects of the oligosaccharide fraction isolated from *Rosa canina* in STZ-Induced diabetic rats. *Carbohydrate research*, 489, 107927.
- Rossini AA, Like AA, Chick WL, Appel MC, Cahill GF, 1977. Studies of streptozotocin induced insulinitis and diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(6), 2485–2489.
- Sen CK, Packer L, 1996. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *The FASEB Journal*, 10(7), 709–720.
- Sensoy N, Gençoglan G, 2009. Tip I Diyabetli Hastalarda Deri Bulgularının Vücut Kitle İndeksi ve HbA1c İle İlişkisi. *Anatolian Journal of Clinical Investigation*, 3, 213-217.
- Sultana B, Anwar F, Ashraf M, 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167–2180.
- Szkudelski T, 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50(6), 537–546.
- Taghizadeh M, Rashidi AA, Taherian AA, Vakili Z, Sajad Sajadian M, Ghardashi M, 2016. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effects of Ethanol Extract of *Rosa canina* L. fruit on Diabetic Rats: An Experimental Study With Histopathological Evaluations. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 21(4), NP25–NP
- Tandogan B, Kuruüzüm-Uz A, Sengezer C, Güvenalp Z, Demirezer LÖ, Ulusu NN, 2011. In vitro effects of rosmarinic acid on glutathione reductase and glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Pharmaceutical biology*, 49(6), 587–94.
- Temel Y, Bozkuş T, Karagözoğlu Y, Çiftci M, 2017. Glutatyon Redüktaz (GR) Enziminin Japon Bildircin (*Coturnix coturnix japonica*) Eritrositlerinden Saflaştırılması ve Karakterizasyonu Purification and Characterization of Glutathion Reductase Enzyme From Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(3), 143-150.
- Temel Y, Kocyigit UM, 2017. 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*, 31(9).
- Temel Y, Kufrevioğlu ÖI, Çiftci M, 2017. 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).
- Temel Y, Bayındır S, 2019. The Synthesis of Thiosemicarbazone-Based Aza-Ylides as Inhibitors of Rat Erythrocyte Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase Enzyme. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(3), 1503–1512.
- Temel Y, Koçyigit UM, Taysi MS, Gökalp F, Gürdere MB, Budak Y, Çiftci M, 2018. 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-methanoisindole-1,3(2H)-dione derivatives on the enzyme activity. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*.
- Temel Y, Taysi MŞ, 2018. The Effect of Mercury Chloride and Boric Acid on Rat Erythrocyte Enzymes. *Biological Trace Element Research*, 177–182.

- Türkan F, Huyut Z, Taslimi P, Huyut MT, Gülçin İ, 2020. Investigation of the effects of cephalosporin antibiotics on glutathione S-transferase activity in different tissues of rats in vivo conditions in order to drug development research. *Drug and Chemical Toxicology*, 43(4), 423–428.
- Vianna R, Brault A, Martineau LC, Couture R, Arnason JT, Haddad P S, 2011. In vivo anti-diabetic activity of the ethanolic crude extract of *Sorbus decora* CK Schneid.(Rosacea): a medicinal plant used by Canadian James Bay Cree nations to treat symptoms related to diabetes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep158>
- Wang T, Fontenot RD, Soni MG, Bucci TJ, Mehendale HM, 2000. Enhanced hepatotoxicity and toxic outcome of thioacetamide in streptozotocin-induced diabetic rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 166: 92-100.
- Yüzüak H, Aybak M, 2015. The possible protective effect of melatonin on streptozotocin induced experimental diabetes. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 5(4), 592–598.
- Zariç Y, 2018. Glutatyon S-transferaz enziminin Van Gölü inci kefali balığı (*Chalcalburnus tarichi*) solungacından saflaştırılması, karakterizasyonu, bazı metal ve pestisitlerin enzim aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi (Master's thesis, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Atf İçin: Allı S, 2021. PCL Makro Başlatıcı Kullanarak ATRP ve ROP ile Blok Kopolimerlerin Tek Basamakta Sentezi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2890-2902.

To Cite: Allı S, 2021. One-Pot Synthesis of Block Copolymers via ATRP and ROP Using PCL Macroinitiator. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2890-2902.

PCL Makro Başlatıcı Kullanarak ATRP ve ROP ile Blok Kopolimerlerin Tek Basamakta Sentezi

Sema ALLI^{1*}

ÖZET: Poli(laktid)-b-poli(ϵ -kaprolakton)-b-poli(stiren) üç bloklu kopolimerler atom transfer radikal polimerizasyonu ve halka açılma polimerizasyonu ile aynı anda bir basamakta tek kap yöntemiyle sentezlendi. İlk olarak, ϵ -kaprolakton'un (ϵ -CL) kalay (II) 2-etilheksanoat katalizörü varlığında 110 °C'de halka açılma polimerizasyonu ile PCL sentezlenip, ardından 2-bromopropionil bromür ile esterleşmesi sonucu bromlanmış poli(ϵ -kaprolakton) (PCL-Br) makro başlatıcı olarak hazırlanmıştır. Tek kap yöntemiyle, stiren (St) monomerinin PCL-Br makro başlatıcısıyla CuCl/PMDETA sistemi varlığında [I]:[CuCl]:[PMDETA]=1:1:3 mol oranları kullanılarak, 120 °C'de toluen içinde ATRP'si ile ve D, L laktidin HAP'nu aynı anda gerçekleştirdi. Böylece, kontrollü molekül ağırlıklarına ve orta derecede dar polidispersitelere sahip blok kopolimerler elde edildi. Tek kap polimerizasyonunu etkileyen monomer konsantrasyonu, başlatıcı konsantrasyonu ve polimerizasyon süresi gibi temel parametreler araştırıldı. Elde edilen polimerler, ¹H NMR, FTIR ve GPC teknikleri kullanılarak karakterize edildi.

Anahtar Kelimeler: D, L-laktid, ϵ -kaprolakton, stiren, atom transfer radikal polimerizasyonu, halka açılma polimerizasyonu

One-Pot Synthesis of Block Copolymers via ATRP and ROP Using PCL Macroinitiator

ABSTRACT: Poly(lactide)-b-poly(ϵ -caprolactone)-b-poly(styrene) triblock copolymers were synthesized simultaneously by one-pot method using atom transfer radical polymerization (ATRP) and ring-opening polymerization (ROP) in one step. Firstly, brominated poly(ϵ -caprolactone) (PCL-Br) as macroinitiator was made via ROP of ϵ -caprolactone (ϵ -CL) in the existence of tin(II) 2-ethyl hexanoate at 110 °C followed by esterification with 2-bromopropionyl bromide. With the one-pot method, the simultaneously via ROP of D, L-lactide in the existence of tin(II) 2-ethyl hexanoate and ATRP of styrene (St) monomer with PCL-Br macroinitiator in the presence of CuCl/PMDETA system using [I]: [CuCl]:[PMDETA]=1:1:3 molar ratios at 120 °C in toluene was performed. Thus, the block copolymers with controlled molecular weights and moderately narrow polydispersities were obtained. Principal parameters, such as monomer concentration, initiator concentration, and polymerization time, which effect the one-pot polymerization were investigated. The polymers obtained were characterized using ¹H NMR, FTIR, and GPC technique.

Keywords: D, L-lactide, ϵ -caprolactone, styrene, atom transfer radical polymerization, ring-opening polymerization

¹Sema ALLI ([Orcid ID: 0000-0002-3404-8809](https://orcid.org/0000-0002-3404-8809)), Düzce Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Düzce, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Sema ALLI, e-mail: semaalli@duzce.edu.tr

INTRODUCTION

Researchers have received considerable interest in ABC triblock copolymers and their synthesis, as well as their various morphological structures and possible applications (Ma et al., 2009; Palacios et al., 2017; Huang et al., 2018). Today, there are a wide variety of living/controlled polymerization techniques to obtain ABC triblock copolymers of various structures, solubility and functionality by sequential polymerization of various monomers. These techniques of polymerization include “living” radical polymerizations and “living” ionic polymerisations (Davis and Matyjaszewski, 2001; Jiang et al., 2006). In addition, ABC triblock copolymers are synthesized by combining them with various methods (Luan et al., 2004; Mahajan et al., 2004).

To synthesize macromolecules with the demanded morphology and molecular weight, controlled radical polymerization (CRP) techniques such as reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization (Moad et al., 2005; Şanal et al., 2015), atom transfer radical polymerization (ATRP) (J. S. Wang and Matyjaszewski, 1995; Haddleton et al., 1997; 2005; Lee et al., 2005), and nitroxide-mediated polymerization can be used (Hawker et al., 2001; Benoit and Maric, 2008; Allı et al., 2016). When compared to other CRPs, ATRP has a number of advantages. ATRP provides a general and effective method of polymerization of a wide variety of monomers with different chemical functionalities, don't need harsh conditions and is tolerant of functional groups and impurities (J. S. Wang and Matyjaszewski, 1995; He et al., 2007).

A one-pot method for synthesizing block or graft-shaped copolymers was successfully used using diverse methods, and it has many advantages over other widely used methods (Villarroya et al., 2006; Yu et al., 2012; Allı et al., 2014; Yilmaz, 2019). Since at least two conversion steps can be applied synchronous, side reactions that cause the creation of homopolymers are decreased. The use of ring-opening polymerization (ROP) and controlled radical polymerization (CRP) simultaneously for block polymers with structures made of biodegradable aliphatic polyesters and polyacrylate has recently been shown in the literature to be an effective strategy for block polymers with structures made of both. For example, partially biodegradable and biocompatible PLA-b-PHEMA block copolymers were synthesized by the combining of ROP and ATRP using a difunctional initiator (Wolf et al., 2009). PLLA-b-PMMA polymers were synthesized in a single step using a bifunctional initiator via ATRP with UV light and ring-opening polymerization methods simultaneously (Lei et al., 2018).

Moreover, using a combining of the ROP and ATRP polymerization methods have been reported the synthesis of many copolymers containing styrene (Aydoğan et al., 2017), methyl acrylate (Choochottiros et al., 2012), methyl methacrylate (Ydens et al., 2003; Choochottiros et al., 2012), 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate (Xie et al., 2008), 2-hydroxyethyl methacrylate (Wolf et al., 2009), N-isopropylacrylamide (Liu et al., 2015), ϵ -caprolactone (Deng et al., 2007; Yilmaz, 2019) and lactide (Messman et al., 2005; Kryuchkov et al., 2014; Lei et al., 2018). Lactide and ϵ -caprolactone homopolymers and copolymers are particularly interesting among aliphatic polyesters because of their medical applications (Keefe et al., 2001; Ko and Lin, 2001; Broström et al., 2004; Sivalingam et al., 2004). These polymers have been widely used for biodegradable sutures, drug delivery systems, temporary scaffolding for tissue, and implantable screws (Li et al., 2003; C. Wang and Hsiue, 2005; F. Wang et al., 2008). However, these polymers have a difficult time undergoing controlled degradation due to their high crystallinity. As a consequence, the properties and architecture of these biodegradable polyesters must be altered. Due to their distinct structures and properties, aliphatic polyesters with well-defined structures, such as comblike polymers (Breitenbach et al., 2000), hyperbranched polymers (Zhai et al., 2003; Nartop et al., 2019; Hasanoglu et al., 2021), star polymers (Finne and

Albertsson, 2002; J. L. Wang et al., 2005), and dendrimers (Cordova et al., 1998; Persson et al., 2006; Hasanoğlu and Sarı, 2020) are attracting interest.

In this study, The PCL-b-PSt block copolymer is made by initiating ATRP of styrene with a PCL-Br, which is made by esterifying 2-bromopropionyl bromide and PCL. A series of block copolymers of PLA-b-PCL-b-PSt were polymerized using the PCL-Br macroinitiator by combining ATRP and ROP.

MATERIALS AND METHODS

Materials

ϵ -Caprolactone (CL, Aldrich, 97%) was vacuum distilled over calcium hydride. Styrene (St, 99%, contains 250 ppm 4-tert-butylcatechol (TBC) as inhibitor) was supplied by Aldrich, which was passed through a short column of basic alumina in order to remove TBC inhibitor prior to use. D, L-lactide (3,6-Dimethyl-1,4-dioxane-2,5-dione) was supplied from Aldrich and used as received. Tin (II) 2-ethyl hexanoate ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$), triethylamine (TEA), Pentamethyldiethylenetriamine (PMDETA), CuCl, 2-bromopropionyl bromide, and diethanolamine were procured from Sigma-Aldrich. CuCl (98%) was purified by stirring overnight in acetic acid. All other reagents and solvents were obtained at the highest purity available from Aldrich and used as received unless stated otherwise.

Characterization Methods

Proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR) measurements were recorded using a Bruker 400 MHz NMR spectrometer with chloroform-d as the solvent. Fourier-transform infrared (FTIR) spectra were collected using the IR Prestige 21 model FTIR and Shimadzu FTIR Spectrometer 100. The FTIR spectra were measured as KBr samples of the block copolymers. The EcoSEC HLC-8320 SEC system fitted with a UV (254 nm) and refractive index (RI) detector was used to carry out molecular sieve (size-exclusion) chromatography (SEC) measurements. Calibration was performed by Polymer Laboratories using poly(styrene) standards. Tetrahydrofuran (THF) was used at 40 °C and a flow rate of 0.6 mL/min as an eluent.

Preparation of PCL-Br Macroinitiator

Poly (ϵ -caprolactone) was synthesized via the ROP of ϵ -caprolactone and $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ as the catalyst. A 0.02 g $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ was charged to a 100 mL dry schlenk tube fitted with a magnetic bar in a standard experiment under a dry argon atmosphere. Then, using a dry syringe, 25.50 mL CL was injected. The flask had been immersed in an oil bath preheated to 110°C for a period of 1 hour. The reaction mixture was dissolved after 1 hour by the addition of 100 mL THF and 600 mL petroleum ether precipitated, finally dried under vacuum at room temperature 24 hours. PCL was used for the synthesis of the brominated poly(ϵ -caprolactone) (PCL-Br). Esterification of end hydroxyl groups PCL with 2-bromopropionyl bromide was achieved based on the reported procedure (Allı et al., 2012).

Synthesis of PCL-b-PSt by ATRP

PCL-b-PSt block copolymer was obtained by ATRP. The standard polymerization method was as follows: 0.50 g (0.065 mmol) of PCL-Br and 6.39 mg (0.065 mmol) of CuCl were poured into a flame-dried Schlenk flask equipped with a magnetic stirring bar. Then, under an argon atmosphere, 1.39 g of styrene, 2 mL of toluene, and 0.0135 mL (0.195 mmol) of PMDETA were inserted into the Schlenk flask with a syringe. The flask was placed in a heated oil bath at 80 °C for 5 h under argon. After cooling to room temperature, the reaction mixture was passed through neutral silica gel, and the solvent was extracted using a rotary evaporator. The obtained polymer was dissolved in

dichloromethane and precipitate into extremely cold methanol. It was then dried under a vacuum at 40 °C until it reached constant weight.

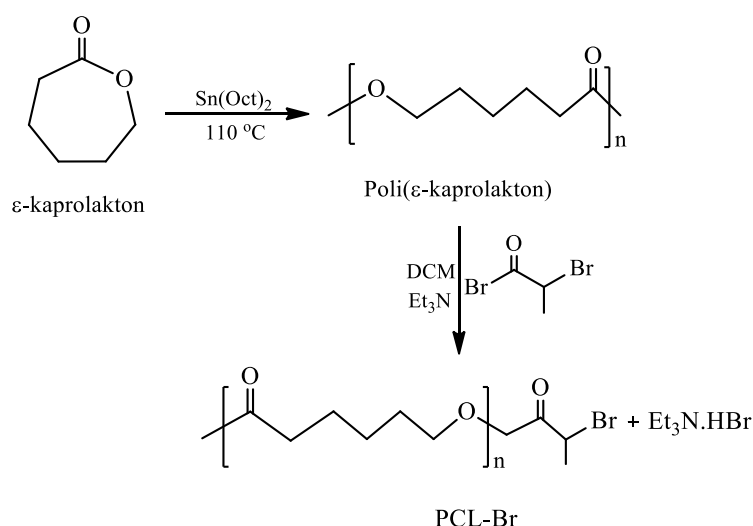
One-Pot Synthesis of PLA-b-PCL-b-PSt Block Copolymers

The standard polymerization method was as follows: 1.00 g of PCL-Br, 0.01 g Sn(Oct)₂ and 0.066 g CuCl were filled into a flame-dried Schlenk flask fitted with a magnetic stirring bar. Then 1.00 g of D, L-Lactide, 1.18 g of styrene, 2 mL of toluene and 0.042 mL of PMDETA were injected into the Schlenk flask by a syringe under argon atmosphere. The flask was placed into an oil bath preheated at 120 °C for 5h under argon. Other conditions are shown as follows: The feed ratio was [M₀]:[I₀]:[CuCl]:[PMDETA]=[100]:[1]:[1]:[3]. After the polymerization, the reaction mixture was passed through a neutral silica-gel column after cooling to room temperature, and the solvent was collected using a rotary evaporator. The obtained polymer was dissolved in dichloromethane and precipitate into extremely cold methanol. It was then dried under a vacuum at 40 °C until it reached constant weight.

RESULTS AND DISCUSSION

Synthesis of PCL-Br Macroinitiator

Poly(ε-caprolactone) (PCL) was synthesized with caprolactone in the existence of tin(II) 2-ethyl hexanoate via ring-opening polymerization for 1 hour in bulk at 110 °C and the molar mass of 3310 (M_n) Da (PDI=1.67) was obtained in 85% yield . The bromine terminated poly(ε-caprolactone) (PCL-Br) of 3740 (M_n) Da (PDI=1.74) was synthesized from the esterification reaction of PCL with 2-bromopropanoyl bromide (Scheme 1).¹H NMR spectra of the PCL and PCL-Br macroinitiator have been shown in Figure 1 which confirmed the chemical structures indicating the characteristic signals: δ (ppm), signals at 4.05 ppm (–CH₂–O–), 2.40 ppm (–CH₂–C=O), and 1.40 ppm (–CH₂–) for Poly(ε-caprolactone); after the reaction with 2-bromopropanoyl bromide and then appeared a new signal at 4.41- 4.38 ppm for –(CH₃)–CH–Br for PCL-Br macroinitiator.



Scheme 1. Reaction design of bromine terminated Poly(ε-caprolactone)

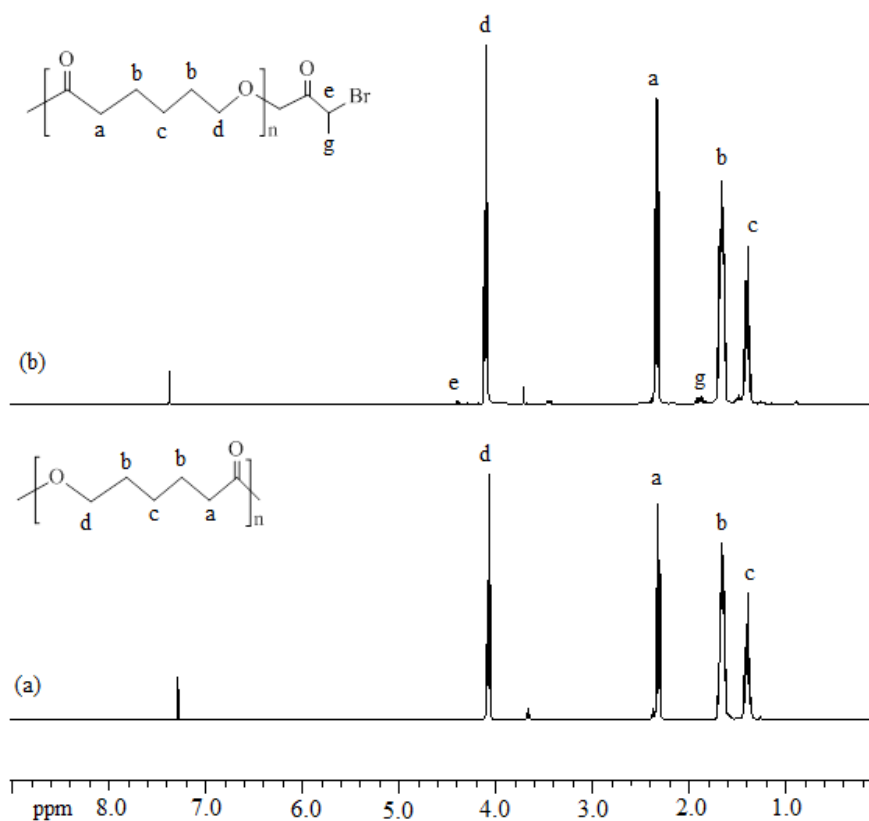
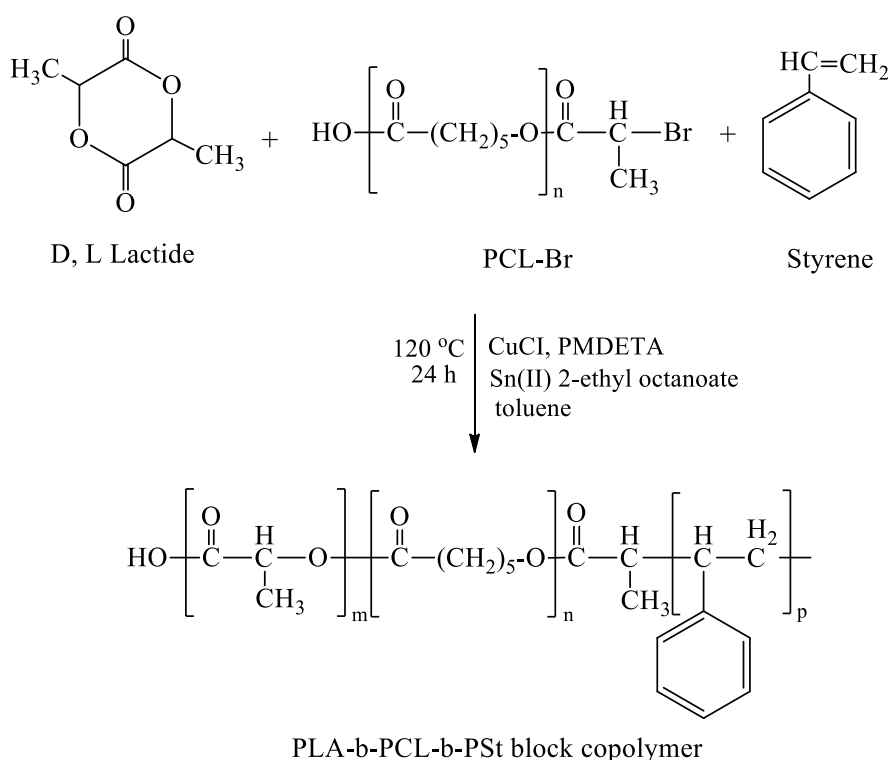


Figure 1. ¹H NMR spectra of Poly(ε-caprolactone) (a); PCL-Br macroinitiator (b)

Synthesis of Triblock Copolymers from PCL-Br Macroinitiator

Triblock copolymers were obtained in the one-pot. The ATRP-ROP macroinitiator (PCL-Br) initiates a one-pot polymerization of a lactone and a vinyl monomer in Scheme 2. Ring-opening polymerization of D, L-lactide and atom transfer polymerization of styrene were carried out simultaneously to obtain the triblock copolymers. PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers were produced from a styrene and lactide combination that was started by the PCL-Br macroinitiator in the presence of CuCl/PMDETA as an ATRP catalyst and tin(II) 2-ethyl hexanoate as a ring-opening catalyst. Simultaneous ATRP and ROP processes in one-pot were used to research the impacts of initiator and monomer concentrations and polymerization time on copolymerization using PCL-Br macroinitiator. Tables 1, 2, 3, and 4 show the results obtained.

The effect of styrene concentration on PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers polymerization in one-pot. The results of PCL-b-PSt and PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers are shown in Table 1. As the quantity of styrene increased, the product and molar mass of the block copolymers increased as predicted. The PCL-b-PSt block copolymer has a molar mass of 8920 Da (M_n), while the PLA-b-PCL-b-PSt three block copolymers have molar masses ranging from 10220 Da to 15030 Da (M_n). ¹H NMR was also used to calculate the weight percentages of each block in the block copolymer structure. In PCL-b-PSt (PCLSt) block copolymers, the ratio of PCL is found to be 89.13 percent. According to the quantity of styrene inserted, the percentage of polystyrene (PSt) in the triblock copolymer raised. The percentage of the quantity of PSt is found to be 10.08 % PCLLaSt-1, 15.35 % in PCLLaSt-2, 25.10 % in PCLLaSt-3, and 44.11% in PCLLaSt-4, respectively.



Scheme 2. Reaction design of PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers

Table 1. The impact of increasing the quantity of styrene on one-pot block copolymerization

Code	St (g)	Yield (wt%)	PCL* (wt%)	PSt* (wt%)	PLA* (wt%)	Mn,GPC (kDa)	Mw,GPC (kDa)	PDI
PCLSt ^a	1.35	20.63	89.13	10.87	-	8.92	12.27	1.38
PCLLaSt-1	1.18	67.30	37.48	10.08	42.44	10.22	15.57	1.52
PCLLaSt-2	1.39	75.47	53.32	15.35	31.33	12.25	18.55	1.47
PCLLaSt-3	2.08	85.30	38.85	25.10	36.06	13.44	21.39	1.59
PCLLaSt-4	2.78	90.38	31.04	44.11	24.87	15.03	24.05	1.60

^aCalculated from ¹H NMR. ^aATRP of PCL-Br with styrene at 80 °C for 5 h; PCL-Br: 0.50 g. PCL-Br: 1.00 g; LA: 1.00 g.

The impact of increasing the quantity of PCL-Br macroinitiator on one-pot block copolymerization is shown in Table 2. The increasing quantity of resulted in an expected decrease in the product and molar mass of the block copolymers. The molar masses of PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers have ranged from 15160 Da to 8630 Da (Mn) as shown in Table 2. The addition of more PCL-Br macroinitiator to the reaction mixture results in the production of more active centres. As the number of macroinitiator increases, the molecular weight of the block copolymers decreases, resulting in shorter PSt and PLA units of the obtained block copolymers. Similar situations have been presented in the literature (Öztürk et al., 2010; Allı et al., 2014; Öztürk et al., 2016).

Table 3 shows the impact of increasing the quantity of D, L-lactide (LA) on one-pot block copolymerization. As the quantity of LA increased, the production and molar mass of the block copolymers increased as well. In the one-pot block copolymerization of increasing the amount of LA, molar masses increased from 12250 Da to 14700 Da (Mn) as shown in Table 3. ¹H NMR was also used to calculate the weight percentages of each block in the block copolymer structure. The percentage of LA in the triblock copolymer increased according to the quantity of added LA. The percentages of PLA found to be %31.33 PCLStLa-1, % 51.60 PCLStLa-2, % 63.47 PCLStLa-3, and % 72.50 PCLStLa-4, respectively.

Table 2. The impact of increasing the quantity of PCL-Br macroinitiator on one-pot block copolymerization

Code	PCL-Br (g)	Yield (wt%)	PCL* (wt%)	PSt* (wt%)	PLA* (wt%)	Mn,GPC (kDa)	Mw,GPC (kDa)	PDI
PLaStCL-1	0.50	76.7	28.84	10.05	61.11	15.16	19.49	1.52
PLaStCL-2	1.00	74.4	38.65	11.38	39.97	10.02	15.17	1.62
PLaStCL-3	2.00	67.5	47.47	19.76	33.77	9.28	14.99	1.61
PLaStCL-4	3.00	46.0	51.65	21.57	26.78	8.63	14.15	1.63

*Calculated from ¹H NMR. St: 1.00 g; LA: 1.00 g**Table 3.** The impact of increasing the quantity of D, L-lactide (LA) on one-pot block copolymerization

Code	LA (g)	Yield (wt%)	PCL* (wt%)	PSt* (wt%)	PLA* (wt%)	Mn,GPC (kDa)	Mw,GPC (kDa)	PDI
PCLStLa-1	1.00	75.47	53.32	15.35	31.33	12.25	18.55	1.47
PCLStLa-2	2.00	81.03	19.04	29.36	51.60	12.37	19.58	1.58
PCLStLa-3	3.00	86.33	11.43	25.10	63.47	13.65	25.55	1.87
PCLStLa-4	4.00	90.80	6.23	21.27	72.50	14.70	26.68	1.81

*Calculated from ¹H NMR. St: 1.39 g; PCL-Br: 1.00 g**Table 4.** The impact of polymerization time on one-pot block copolymerization

Code	PCL-Br (g)	LA (g)	St (g)	Time (h)	Yield (wt%)	Mn,GPC (kDa)	Mw,GPC (kDa)	PDI
PCLLaSt-T1	1.00	1.00	2.08	1	41.67	8.17	13.35	1.63
PCLLaSt-T2	1.00	1.00	2.08	3	64.90	9.08	13.88	1.52
PCLLaSt-T3	1.00	1.00	2.08	5	85.30	13.44	21.39	1.59
PCLLaSt-T4	1.00	1.00	2.08	8	89.10	14.71	24.57	1.67
PCLLaSt-T5	1.00	1.00	2.08	15	92.10	14.95	25.30	1.69
PCLLaSt-T6	1.00	1.00	2.08	21	96.47	15.75	28.86	1.83
PCLLaSt-T7	1.00	1.00	2.08	24	98.30	15.94	29.39	1.84

The impact of polymerization time on copolymerization were investigated using simultaneous ring-opening polymerization and atom transfer radical polymerization processes. The impact of polymerization time on one-pot block polymerization is shown in Table 4. Polymers with a higher molar mass are obtained from polymerizations that last longer.

As shown in Figure 2, the molecular weight (Mn) values of the PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers were determined by GPC. The polydispersity values of block copolymers are in the range of 1.47-1.87, according to GPC data. Since the polymerization is initiated by more than one propagating core, the polydispersity values of block copolymers are comparatively higher than anticipated. Since the ROP catalyst Sn(Oct)₂ of D, L-lactide could intervene with the radical polymerization of St, block copolymers with relatively narrow molecular weights distributions can be produced. The GPC curves of all polymers were unimodal and observed that the molecular weight values of PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers are much higher than the PCL-Br macroinitiator. For example, the unimodal GPC curves of the block copolymers are shown in Figure 2.

¹H NMR spectroscopy was used to characterize PCL-b-PSt and PLA-b-PCL-b-PSt block copolymer samples. Figure 3 shows typical ¹H NMR spectra of PCL-b-PSt and PLA-b-PCL-b-PSt (PCLSt-La-2) block copolymer samples. The block copolymer samples' ¹H NMR spectra showed characteristic peaks of the associated units: (δ, ppm): 5.1-5.3 ppm (-CH-O- in PLA); (δ, ppm): 4.05-4.1 ppm (-CH₂-O in PCL; (δ, ppm): 6.4-7.1 ppm (-C₆H₅ in PSt). The peak areas of the (-CH-) protons in the PLA units (5.1-5.3 ppm), phenyl protons in PSt (6.4-7.1 ppm), and (-CH₂-O-) protons in PCL units (4.05-4.1 ppm) were measured using ¹H NMR to determine the PLA, PCL, and PSt contents in mol per cent (given in Tables 1, 2, 3).

Figure 4 (a) shows the FTIR spectrum of PCL-Br macroinitiator the stretching vibration peak of aliphatic -C-H, C=O, and -C-O (ether linkage) in the PCL molecular chain could be due to the high absorption peak at 2920, 1732, and 1110 cm^{-1} , respectively. Figure 4 (b) shows the FTIR spectrum of the PLA-b-PCL-b-PSt block copolymer (PCLStLa-2). The position of the C=O absorption peak is the main difference between Figures 4 (b) and (a). The C=O absorption peak expands and divided into two peaks, where the vigorous absorption peak at 1758 cm^{-1} can be attributed to C=O on the PLA segment in the copolymer in Figure 4 (b). The absorption peaks at 3020 and 1600 cm^{-1} on the PSt segment of the copolymer can be attributed to the aromatic -C-H and phenyl -C-H absorption peaks, respectively, as shown in Figure 4 (b). These findings indicate that the PLA ve PSt chain is present in the synthesized copolymer.

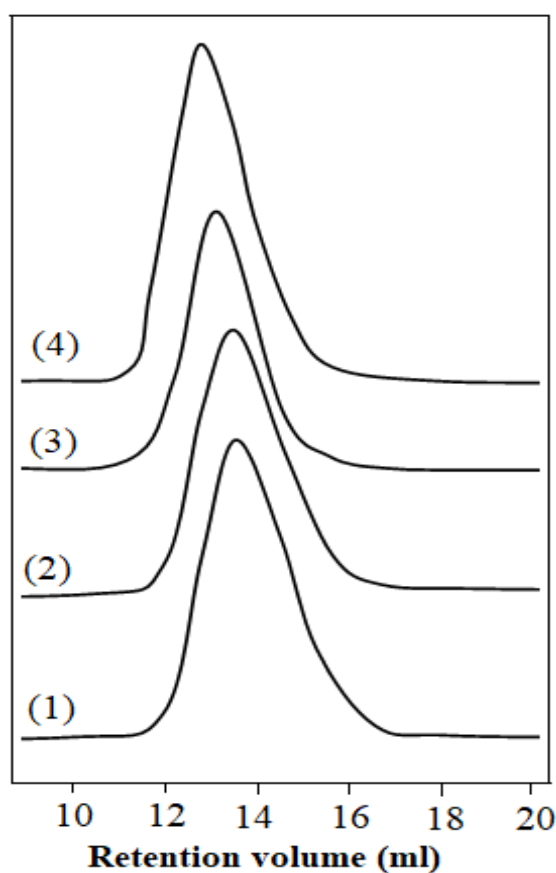


Figure 2. GPC curves of PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers [PCLLaSt series in (Table 1)]

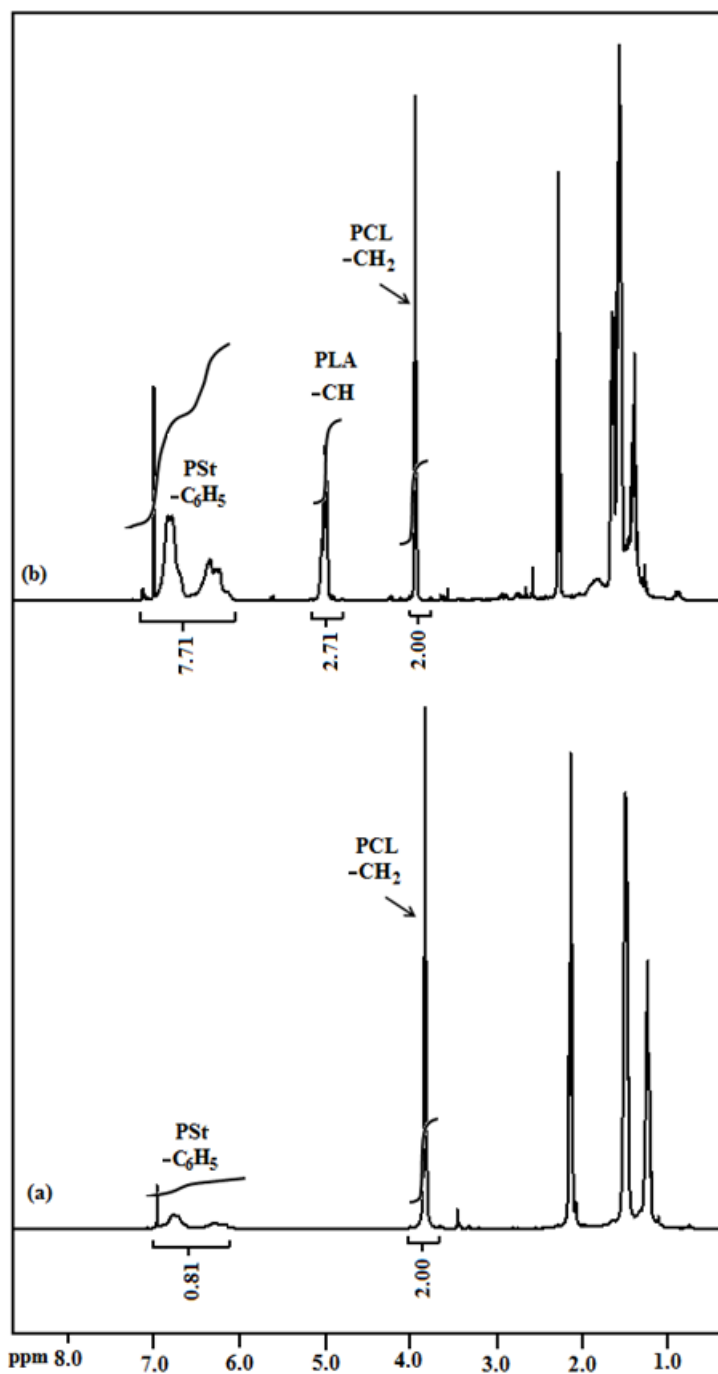


Figure 3. ^1H NMR spectra of (a) PCL-b-PSt block copolymer (PCLSt); (b) PLA-b-PCL-b-PSt block copolymer (PCLStLa-2)

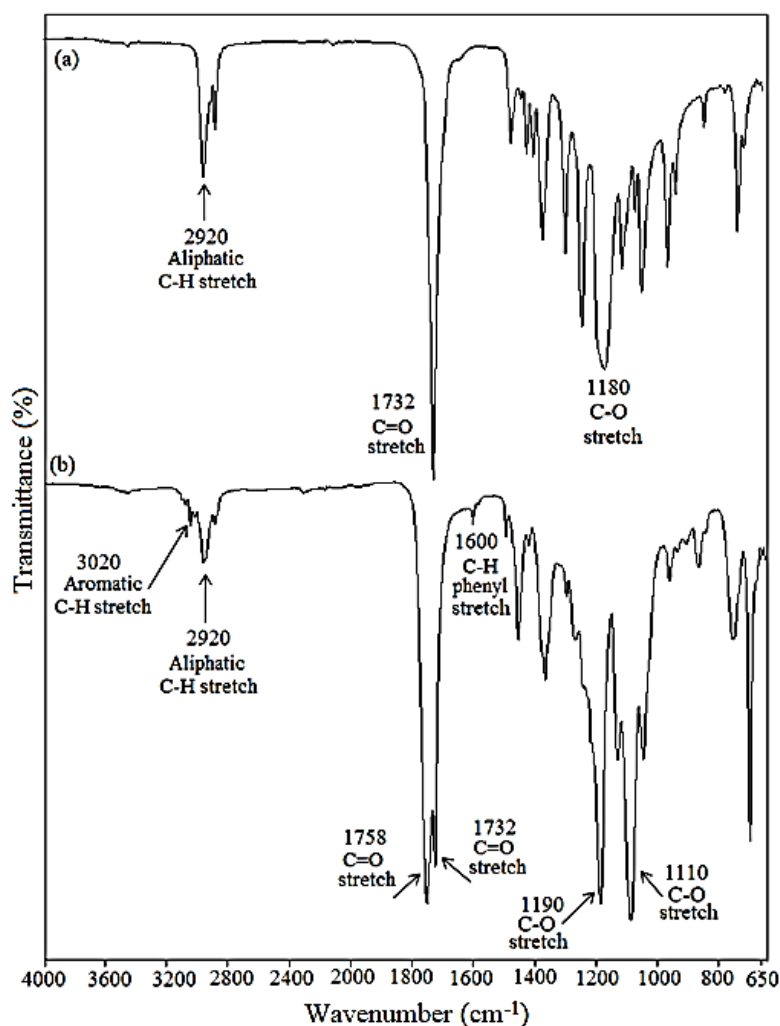


Figure 4. FTIR spectrum of (a) PCL-Br macroinitiator; (b) PLA-b-PCL-b-PSt block copolymer (PCLStLa-2)

CONCLUSION

The block copolymer was synthesized in one-pot using the PCL-Br macroinitiator ATRP of styrene (St) and ROP of D, L-lactide (LA). The PCL-Br macroinitiator demonstrated typical initiator action in the copolymerization of St and LA. PLA-b-PCL-b-PSt block copolymers were evaluated using one-pot synthesis, ATRP, and ROP conditions. The block copolymer was obtained with a relatively high molecular weight. The proposed method is straightforward and efficient for preparing block copolymers. This study demonstrated that the materials produced by the synergistic combination of PLA, PCL, and PSt can be used in areas with wide technological application potential.

ACKNOWLEDGE

This work was supported financially by Düzce University Research Fund (Grant Numbers: 2019.07.06.1021, 2020.07.06.1058).

Conflict of Interest

The article author declare that there is no conflict of interest.

Author's Contributions

I hereby declare that the planning, execution, and writing of the article were done by me as the sole author of the article.

REFERENCES

- Allı S, Allı A, Hazer B, 2012. Hyperbranched homo and thermoresponsive graft copolymers by using ATRP-macromonomer initiators. *Journal of Applied Polymer Science*, 124(1):536–548.
- Allı A, Allı S, Becer CR, Hazer B, 2016. Nitroxide-mediated copolymerization of styrene and pentafluorostyrene initiated by polymeric linoleic acid. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(2):279–287.
- Allı A, Allı S, Becer CR, Hazer B, 2014. One-pot synthesis of poly(linoleic acid)-g-poly(styrene)-g-poly(ϵ -caprolactone) graft copolymers. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(5):849–858.
- Aydogan C, Kutahya C, Allushi A, Yılmaz G, Yagci Y, 2017. Block copolymer synthesis in one shot concurrent metal-free ATRP and ROP processes under sunlight. *Polymer Chemistry*, 8(19):2899–2903.
- Benoit L, Maric M, 2008. Nitroxide-Mediated Synthesis of Poly (poly(ethylene glycol) acrylate) (PPEGA) Comb-Like Homopolymers and Block Copolymers. *Macromolecules*, 41:7870–7880.
- Breitenbach A, Pistel KF, Kissel T, 2000. Biodegradable comb polyesters. Part II. Erosion and release properties of poly(vinyl alcohol)-g-poly(lactic-co-glycolic acid). *Polymer*, 41(13):4781–4792.
- Broström J, Boss A, Chronakis IS, 2004. Biodegradable films of partly branched poly(L-lactide)-co-poly(ϵ -caprolactone) copolymer: Modulation of phase morphology, plasticization properties and thermal depolymerization. *Biomacromolecules*, 5(3):1124–1134.
- Choochottiros C, Park E, Chin IJ, 2012. Synthesis and characterization of polylactide-poly(methyl methacrylate) copolymer by combining of ROP and AGET ATRP. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 18(3):993–1000.
- Cordova A, Hult A, Hult K, Ihre H, Iversen T, Malmstrom E, 1998. Synthesis of a poly(ϵ -caprolactone) monosubstituted first generation dendrimer by lipase catalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 120(51):13521–13522.
- Davis K A, Matyjaszewski K, 2001. ABC triblock copolymers prepared using atom transfer radical polymerization techniques. *Macromolecules* 34(7):2101–2107.
- Deng G, Ma D, Xu Z, 2007. Synthesis of ABC-type miktoarm star polymers by “click” chemistry, ATRP and ROP. *European Polymer Journal*, 43(4):1179–1187.
- Finne A, Albertsson AC, 2002. Controlled synthesis of star-shaped L-lactide polymers using new spirocyclic tin initiators. *Biomacromolecules*, 3(4):684–690.
- Haddleton DM, Waterson C, Derrick PJ, Jasieczek CB, Shooter AJ, 1997. Monohydroxy terminally functionalised poly (methyl methacrylate) from atom transfer radical polymerisation catalyst and hydroxy functional alkyl bromide initiator leads to a-hydroxy functional PMMA with controlled Mn and PDI. *Control*, 4(c):683–684.
- Hasanoğlu ÖE, Sari N, 2020. Use of immobilized novel dendritic molecules as a marker for the detection of glucose in artificial urine. *Journal of Molecular Structure*, 1201:127134.
- Hasanoğlu ÖE, Yetim NK, Nartop D, Sari N, 2021. Ensuring traceability of organophosphate pesticides (OPs) through enzyme immobilized spheres. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 18:1749–1759.
- Hawker CJ, Bosman AW, Harth E, 2001. New polymer synthesis by nitroxide mediated living radical polymerizations. *Chemical Reviews*, 101(12):3661–3688.
- He X, Liang L, Xie M, Zhang Y, Lin S, Yan D, 2007. Synthesis of novel linear PEO-b-PS-b-PCL triblock copolymers by the combination of ATRP, ROP, and a click reaction. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 208(16):1797–1802.
- Huang CF, Chen WH, Aimi J, Huang YS, Venkatesan S, Chiang YW, Huang SH, Kuo SW, Chen, T, 2018. Synthesis of well-defined PCL-b-PnBA-b-PMMA ABC-type triblock copolymers: toward the construction of nanostructures in epoxy thermosets. *Polymer Chemistry*, 9(48):5644–5654.
- Jiang X, Luo S, Armes SP, Shi W, Liu S, 2006. UV irradiation-induced shell cross-linked micelles with pH-responsive cores using ABC triblock copolymers. *Macromolecules*, 39(18):5987–5994.

- Keefe BJO, Monnier SM, Hillmyer MA, Tolman WB, Se PS, 2001. Rapid and Controlled Polymerization of Lactide by Structurally Characterized Ferric Alkoxides. *Journal of the American Chemical Society*, 123(2):339–340.
- Ko BT, Lin CC, 2001. Synthesis, characterization, and catalysis of mixed-ligand lithium aggregates, excellent initiators for the ring-opening polymerization of L-lactide. *Journal of the American Chemical Society*, 123(33):7973–7977.
- Kryuchkov MA, Detrembleur C, Bazuin CG, 2014. Linear amphiphilic diblock copolymers of lactide and 2-dimethylaminoethyl methacrylate using bifunctional-initiator and one-pot approaches. *Polymer*, 55(10):2316–2324.
- Lee H, Matyjaszewski K, Yu S, Sheiko SS, 2005. Molecular brushes with spontaneous gradient by atom transfer radical polymerization. *Macromolecules*, 38(20):8264–8271.
- Lei L, Li F, Zhao H, Wang Y, 2018. One-pot synthesis of block copolymers by ring-opening polymerization and ultraviolet light-induced ATRP at ambient temperature. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 56(7):699–704.
- Li WJ, Danielson KG, Alexander PG, Tuan RS, 2003. Biological response of chondrocytes cultured in three-dimensional nanofibrous poly(ϵ -caprolactone) scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 67(4):1105–1114.
- Liu Y, Huang G, Pang Y, Han M, Ji S, 2015. One-pot synthesis of thermoresponsive cellulose-based miktoarm graft copolymer by simultaneous ATRP and ROP. *Journal of Renewable Materials*, 3(2):113–119.
- Luan B, Yuan Q, Pan CY, 2004. Synthesis and Characterization of Poly(trimethylene oxide)-block-Polystyrene and Poly(trimethylene oxide)-block-Polystyrene-block-Poly(methyl methacrylate) by Combination of Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) and Cationic Ring-Opening Polymerization (CROP). *Macromolecular Chemistry and Physics*, 205(15):2097–2104.
- Ma Z, Yu H, Jiang W, 2009. Bump-surface multicompartment micelles from a linear ABC triblock copolymer: A combination study by experiment and computer simulation. *Journal of Physical Chemistry B*, 113(11):3333–3338.
- Mahajan S, Cho BK, Allgaier J, Fetters LJ, Coates GW, Wiesner U, 2004. Synthesis of amphiphilic ABC triblock copolymers with PEO as the middle block. *Macromolecular Rapid Communications*, 25(22):1889–1894.
- Messman JM, Scheuer AD, Storey RF, 2005. Synthesis and characterization of A-B-A triblock copolymers derived from chloro-telechelic poly(l-lactide): Combining ring-opening polymerization (ROP) and atom transfer radical polymerization (ATRP). *Polymer*, 46(11):3628–3638.
- Moad G, Chong YK, Postma A, Rizzardo E, Thang SH, 2005. Advances in RAFT polymerization: The synthesis of polymers with defined end-groups. *Polymer*, 46(19):8458–8468.
- Nartop D, Hasanoğlu ÖE, Gündem M, Çeker S, Açar G, Ögütçü H, Sarı N, 2019. Synthesis, antimicrobial and antimutagenic effects of novel polymeric-Schiff bases including indol. *Journal of Molecular Structure* 1195:877-882.
- Öztürk T, Gökteş M, Hazer B, 2010. Synthesis and characterization of poly(methyl methacrylate-block-ethylene glycol-block-methyl methacrylate) block copolymers by reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 48(1):65–70.
- Öztürk T, Yavuz M, Gökteş M, Hazer B, 2016. One-step synthesis of triarm block copolymers by simultaneous atom transfer radical and ring-opening polymerization. *Polymer Bulletin*, 73(6):1497–1513.
- Palacios JK, Tercjak A, Liu G, Wang D, Zhao J, Hadjichristidis N, Müller AJ, 2017. Trilayered Morphology of an ABC Triple Crystalline Triblock Terpolymer. *Macromolecules*, 50(18), 7268–7281.
- Persson PV, Casas J, Iversen T, Córdova A, 2006. Direct organocatalytic chemoselective synthesis of a dendrimer-like star polyester. *Macromolecules*, 39(8):2819–2822.
- Şanal T, Oruç O, Öztürk T, Hazer B, 2015. Synthesis of pH- and thermo-responsive poly (ϵ -caprolactone-b-4-vinyl benzyl-g-dimethyl amino ethyl methacrylate) brush type graft copolymers via RAFT polymerization. *Journal of Polymer Research*, 22(3):1-12.

- Sivalingam G, Vijayalakshmi SP, Madras G, 2004. Enzymatic and thermal degradation of poly(ϵ -caprolactone), poly(D,L-lactide), and their blends. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 43(24):7702–7709.
- Villarroya S, Zhou J, Thurecht KJ, Howdle SM, 2006. Synthesis of graft copolymers by the combination of ATRP and enzymatic ROP in $scCO_2$. *Macromolecules*, 39(26):9080–9086.
- Wang C, Hsiue G, 2005. Polymer-DNA Hybrid Nanoparticles Based on Folate-Polyethylenimine-block-poly(L-lactide). *Bioconjugate Chemistry*, 16(2):391–396.
- Wang F, Bronich TK, Kabanov AV, Rauh RD, Roovers J, 2008. Synthesis and characterization of star poly(ϵ -caprolactone)-b-poly(ethylene glycol) and poly(L-lactide)-b-poly(ethylene glycol) copolymers: Evaluation as drug delivery carriers. *Bioconjugate Chemistry*, 19(7):1423–1429.
- Wang JL, Wang LU, Dong CM, 2005. Synthesis, crystallization, and morphology of star-shaped poly(ϵ -caprolactone). *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 43(22):5449–5457.
- Wang JS, Matyjaszewski K, 1995. Controlled/“Living” Radical Polymerization. Atom Transfer Radical Polymerization in the Presence of Transition-Metal Complexes. *Journal of the American Chemical Society*, 117(20):5614–5615.
- Wolf FF, Friedemann N, Frey H, 2009. Poly(lactide)-block-poly(HEMA) Block Copolymers: An orthogonal one-pot combination of ROP and ATRP, using a bifunctional initiator. *Macromolecules*, 42(15):5622–5628.
- Xie M, Dang J, Han H, Wang W, Liu J, He X, Zhang Y, 2008. Well-defined brush copolymers with high grafting density of amphiphilic side chains by combination of ROP, ROMP, and ATRP. *Macromolecules*, 41(23):9004–9010.
- Ydens I, Degée P, Dubois P, Libiszowski J, Duda A, Penczek S, 2003. Combining ATRP of methacrylates and ROP of L,L-dilactide and ϵ -caprolactone. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 204(1):171–179.
- Yilmaz G, 2019. One-pot synthesis of star copolymers by the combination of metal-free ATRP and ROP processes. *Polymers*, 11(10):1–9.
- Yu YC, Li G, Kang HU, Youk JH, 2012. One-step synthesis of poly(alkyl methacrylate)-b-polyester block copolymers via a dual initiator route combining RAFT polymerization and ROP. *Colloid and Polymer Science*, 290(16):1707–1712.
- Zhai X, Peleshanko S, Klimenko NS, Genson KL, Vaknin D, Vortman MY, Shevchenko VV, Tsukruk VV, 2003. Amphiphilic dendritic molecules: Hyperbranched polyesters with alkyl-terminated branches. *Macromolecules*, 36(9):3101–3110.
- Zhu J, Jiang W, 2005. Self-assembly of ABC triblock copolymer into giant segmented wormlike micelles in dilute solution. *Macromolecules*, 38(22):9315–9323.

Atf İçin: Çalışkan E, Biryan F, Koran K, 2021. Kalkon Grubu Taşıyan Yeni Akrilamid Polimerinin Hazırlanması, Kinetik ve Dielektrik Özelliklerinin İncelenmesi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2903-2915.

To Cite: Çalışkan E, Biryan F, Koran K, 2021. Preparation of a New Acrylamide Polymer Containing Chalcone Croup, Investigation of Its Kinetic and Dielectric Properties. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2903-2915.

Kalkon Grubu Taşıyan Yeni Akrilamid Polimerinin Hazırlanması, Kinetik ve Dielektrik Özelliklerinin İncelenmesi

Eray ÇALIŞKAN^{1*}, Fatih BİRİYAN², Kenan KORAN²

ÖZET: Bu çalışmada ilk olarak kalkon grubu içeren yeni bir akrilamid monomeri sentezlendi. Daha sonra serbest radikalik polimerizasyon yöntemine göre dikümil peroksit başlatıcı varlığında homopolimeri hazırlandı. Elde edilen polimerin termal özelliklerini incelemek ve bozunma aktivasyon enerjisinin belirlenebilmesi için farklı ısıtma hızlarında TGA ölçümleri alındı. Tek basamaklı bozunma gösteren polimerin Flynn-Wall-Ozawa yöntemine göre ortalama aktivasyon enerjisi hesaplandı. Karşılaştırmalı TGA eğrilerinden 0.02-0.5 dönüşüm aralığında Flynn-Wall-Ozawa eğrileri oluşturuldu ve ortalama aktivasyon enerjisi 127.03 kJ mol⁻¹ olarak belirlendi. Polimerin dielektrik özellikleri 1-200 kHz frekans aralığında farklı sıcaklıklarda empedans analizör ile incelendi. Oda sıcaklığında polimerin 1 kHz'deki dielektrik sabiti değeri 7.51 iken daha yüksek frekanslara çıkıldıkça bu değer azalmaktadır. 200 kHz değerinde polimerin dielektrik sabiti 7.33 olarak kaydedilmiştir. 10 kHz sabit frekansta oda sıcaklığında 7.44 olarak hesaplanan dielektrik sabiti sıcaklığın artmasıyla birlikte artış göstermiş, 50 °C' 10.48 ve 60 °C için 14.06 olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, kalkon, dielektrik özellik, termal özellik

Preparation of a New Acrylamide Polymer Containing Chalcone Croup, Investigation of Its Kinetic and Dielectric Properties

ABSTRACT: In this study, a new acrylamide monomer containing chalcone group was synthesized and a homopolymer was prepared according to free radical polymerization method in the presence of dicumyl peroxide initiator. In this study, a new acrylamide monomer containing chalcone group was synthesized and a homopolymer was prepared according to free radical polymerization method in the presence of dicumyl peroxide initiator. TGA measurements were taken at different heating rates to examine the thermal properties of the polymer and determine the degradation activation energy. The average activation energy of the one-step degradation polymer was calculated using the Flynn-Ozawa method. Flynn-Wall-Ozawa curves were generated from the comparative TGA curves in the range of 0.02-0.5 transformation, and the average activation energy was determined as 127.03 kJ mol⁻¹. The dielectric properties of the polymer were examined with an impedance analyzer in the frequency range of 1-200 kHz at different temperatures. While the dielectric constant value of the polymer at 1 kHz at room temperature is 7.51, this value decreases towards higher frequencies. The dielectric constant of the polymer at 200 kHz was recorded as 7.33. It was determined that the dielectric constant calculated as 7.44 at 10 kHz fixed frequency at room temperature increased to 10.48 for 50 oC and 14.06 for 60 oC with the increase of temperature.

Keywords: Acrylamide, chalcone, dielectric property, thermal property

¹Eray ÇALIŞKAN (Orcid ID: 0000-0003-2399-4100), Bingöl Üniversitesi, Kimya Bölümü, Bingöl, Türkiye

²Fatih BİRİYAN (Orcid ID: 0000-0001-9198-3329), ²Kenan KORAN (Orcid ID: 0000-0002-2218-7211) Fırat Üniversitesi, Kimya Bölümü, Elazığ, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Eray ÇALIŞKAN, e-mail: ecaliskan@bingol.edu.tr

GİRİŞ

Flavonoid ailesinin bir üyesi olan kalkonlar önemli bir doğal bileşikler sınıfıdır, ayrıca bitki rengiyle ilişkili olarak ekolojik bir rol oynarlar (Harborne ve ark., 1975; Moussa, 2000). Sentetik kalkonlar ve bunların heterosiklik türevleri en yaygın olarak Claisen-Schmidt prosedürüne göre çeşitli modifikasyonları yoluyla hazırlanır (Modzelewska ve ark., 2006; Hwang ve ark., 2011).

Fonksiyonelleştirilmiş polimerlerin kimyasal, biyolojik ve teknolojik kullanımlar dahil çeşitli alanlarda yaygın kullanımı, spesifik aktif fonksiyonel grupların potansiyel avantajlarına ve polimerik moleküllerin karakteristik özelliklerine dayanmaktadır (Tamilvanan ve ark., 2008).

Işığa duyarlı fonksiyonel gruplara sahip polimerlerin sentezi, gerekli yüksek teknoloji uygulamaları için modifiye edilebildiği için polimer biliminde aktif bir araştırma alanı olmuştur. Yüksek ışığa duyarlılık, iyi termal stabilite ve geliştirilmiş çözünürlük gibi özelliklerin bir kombinasyonuna sahip ışığa duyarlı polimerler, fotorezist olarak pratik kullanım için gereklidir. Işığa tepki veren gruplara sahip polimerler, biyosensörler, (Barım ve ark., 2015) fotolitografi, (Cho ve ark., 2008) holografik baş üstü ekranlar, enerji değişim malzemeleri, sıvı kristal ekranlar ve doğrusal olmayan optik malzemeler gibi, ortaya çıkan alanlarda geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir (Allcock and Cameron, 1994; Arun and Reddy, 2004).

Termogravimetrik analiz (TG) teknikleri, çeşitli organik ve inorganik bileşiklerin yanı sıra polimerik malzemelerin ısıya mağruz kaldıkları zaman meydana gelen ayrışmayla ilgili kinetik parametreleri oluşturmak için kullanılır (Flynn ve Wall, 1996). TG analizinden elde edilen kütle kaybı eğrilerinin şekilleri kullanılarak bozunma kinetiği hakkında birçok bilgi elde edilebilir. Bozulmuş maddenin ara ve son ürünlerinin termal kararlılığı ve bozunma bileşimi hakkında bazı fizikokimyasal veriler elde etmek mümkündür (Doyle, 1961; Coats ve Redfen, 1964; Wendlandt, 1986). Özellikle, termogravimetrik analiz (TG), farklı ısıtma oranlarında az miktarda numune ile polimerinin bozunma kinetiğini incelemek için en faydalı analiz olarak kabul edilmiştir (Gupta ve Mondal, 2019).

Dielektrik özellikler, elektriksel yalıtkan ve polimerler gibi katı malzemeleri değerlendirmenin en popüler yöntemlerinden biridir, çünkü dielektrik sabiti ölçümleri, kimyasal analiz tekniklerinden daha kolay yapılabilir. Empedans spektroskopisi, elektrolit malzemelerin elektriksel özelliklerinin birçoğunu ve bunların ara yüzlerini iletken elektrotlarla karakterize etmek için nispeten yeni ve güçlü bir yöntemdir. Bir malzemenin geçirgenliği, elektromanyetik enerjiyi absorblama, iletme ve yansıtma yeteneğini ifade eder. Geçirgenlik, dielektrik sabiti (ϵ') ve dielektrik kayıp faktöründen (ϵ'') oluşan karmaşık bir niceliktir; burada ϵ' , reel bileşendir ve maddenin kapasitesi ve elektrik enerjisini depolama yeteneği ve ϵ'' sanal kısmı ve enerji yayılımının çeşitli soğurma mekanizmaları ile ilgilidir (Yakuphanoglu ve ark., 2005; Everard ve ark., 2006).

Literatürde kalkon türevli polimerin sentezi ve bir takım fiziksel özelliklerinin araştırılmasına yönelik bazı çalışmalar bulunmasına rağmen, kalkon gruplu poliakrilamit'in termal ve dielektrik özelliklerinin birlikte belirlenmesine yönelik çalışmalara rastlanılmamıştır. Özellikle, daha önceki çalışmamızın dışında (Biryant, 2019) kalkon polimerlerinin termal bozunma kinetiğinin detaylıca araştırıldığı çalışmalara literatür araştırmalarımızda rastlanılmamıştır. Bu açıdan mevcut çalışma ile kalkon yan gruplu akrilamit homopolimerinin termal bozunma kinetiğini ve beraberinde dielektrik özellikleri araştırarak, literatürdeki bu boşluğun doldurması amaçlanmıştır.

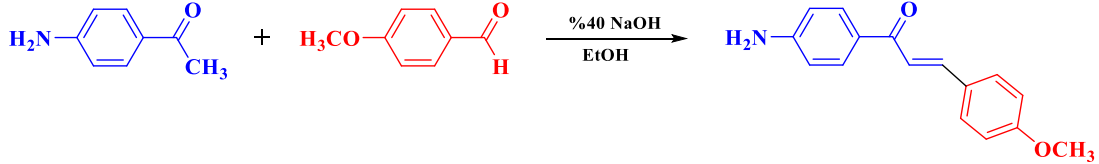
MATERYAL VE METOT

Sentez aşamalarında kullanılan 4-aminoasetofenon, 4-metoksi benzaldehit, sodyum hidroksit, akrilolil klorür, 2,2' azobisisobütironitril (AIBN), etil alkol ve tetrahidrofurana Sigma-Aldrich, NMR numunelerinin hazırlanması için kullanılan döteryumlu çözücüler Merck'den temin edilmiştir.

Bileşiklerin karakterizasyonunda ve fiziksel ölçümlerinde; FT-IR spektrumları Thermo Nicolet IS5 FT-IR spektrometre cihazı ile NMR Spektrumları Bruker Avance III (400 MHz), Termal analizleri SHIMADZU marka DTG-60 birleşik sistem ve dielektrik parametrelerin ölçümlerinde HIOKI IM3536 LCR meter cihazı kullanılmıştır.

1-(4-aminofenil)-3-(4-metoksifenil)prop-2en-1-one Bileşiğinin Sentezi (NH₂-MKAL)

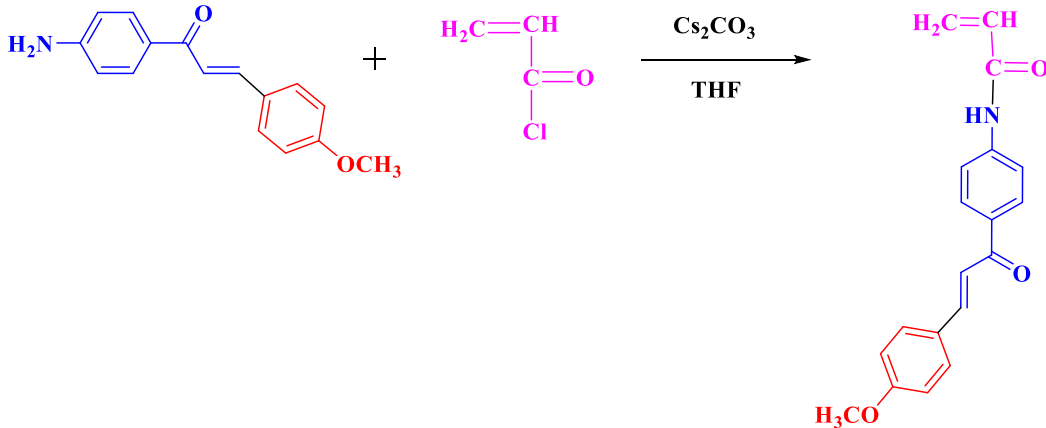
Metoksi sübtitüe aminokalkon bileşiği literatürde var olan Claisen-Schmidt kondenzasyon protokolüne (Funiss ve ark., 2004; Modzelewska ve ark., 2006) göre sentezlendi 2,00 g (14,80 mmol) 4-aminoasetofenon 100 mL'lik reaksiyon balonunda 60 mL susuz etanol ile çözüldü. Reaksiyona oda sıcaklığında yeni hazırlanmış %40'lık NaOH çözeltisinden 20 mL eklendi ve yarım saat karıştırıldı. Daha sonra 2,12 g (15,54 mmol) p-metoksi benzaldehit reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi. Reaksiyona oda sıcaklığında 24 saat devam ettirildikten sonra sonlandırıldı. Ortamdaki çözücünün bir kısmı uzaklaştırıldı ve sodyumbisülfid içeren suya aktarıldı. Seyreltik HCl çözeltisi ile pH 7,00 civarına getirildi. Elde edilen çökelek süzüldü ve bol suyla yıkandıktan sonra ilk olarak oda sıcaklığında ardından 40 °C deki vakumlu etüvde kurutuldu. 3.23 g Sarı renkli katı madde **NH₂-MKAL** elde edildi. Verim: %86.



Şema 1. 1-(4-aminofenil)-3-(4-metoksifenil)prop-2en-1-one bileşiğinin Sentezi

N-(4-(3-(4-metoksifenil)akriloil)fenil)akrilamit Monomerinin Sentezi (MKAL-AK)

2.00 g NH₂-MKAL (7,90 mmol) bileşiği THF içerisinde çözüldü ve 5.15 g (15,79 mmol) Cs₂CO₃ ilave edildi. Daha sonra 0.786 g (8.69 mmol) akriloil klorür çözücü ile seyreltilerek damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon 12 saat oda sıcaklığında devam etti. Reaksiyonu sonlandırdıktan sonra ortamdaki katı süzülerek ayrıldı. Süzüntüdeki çözücü tamamen uzaklaştırıldı ve kloroformda çözüldü. Çözünmeyen kısım süzülerek süzüntü n-hekzan da çöktürüldü. Elde edilen 1.93 g sarı renkli katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Verim: %79.

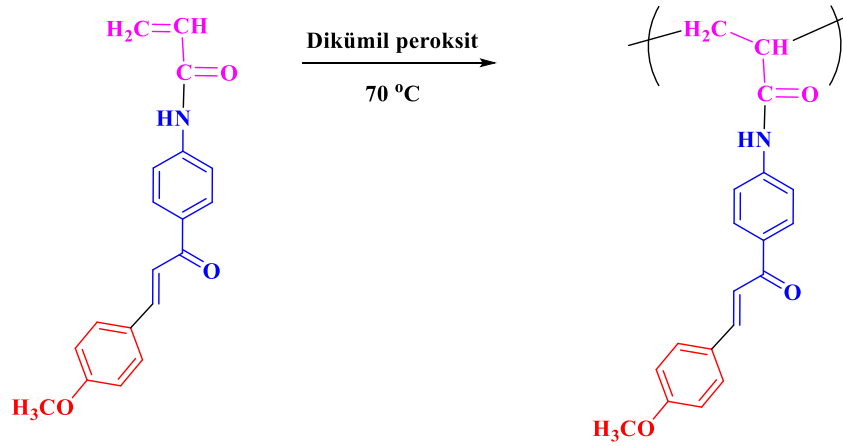


Şema 2. N-(4-(3-(4-metoksifenil)akriloil)fenil)akrilamit monomerinin sentezi (MKAL-AK)

Polimerizasyon

MKAL-AK monomerinin polimerizasyonu için serbest radikalik polimerizasyon yöntemi kullanıldı. Vida kapaklı polimerizasyon tüpüne 1 g monomer ve 2 mL dioksan çözücüsü eklendikten sonra argon gazından geçirildi. Ardından kütlece 0.01 g dikünil peroksit başlatıcısı eklenerek kapak

sıkıca kapatıldı ve 70 °C’de yağ banyosuna bırakıldı. Polimerizasyonun ilerleyişi çözeltinin kıvamı kontrol edilerek gerçekleştirildi ve yaklaşık 18 saat sonra durduruldu. Polimer tüpü oda sıcaklığında soğuduktan sonra bir miktar çözücü ile seyreltildi ve etil alkol içerisinde damla damla çöktürüldü. Çökelek süzüldü ve ilk olarak oda sıcaklığında daha sonra 40 °C’deki vakumlu etüvde 24 saat kurutuldu. Dönüşüm: %62



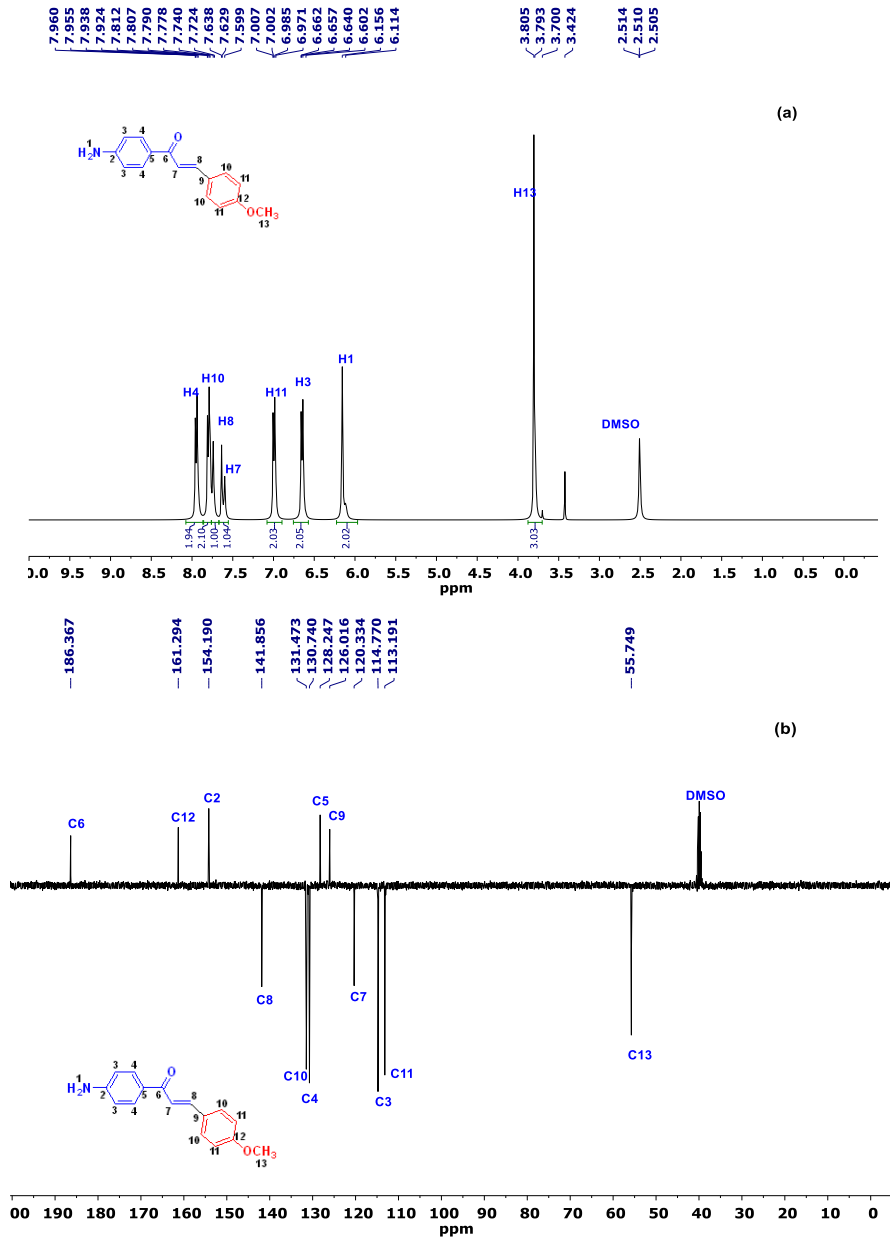
Şema 3. Homopolimerin Sentezi P(MKAL-AK)

BULGULAR VE TARTIŞMA

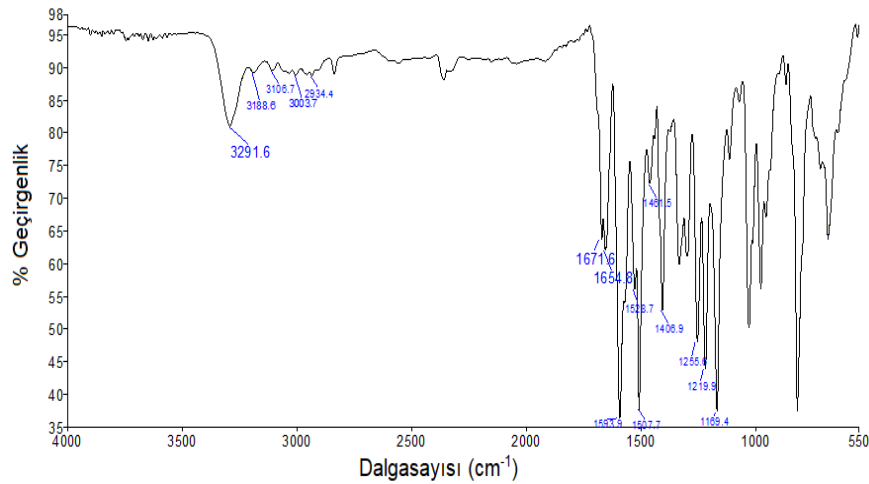
Sentezlenen Bileşiklerin Karakterizasyonu

NH₂-MKAL bileşiğinin Şekil 1(a) ‘da gösterilen ¹H-NMR spektrumunda toplam sekiz farklı kimyasal çevreye sahip proton bulunmaktadır. Ayrıca integral yüksekliklerine bakıldığında yapıdaki toplam proton sayısı ile uyumludur. Kalkon bileşiğinin oluşumuna ait en karakteristik proton pikleri H7 ve H8 ile nemalandırılan olefinik protonlardır. 6.14 ppm deki –NH₂ piki de yapıyı desteklemektedir. Şekil 1(b)’deki C-NMR spektrumunda yapı ile uyumlu 12 farklı karbon görülmektedir. 186.36 ppm’deki karbonil karbonu (C6), 141.85 ve 114.77 ppm’deki olefinik karbonlar (C8 ve C7) yapıyı destekleyen en karakteristik pikleridir.

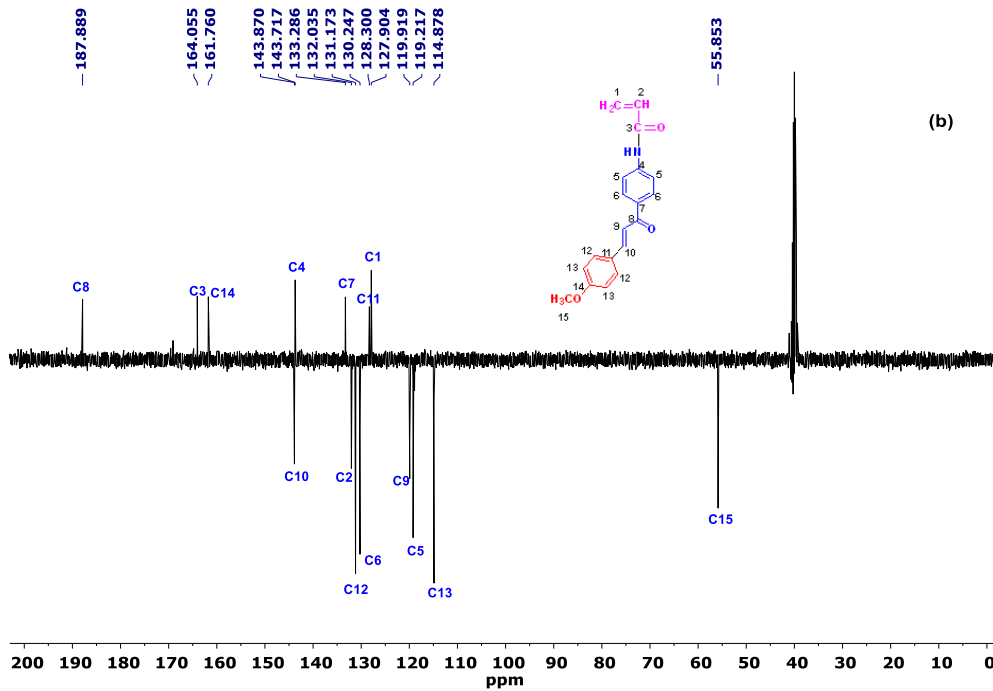
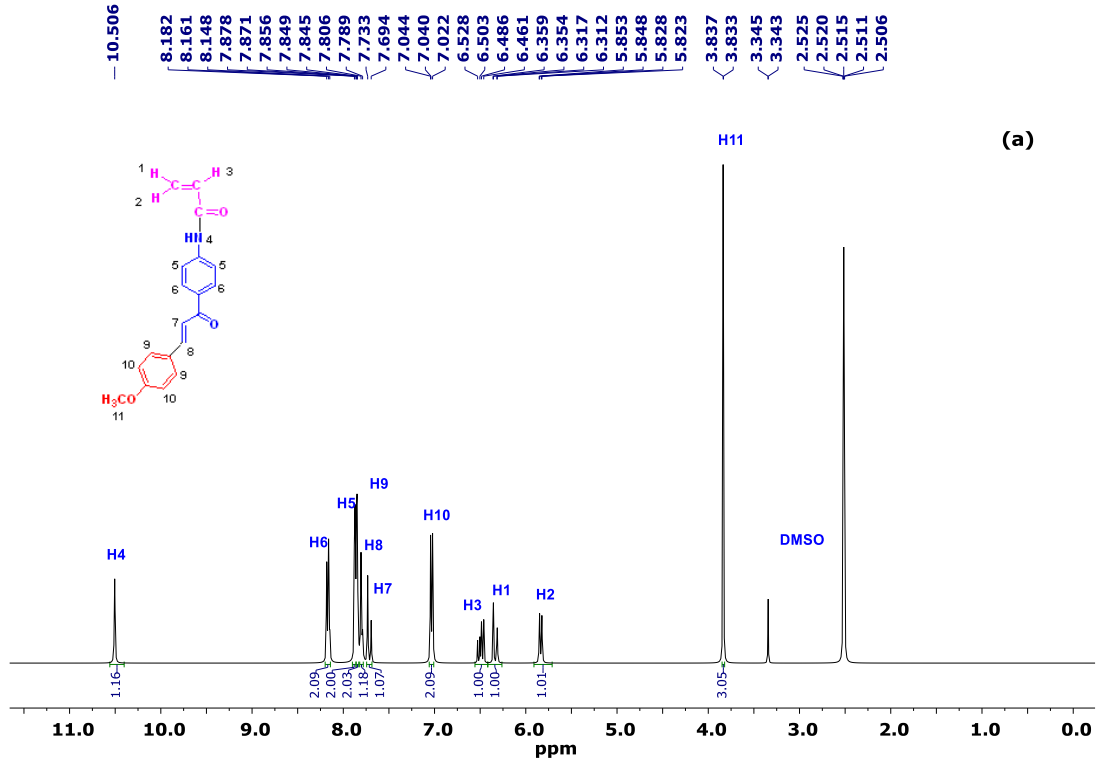
MKAL-AK bileşiğinin Şekil 2’de FT-IR spektrumu görülmektedir. Monomer oluşumunu gösteren en karakteristik fonksiyonel grup pikleri; 1671 cm⁻¹’deki amit karbonili, 1654 cm⁻¹’deki kalkon karbonili, 3291 cm⁻¹’deki –HN pikleridir. Monomerin Şekil 3’deki ¹H-NMR spektrumunda 5.84 ppm’deki (H2), 6.35 ppm’deki (H1), 6.50 ppm’deki (H3) protonları yapıya bağlanan akrilat grubundaki vinil protonlarıdır. Ayrıca 6.14 ppm’deki serbest –NH₂ piki amit oluşumu sonucu 10.50 ppm’e kaymıştır. Benzer şekilde ¹³C-NMR spektrumunda 164.05 ppm’de yeni bir karbonil piki gözlenmiştir, bu pik yapıya akrilat bağlandıktan sonra oluşan amit karbonil karbonuna aittir. 127.90 ve 132.03 ppm’deki sırasıyla C1 ve C2 karbon atomları monomer oluşumunu destekleyen en karakteristik piklerdir.



Şekil 1. 1-(4-aminofenil)-3-(4-metoksifenil)prop-2-en-1-one bileşiğinin a) $^1\text{H-NMR}$ b) $^{13}\text{C-NMR}$ (APT) spektrumu

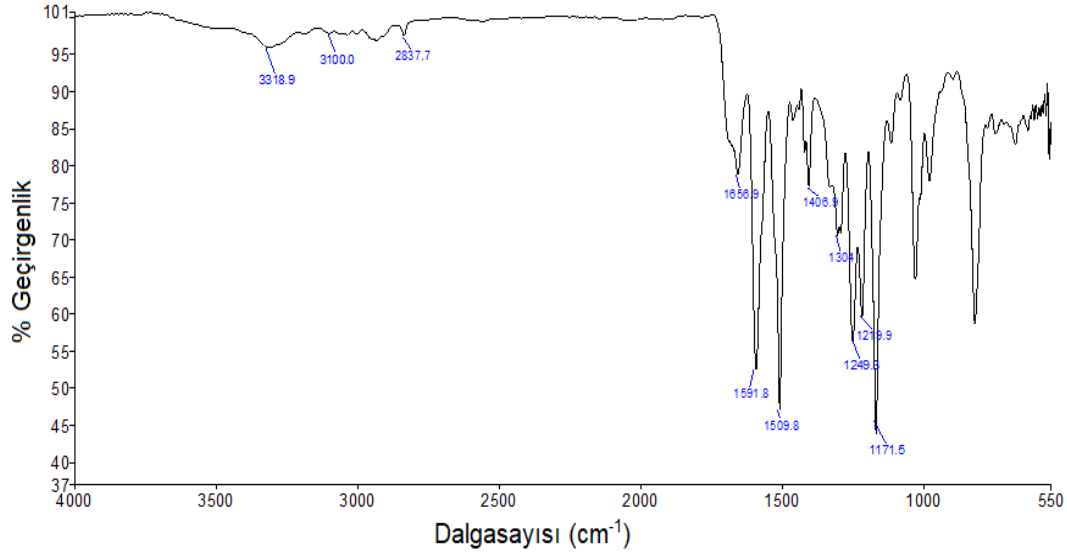


Şekil 2. Monomerin FT-IR Spektrumu (ATR)

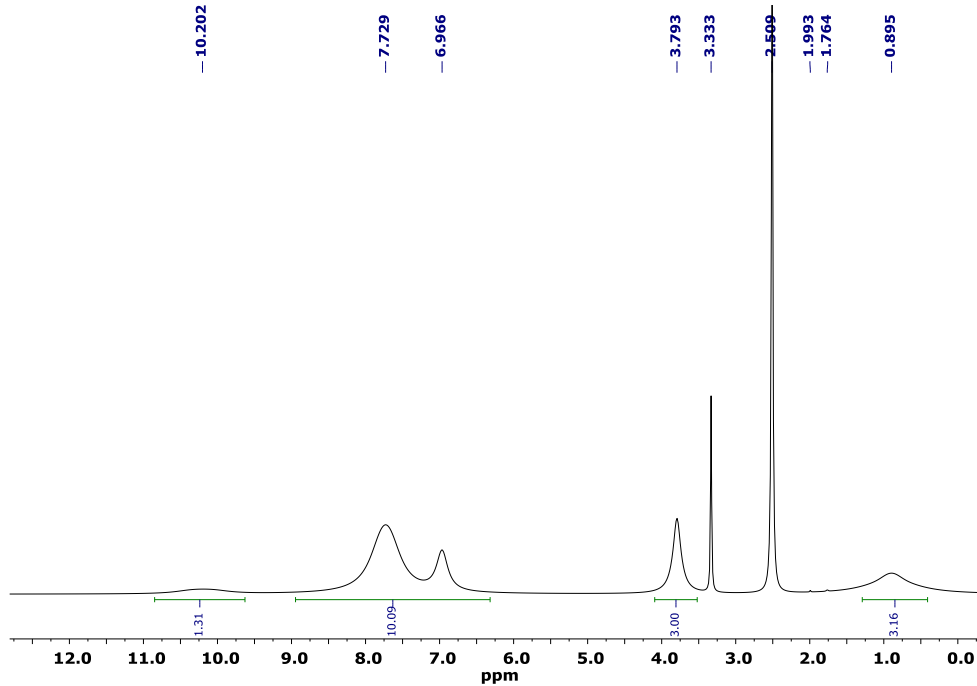


Şekil 3. Monomerin a) ¹H-NMR b) ¹³C-NMR (APT) spektrumu

Polimerin FT-IR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4) 3318 cm⁻¹'de –NH gerilme titreşimi, 1677 cm⁻¹'de amit karbonil gerilme titreşimi, 1656 cm⁻¹'de kalkon karbonili, 1509 ve 1591 cm⁻¹'de aromatik –CH gerilme titreşimleri karakteristik piklerdir.



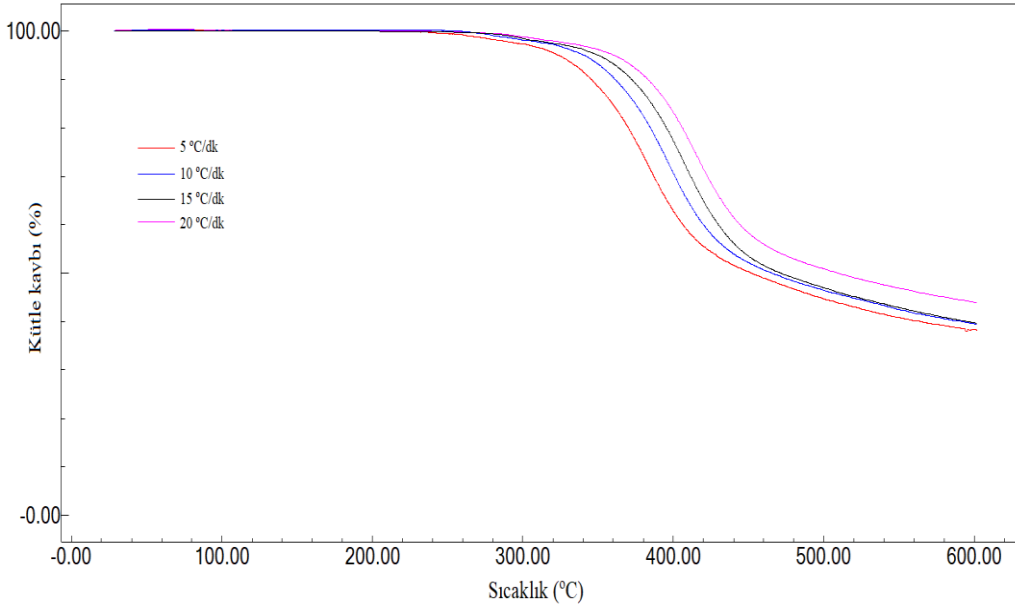
Şekil 4. Homopolimerin FT-IR Spektrumu (ATR) Homopolimerin d_6 -DMSO ile çekilen 1H -NMR spektrumunda (Şekil 5) 0,89 ppm'deki 3 protonluk sinyal ana zincir protonlarına, 3,79 ppm'deki 3 protonluk sinyal metoksi protonlarına, 6,96-7,72 ppm aralığındaki 10 protonluk sinyal aromatik ve olefinik protonlara, 10,20 ppm'deki bir protonluk sinyal de $-HN$ protonuna karşılık gelmektedir.



Şekil 5. Homopolimerin 1H -NMR Spektrumu ($DMSO-d_6$)

Polimerin Termal Özellikleri

P(MKAL-AK) polimerinin termal özelliklerini incelemek amacıyla Shimadzu marka DTG-60 birleşik sistemi kullanıldı. Elde edilen toz polimerden 5 mg örnek alınarak azot atmosferinde oda sıcaklığından 600 °C'ye kadar farklı ısıtma hızlarında (5, 10, 15, 20 °C dk⁻¹) TGA ölçümleri kaydedildi. Sonuçlar aynı sıcaklık ekseninde karşılaştırmalı olarak grafiğe alındı. Polimerin bozunma aktivasyon enerjisi Flynn-Wall-Ozawa yöntemi kullanılarak belirlendi. Farklı ısıtma hızlarındaki bozunma sıcaklıkları kaydedildi ve FWO eğrileri oluşturuldu. Elde edilen eğrilerin eğiminden ortalama aktivasyon enerjisi değerleri belirlendi.



Şekil 6. Homopolimerin farklı ısıtma hızlarındaki TGA eğrileri

Tablo1. Homopolimerin farklı ısıtma hızlarındaki TGA sonuçları

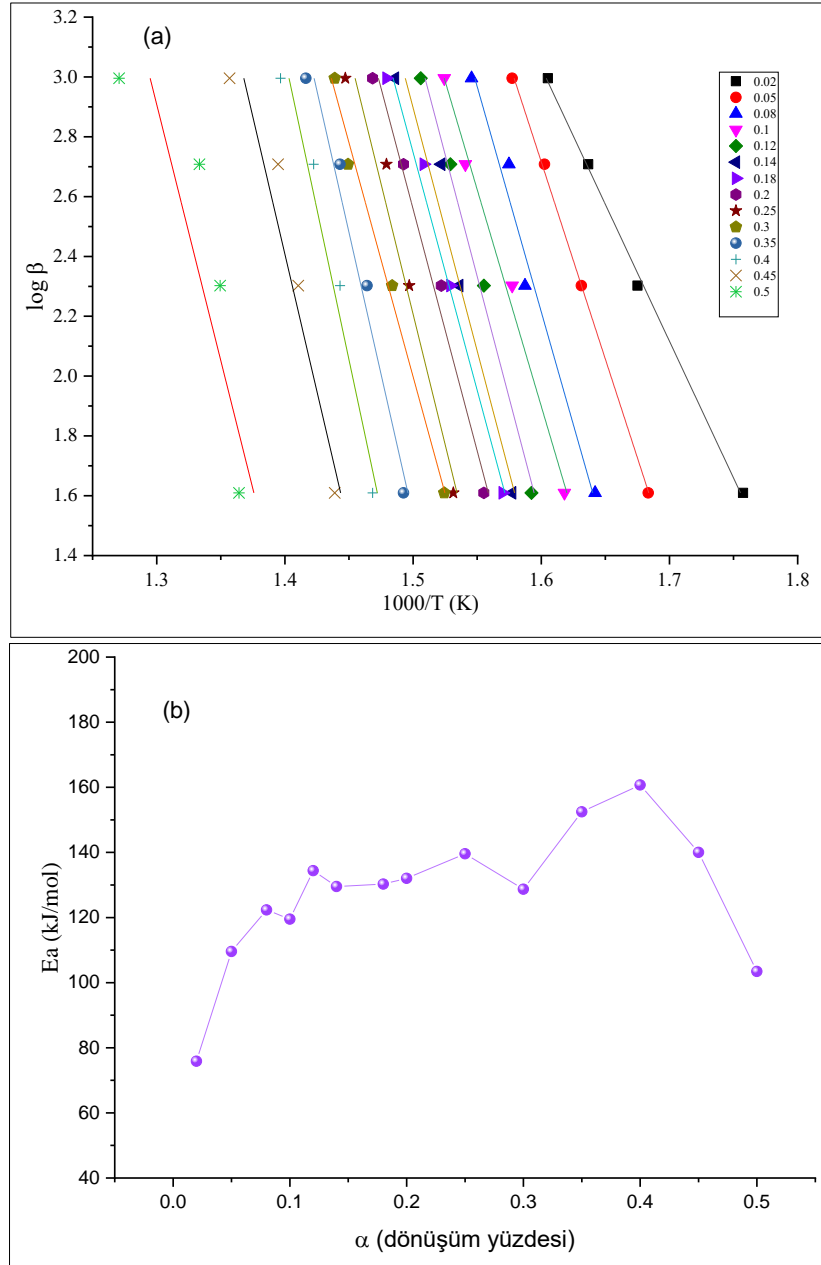
Isıtma Hızı (°C)	T _{baş} (°C)	T _{%50} (°C)	600'deki atık (%)
5	290	456	37
10	318	471	40
15	337	476	40
20	352	510	44

Serbest radikalik yöntemle hazırlanan homopolimerin termogravimetrik analizi farklı ısıtma hızlarında oda sıcaklığından 600 °C'ye kadar azot atmosferinde, Shimadzu DTG-60 birleşik sistem kullanılarak gerçekleştirildi. Polimerin farklı ısıtma hızlarındaki TGA sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir. Karşılaştırmalı TGA eğrileri Şekil 6'da görüldüğü üzere polimer tek basamaklı bir bozunma eğrisi vermiştir. Bu eğrilerin ortak bozunma yüzdelerine karşılık gelen sıcaklıklar kaydedildikten sonra $1 T^{-1}$ 'ye karşılık ısıtma hızlarının logaritmaları ($\log\beta$) grafiğe geçirildi. Grafikte her bir dönüşüm yüzdelerine karşılık gelen noktalar birleştirildiğinde doğru denklemleri elde edildi. Şekil 7'de gösterilen Flynn-Wall-Ozawa eğrilerini oluşturan her bir doğrunun eğiminden eşitlik 4'e göre aktivasyon enerjileri hesaplandı (Venkatesh ve ark., 2013).

$$\ln(\beta) = \text{sabit} - 1.052 \frac{E_a}{R \cdot T} \quad (1)$$

Bu eşitlikte β : TGA analizinde kullandığımız farklı ısıtma hızları, E_a : bozunma aktivasyon enerjisi, T: Kelvin cinsinden sıcaklık değeri ve R ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$).

Aktivasyon enerji değerleri 0.02-0.5 dönüşüm aralığında $75.87\text{-}160.71 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Aktivasyon enerjisi artan dönüşüm ile inişli-çıkışlı dağılımı Şekil 7(b)'de göstermiştir. Ortalama aktivasyon değeri $141.26 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak hesaplandı. Bu değer literatürdeki akrilat polimerlerine yakın değer olarak belirlendi.



Şekil 7. Homopolimerin a) Flynn-Ozawa eğrileri b) E_a değerlerinin dönüşümle değişimi.

Polimerin Dielektrik Özelliklerinin Belirlenmesi

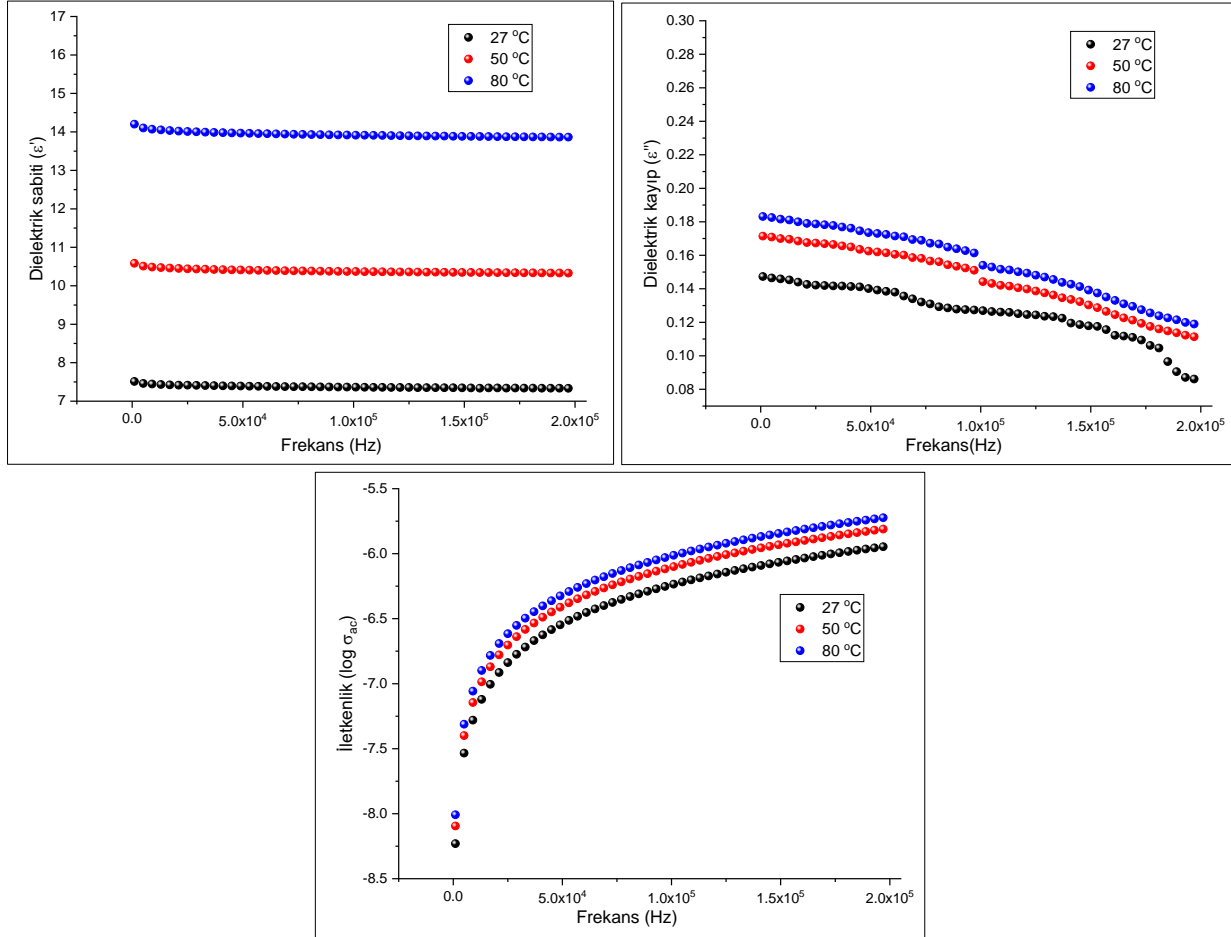
P(MKAL-AK)'ın elektriksel özellikleri bir empedans analizör cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla elde edilen 100 mg polimer toz numunesi hidrolik pres yardımıyla yaklaşık 5 ton basınç altında iki yüzü pürüzsüz olacak şekilde disk haline getirildi. Daha sonra bu diskin et kalınlığı dijital-hassas kumpas yardımıyla mm cinsinden ölçüldü. Numunenin alt ve üst kontak bağlantıları yapıldıktan sonra empedans analizörden uygulanacak elektrik alan aralığı belirlendi (1-200 kHz). İlk önce oda sıcaklığında alınan ölçümler 50 °C ve 80 °C de sabit sıcaklıklarda tekrarlandı. Kaydedilen kapasitans, dielektrik kayıp faktörü ve konduktans değerleri kullanılarak aşağıdaki formüller yardımıyla dielektrik parametreleri hesaplandı (Gürgenç ve Biryan, 2020).

$$\epsilon' = C_p \frac{d}{A\epsilon_0} \quad (2)$$

$$\epsilon'' = \epsilon' DF \quad (3)$$

$$\sigma = G_p \frac{d}{A} \quad (4)$$

A: Numunenin alanı (cm²); ϵ' : Dielektrik sabiti
 C: Numunenin kapasitansı (F); ϵ'' : Dielektrik kayıp
 d: Numunenin çapı (cm)
 ϵ_0 : Boşluğun dielektrik sabiti (8.85×10^{-14} F cm⁻¹)



Şekil 8. Polimerin farklı sıcaklıklarda frekansa karşı a) ϵ' b) ϵ'' c) $\log \sigma_{ac}$ değerlerindeki değişimler.

Tablo 2. Polimerin 1kHz'deki farklı sıcaklıklarda dielektrik parametreleri

Sıcaklık (°C)	Dielektrik Sabiti (ϵ')	Dielektrik Kayıp (ϵ'')	İletkenlik (σ_{ac})	$\log(\sigma_{ac})$
27	7.51	0.14	5.88×10^{-9}	-8.23
50	10.58	0.17	8.03×10^{-9}	-8.09
80	14.20	0.18	9.82×10^{-9}	-8.00

Homopolimerin değişen frekans ve sıcaklık değerlerindeki dielektrik özelliklerinde dikkate değer bir değişim gözlenmiştir. Şekil 8'de verilen dielektrik sabitindeki değişim görüldüğü üzere frekans arttıkça azalmakta yüksek frekanslarda ise neredeyse sabit bir değerde kalmaktadır. Polimerin dielektrik özellikleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 3. Kalkon yan grubu içeren bazı polimerlerin Termal ve dielektrik özelliklerinin karşılaştırması.

Literatürdeki Benzer Polimerler	IDTa (°C)	Ea (kJ mol ⁻¹)	Dielektrik sabiti (ϵ')
P(MKAL-AK)	318	127.03	7.51
(Çelik ve Coşkun 2018)	252	145.70	3.33
(Biryan ve Pıhtılı 2020)	298	157.78	5.57
(Gürgeç ve Biryan 2020)	285	-	6.68

Literatürde kalkon yan grubu içeren metaktilat polimerler üzerinde yapılan bir çalışmada aktivasyon enerjisi $145.7 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak hesaplanmışlardır (Çelik ve Coşkun, 2018). Ayrıca kalkon grubuna bağlı amit yapısını içeren ve iki basamaklı bozunma gösteren akrilat polimeri için Flynn-Wall-Ozawa yöntemine göre ortalama aktivasyon enerjisini $157.78 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak hesaplanmış. (Biryen ve Pıhtılı, 2020). P(MKAL-AK) için hesaplanan termal bozunma aktivasyon enerjisi literatürde kalkon içeren polimerlere göre daha düşük çıkmıştır. Özellikle dönüşümün ilk kademelerinde aktivasyon enerjisinin daha düşük olmasının sebebinin akrilamit yapısından, zayıf bağların kopmasından ve buharlaşabilen türlerin uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Gasparovic ve ark., 2012). Polimerin 1 kHz'deki dielektrik sabiti literatürdeki benzer fonksiyonel gruplar içeren polimerlerle Tablo 3'te karşılaştırılmıştır. P(MKAL-AK) için dielektrik sabiti diğer polimerlerden daha yüksek çıkmıştır. Bunun sebebinin ana zincirin akrilamit birimlerinden oluşması ve aromatik halkaya bağlı metoksi grubunun polarizasyona katkısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yüksek frekanslarda dielektrik özellikler neredeyse sabit bir değerde kalmıştır, bunun sebebinin elektrik alan yönü çok hızlı değiştiğinde ara yüzey kutuplaşmasının oluşmadığından kaynaklandığı düşünülmektedir. (Ramya ve ark., 2005).

SONUÇ

Bu çalışmada, yan grubunda kalkon içeren yeni bir akrilamit polimerinin termal kinetiğinin ve dielektrik özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Sentezlenen kalkon, monomer ve polimer bileşiklerinin yapı karakterizasyonları FT-IR, ^1H ve ^{13}C -APT NMR spektroskopisi teknikleri kullanılarak gerçekleştirildi. Termal kinetiğinin incelenmesi için TGA termal analiz metodu kullanıldı. Bu amaç için öncelikle azot atmosferi altında dört farklı ısıtma hızında TGA ölçümleri alındı. Karşılaştırmalı TGA eğrilerinden 0.02-0.5 dönüşüm aralığında Flynn-Wall-Ozawa eğrileri oluşturuldu ve ortalama aktivasyon enerjisi $127.03 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak hesaplandı.

Sentezlenen yeni polimerin dielektrik özellikleri 1-200 kHz frekans aralığında farklı sıcaklıklarda empedans analizör ile incelendi. Polimerin oda sıcaklığında 1 kHz deki dielektrik sabiti değeri 7.51 iken daha yüksek frekanslara çıkıldıkça bu değer azalmaktadır. 200 kHz değerinde polimerin dielektrik sabiti 7.33 olarak kaydedilmiştir. 10 kHz sabit frekansta oda sıcaklığında 7.44 olarak hesaplanan dielektrik sabiti sıcaklığın artmasıyla birlikte artış göstermiş, 50 °C'de 10.48 ve 60 °C için 14.06 olarak hesaplanmıştır. Molekül içerisindeki birçok yük taşıyıcılar sıcaklığın etkisiyle kazandıkları termal enerji sayesinde belirli aktivasyon enerjisine sahip olabilir. Sıcaklık polimer zincirindeki hareketliliğini tetikler ve dolayısıyla serbest hacimde artışa neden olur buda molekül içerisinde polarizasyonun artmasına sebep olmaktadır.

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde sentezlenen bu yeni polimerin alternatif akım iletkenliği hem frekansa hem de sıcaklığa duyarlılık göstermiştir. Bu tür polimerik malzemeler dielektrik kapasitörü, elektriksel yalıtkan, ya da mikrodalga aygıtlarının parçaları gibi kullanım alanlarına sahiptirler.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından KRMYO.19.01 nolu proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlardan Eray Çalışkan makalenin tasarım, yazım ve organik sentez aşamalarında, Fatih Biryan Kinetik ve Dielektrik parametrelerin ölçümü ve sonuçların yorumlanmasında, Kenan Koran ise yapıların aydınlatılması ve yapı özellik ilişkisinin değerlendirilmesi kısımlarına katkıda bulunmuşlardır.

KAYNAKLAR

- Allcock HR, Cameron CG, 1994. Synthesis of photo-cross-linkable chalcone-bearing polyphosphazenes. *Macromolecules*, 27: 3131–3135.
- Arun A, Reddy BSR, 2004. Photocrosslinkable polymers based on 4-[5-(4-hydroxyphenyl)-3-oxopenta-1,4-dienyl] phenyl-2-methacrylate: photocrosslinking studies and reactivity ratios with vinylcyclohexane. *European Polymer Journal*, 40: 589–597.
- Barım G, Altun O, Yayla MG, 2015. Methacrylate Polymers Having Pendant Chalcone Moieties: Monomer Reactivity Ratios, Thermal and Optical Properties. *Polymer(Korea)*, 39: 13-22.
- Biryan F, 2019. Kalkon ve Hidroksil Yan Grupları İçeren Yeni Metakrilat Polimerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Termal ve Elektriksel Davranışları. *AKÜ FEMÜBİD*, 544-555.
- Biryan F, Pıhtılı G, 2020. Fabrication of a novel acrylate polymer bearing chalcone and amide groups and investigation of its thermal and isoconversional kinetic analysis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 139, 3857-3870.
- Celik T, Coskun MF, 2018. Dielectric and thermal properties of the methacrylate polymer bearing chalcone side group. *Journal of Molecular Structure*, 1157, 239-246.
- Cho SH, Lim HS, Jeon BK, Ko JM, Kim WG, Lee JY, 2008. Thermally Stable Photoreactive Polymers as a Color Filter Resist Bearing Acrylate and Cinnamate Double Bonds. *Macromolecular Research*, 16: 31-35.
- Coats AW, Redfen JP, 1964. Kinetic parameters from thermogravimetric data. *Nature*, 201: 68.
- Doyle CD, 1961. Kinetic analysis of thermogravimetric data. *Journal of Applied Polymer Science*, 5(15): 285–92.
- Everard CD, Fagan CC, O'Donnell CP, O'Callaghan DJ, Lyng JG, 2006. Dielectric properties of process cheese from 0.3 to 3GHz. *Journal of Food Engineering*, 75: 415-422.
- Flynn JH, Wall LA, 1966. General treatment of the thermogravimetry of polymers. *Journal of Research Natural Bureau Standantards A Physical Chemistry*, 70A(6): 487–523.
- Funiss BS, Hannford AJ, Smith PWG, Tatchell AR, 2004. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry. Longman, 5th ed., 1032–1035. London.
- Gasparovic L, Labovsky J, Markos J, Jelemensky L, 2012. Calculation of kinetic parameters of the thermal decomposition of wood by distributed activation energy model (DAEM). *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 26: 45–53.
- Gupta GK, Mondal MK, 2019. Kinetics and thermodynamic analysis of maize cob pyrolysis for its bioenergy potential using thermogravimetric analyzer. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 137: 1431–1441.
- Gurgenç T, Biryan F, 2020. Production, thermal and dielectrical properties of Ag-doped nano-strontium apatite and nano h-BN filled poly(4-(3-(2,3,4-trimethoxyphenyl) acryloyl) phenyl acrylate) composites. *Journal of Polymer Research*, 27:194.
- Harborne J, Mabry TJ, Mabry H, 1975. *The Flavonoids*. Chapman and Hall, 442, London.
- Hwang D, Hyun J, Jo G, Koh D, Lim Y. 2011. Synthesis and complete assignment of NMR data of 20 chalcones. *Magnetic Resonance Chemistry*, 49: 41-45.

- Modzelewska A, Pettit C, Achanta G, Davidson NE, Huang P, Khan SR, 2006. Anticancer activities of novel chalcone and bis-chalcone derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14:3491-3495.
- Moussa BA, 2000. Determination of some aminobenzoic acid derivatives: glafenine and metoclopramide. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 23: 1045-1055.
- Ramya, CS, Savitha, T, Selvasekharapandian, S, Kumar GH, 2005. Transport Mechanism of Cu-ion Conducting PVA Based Solid-Polymer Electrolyte. *Ionics*, 11: 436-441.
- Tamilvanan M, Pandurangan A, Subramanian K, Reddy BSR, 2008. Synthesis and characterization of mono- and di-methoxy substituted acrylate polymers containing photocrosslinkable pendant chalcone moiety. *Polymers and Advanced Technologies*, 19: 1218-1225.
- Venkatesh M, Ravi P, Surya P, 2013. Tewari isoconversional kinetic analysis of decomposition of nitroimidazoles: friedman method vs Flynn–Wall–Ozawa method. *The Journal of Physical Chemistry A*, 117: 10162–9.
- Wendlandt WW, 1986. *Thermal analysis*. Wiley, 3rd ed. London.
- Yakuphanoglu F, Okutan M, Zhuang Q, Han Z, 2005. The dielectric spectroscopy and surface morphology studies in a new conjugated polymer poly(benzobisoxazole-2,6-diylvinylene), *Physica B: Condensed Matter*, 365: 13-19.

To Cite: Arık M, Başar S.S, Demirci Gültekin D, Şen S, 2021. Bimolecular Interactions Between Graphene Oxide and a New Aza-BODIPY Derivative. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2916-2925.

Bimolecular Interactions Between Graphene Oxide and a New Aza-BODIPY Derivative

Mustafa ARIK^{1*}, Serhat Salih BAŞAR², Demet DEMİRCİ GÜLTEKİN³, Serkan ŞEN⁴

ABSTRACT: Fluorescent dyes are optical devices which are commonly used in medical and technical applications. Graphene-oxide, on the other hand, is a unique structure in nanotechnology with its oxygen-containing functional groups, high solubility, optical, electronic and thermal properties. Here we report photophysical properties of a newly synthesized fluorescent aza-BODIPY dye and dye-graphene oxide (GO) composite in aqueous media. Quantum yields were determined in both ethanol and chloroform medias according to Perker-Rees equation. Also quenching mechanism was discussed in the light of Stern-Volmer parameters.

Keywords: aza-BODIPY, graphene oxide, fluorescent, dye

¹ Mustafa ARIK ([Orcid ID: 0000-0001-5788-4466](https://orcid.org/0000-0001-5788-4466)), Siirt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, Siirt, Türkiye

² Serhat Salih BAŞAR ([Orcid ID: 0000-0000-0000-0000](https://orcid.org/0000-0000-0000-0000)), Erzurum İl Sağlık Müdürlüğü, Destek Hizmetleri Başkanlığı, İdari Hizmetler Birimi, Erzurum, Türkiye

³ Demet DEMİRCİ GÜLTEKİN ([Orcid ID: 0000-0003-0773-6048](https://orcid.org/0000-0003-0773-6048)), Atatürk Üniversitesi, Aşkale Meslek Yüksek Okulu, Makine ve Metal Teknolojileri Bölümü, Metalurji Programı, Aşkale, Erzurum, Türkiye

⁴ Serkan ŞEN ([Orcid ID: 0000-0001-6361-7137](https://orcid.org/0000-0001-6361-7137)), Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Ordu, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mustafa ARIK, e-mail: mustafa.arik@siirt.edu.tr

Bu çalışma Salih Serhat BAŞAR'ın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

INTRODUCTION

Aza-BODIPY molecules are constructed as complexes of BF_2 with azadipyromethene ligands (AzaBORonDIPYrromethene). Aza dyestuffs are considered as active fluorophores in the chemical sensor field. Recent studies point various applications such as laser dyes, sensors, photodynamic therapy, fluorescent probes, biological imaging, organic solar cells, and near-infrared (NIR) absorbing materials. Aza-BODIPY derivatives are excellent candidates for cancer therapy because of their low toxicities, NIR absorption and tumor-targeting abilities. They also offer pharmacokinetic desirable properties as photosensitizers (Chen et al., 2020). Aza-BODIPYs, which can also be designed with amphiphilic properties, can be dissolved in a wide range of solvents (Zuo et al., 2020). These molecules, which are known to be used frequently in sensor applications, have also been used in the determination of biogenic diamines with the advantage of their biocompatibility (Li et al., 2020). In recent decades, as the areas of use have increased, it has become more important to determine the photophysical properties of these compounds (Killoran et al., 2002). Because minor changes in the structure of aza-BODIPY compounds can significantly affect their fluorescence properties (Loudet and Burgess, 2007). Herein, a new aza-BODIPY dye containing fluorine (Figure 1), which has derivatives studied before has been synthesized to contribute the literature (Gorman et al., 2004; Hall et al., 2005; Ziessel et al., 2007; Lu et al., 2014). Synthesized dye 5,5-difluoro-1,3,7,9-tetrakis(4-(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)phenyl)-5*H*-4 λ^4 ,5 λ^4 -dipyrrolo[1,2-*c*:2',1'-*f*][1,3,5,2]triazaborinine was named as Molecule 6 for a better understanding of synthesis steps.

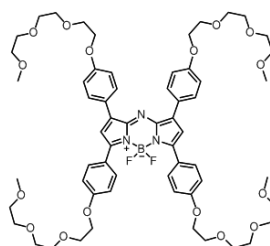


Figure 1. Chemical structure of Molecule 6

MATERIALS AND METHODS

Synthesis of Molecule 6

To synthesize Molecule 6, firstly triethyleneglycol monomethyl ether was reacted with *p*-TsCl in the presence of NEt_3 at room temperature and tosylate derivative **1** was obtained. For the purification of the compound, after washing with water, silica gel column chromatography (EtOAc) was used and **1** was obtained with 90 % yield. Afterwards, **1** was reacted with 4-hydroxyacetophenone and 4-hydroxybenzaldehyde, respectively, under the conditions of Williamson ether synthesis, and the corresponding 4-substituted derivatives **2** and **3** were obtained by purification by silica gel column chromatography (CH_2Cl_2) with yields of 90 % and 85 %, respectively. The unsaturated ketone derivative **4** obtained by condensation of these compounds in ethanol in the presence of 10 % NaOH was purified by silica gel column chromatography (EtOAc) in 80 % yield. By adding nitromethane to compound **4** under Michael addition reaction conditions, nitro ketone compound **5**, which is the precursor of the aza-BODIPY derivative, was obtained. Silica gel column chromatography was used for purification (EtOAc / MeOH: 99/1). (Yield: 85 %). The azadipyrim derivative obtained by heating the molecule **5** with ammonium acetate in *n*-butanol was reacted with $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ in dichloromethane in the presence of NEt_3 and dark navy blue Molecule 6 was synthesized. Silica gel column chromatography (EtOAc / MeOH: 97/3) was used for the purification of this compound and was

obtained in 60 % yield. The structure of Molecule 6 was determined by $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ spectroscopy techniques.

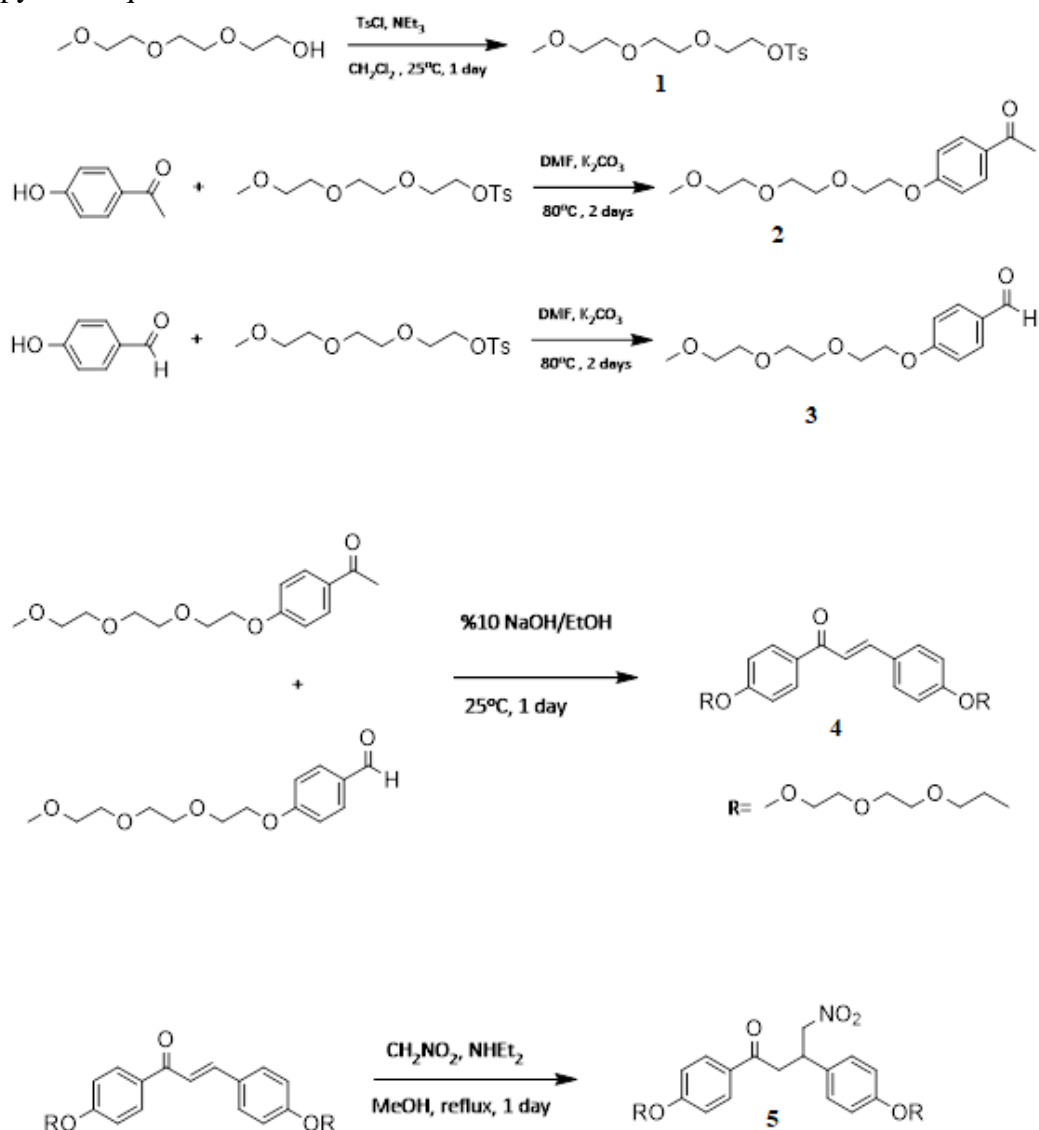


Figure 2. Synthesis of nitroketon compound 5

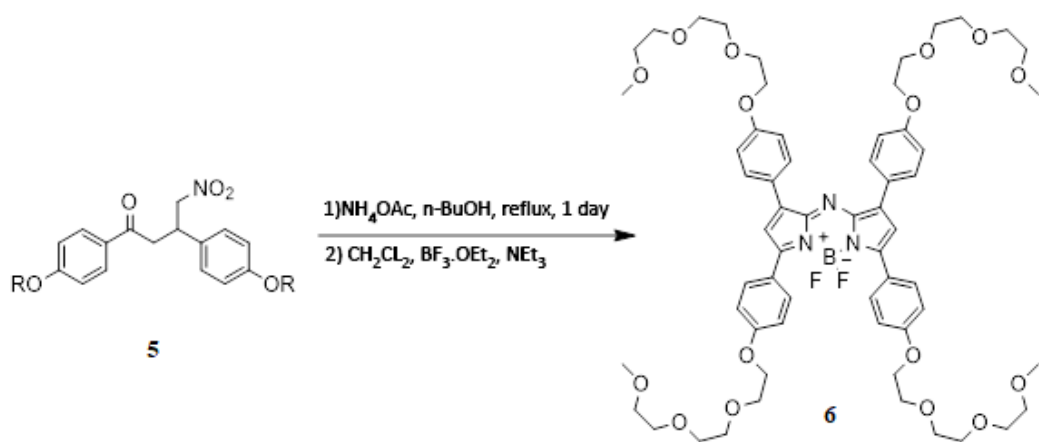


Figure 3. Synthesis of Molecule 6

Synthesis of Graphene Oxide

Graphene oxide (GO) preferred as quencher in this study is the oxidized form of graphene. Structurally, there are hydroxyl and epoxy groups on the main plane and carboxyl groups on the edges

(Dreyer et al., 2010). Graphene oxide is used in many areas such as supercapacitors (Zhang et al., 2012), solar cells (Narayanan et al., 2012), sensors (Balapanuru et al., 2010), electronic devices (Petersen et al., 2012), adsorption (Ramesha et al., 2011), Li- ion batteries (Zhu et al., 2011).

GO is obtained by reducing the number of layers of graphite oxide. Mostly Hummers or modified Hummers methods have been used for graphite oxide synthesis in the literature (Dimiev and Tour, 2014). For this purpose, 1 g graphite and 1 g NaNO₃ were mixed and dissolved in 50 mL 98 % H₂SO₄ and the system was cooled to 3 °C in an ice bath. Then 6 g of KMnO₄ was added gradually and stirred in ice bath for half an hour. The temperature of the system was increased to 35 °C, and mixed for 3 hours. The mixture was transferred to an ice bath, 50 mL of distilled water was added dropwise and stirred for another half hour. Another 100 mL of water was added to the system and after 10 minutes, 6 mL of H₂O₂ (35 %) was added dropwise. The resulting mixture was filtered and washed several times with 50 mL of warm distilled water. The part remaining on the filter paper was dried at 80 °C and graphite oxide was obtained.

A concentration of 1.0 mg / mL in pure water was prepared by graphite oxide obtained and it was separated into layers in an ultrasonic water bath for a few hours. This process was repeated to separate graphite oxide into layers thoroughly. Then the solution was left at room temperature for a certain period of time. During this time, the larger and water-insoluble graphene oxide layers precipitated by gravitational force. Then the precipitated graphene oxides were carefully removed from the solution and a graphene oxide dispersion with a concentration of 0.85 mg / mL was obtained. This stock dispersion was used to prepare composite solutions of different concentrations.

Experimental procedure

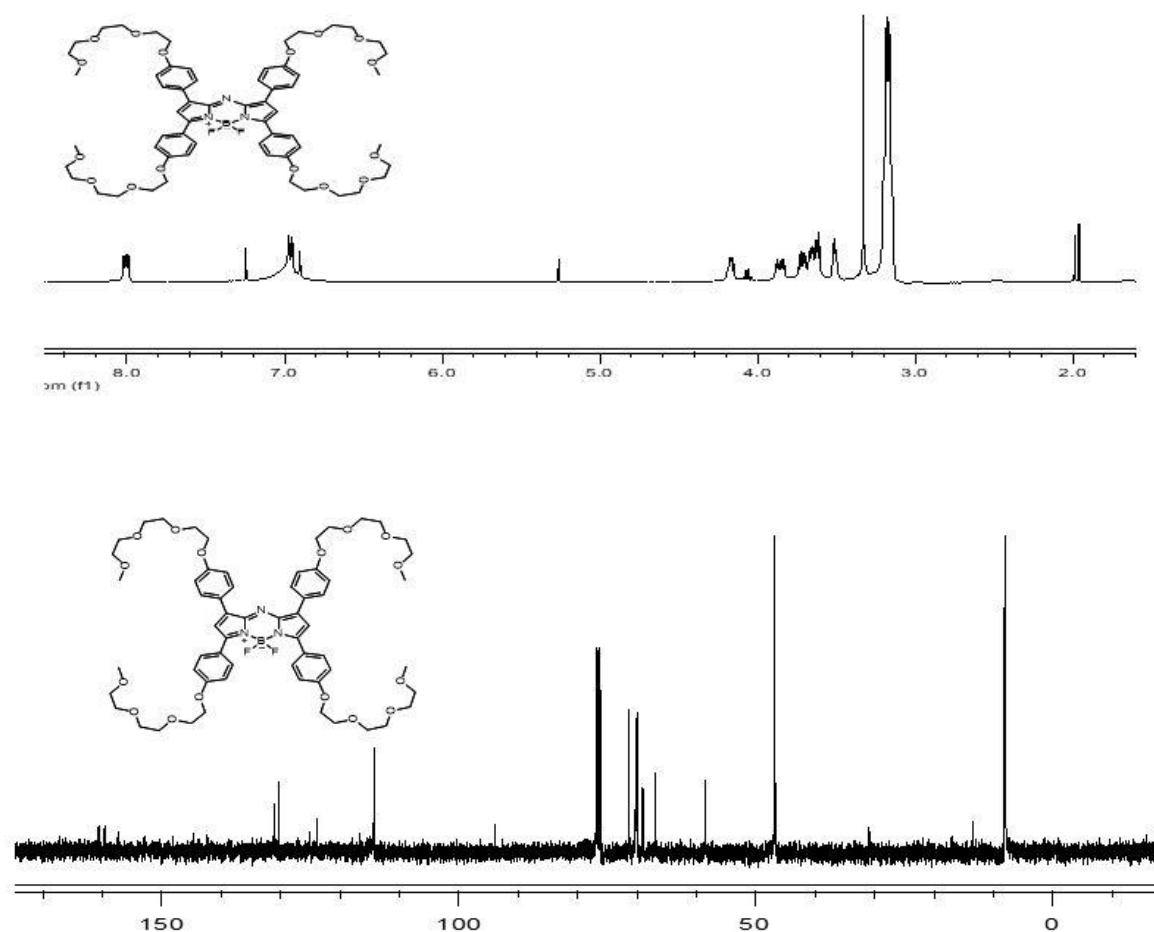
All reagents used were commercially available. UV/VIS Absorption and fluorescence spectra: Perkin Elmer Lambda 35 UV/VIS spectrophotometer and a Shimadzu RF-5301PC spectrofluorophotometer with quartz cuvettes, 1.0 cm optical path length, respectively. Fluorescence and absorption measurements of Molecule 6 -GO were performed at 10 °C to 50 °C in aqueous media to obtain Stern-Volmer graphics. For the steady-state fluorescence measurements, all the samples were excited at 640 nm, and fluorescence intensities were recorded between 630 and 800 nm. Fluorescence quantum yields (Φ_f) for Molecule 6 were calculated by using the Parker_Rees equation given below. Where D is the integrated area under the corrected fluorescence spectrum and n is the refractive index of the solution. The subscripts s and r refer to the sample and the reference, respectively. In addition, OD_s and OD_r are the optical densities for the sample and the reference at the excitation wavelength, respectively. For the determination of relative quantum yield values, cresyl violet in methanol was used as the reference ($\Phi_f=0.54$) was used as reference (Bouwer, 2011).

$$\Phi_s = \Phi_r \left(\frac{D_s}{D_r} \right) \left(\frac{n_s^2}{n_r^2} \right) \left(\frac{1-10^{-OD_r}}{1-10^{-OD_s}} \right) \quad (1)$$

¹H-NMR and ¹³C-NMR spectra were performed with Varian 400 and Bruker 400 instruments; in CDCl₃.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 298 K): δ (ppm) 8.04 – 7.98 (m, 8H), 7.00 – 6.96 (m, 8H), 6.92 (s, 2H), 4.22 – 4.17 (m, 8H), 3.91 – 3.85 (m, 8H), 3.77 – 3.62 (m, 24H), 3.55 – 3.51 (m, 8H), 3.36 (s, 12H),

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, 298 K): δ (ppm) 161.2, 160.2, 131.7 130.9, 125.7, 124.6, 114.9, 114.9, 72.1, 71.0, 70.9, 70.8, 69.9, 69.8, 67.7, 59.3



RESULTS AND DISCUSSION

Absorption and fluorescence spectra studies

The absorption and fluorescence spectra of the high purity Molecule 6 in chloroform (Fig 4a and 4b) and ethanol (Fig 5a and 5b) are parallel to the examples of azabodipy derivatives in the literature (Loudet and Burgess, 2007). When spectra are examined there is an increase in absorbance intensity with increasing concentration and the presence of a new band was not observed.

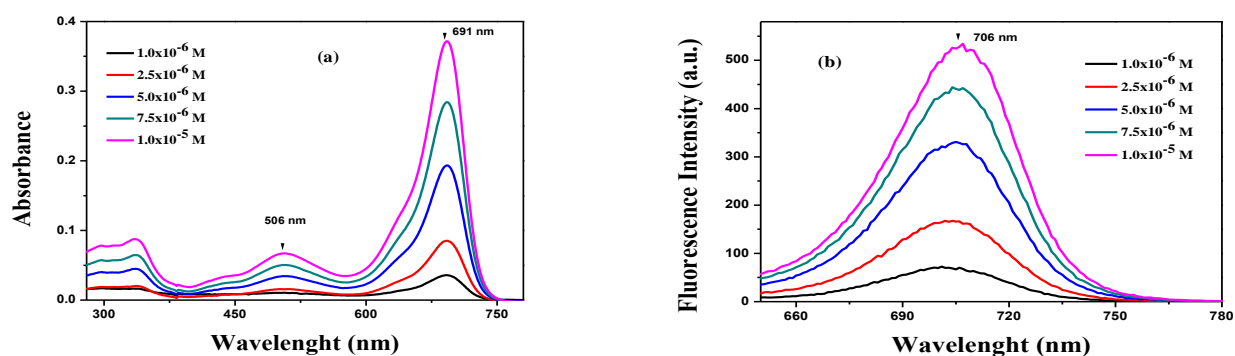


Figure 4. Absorption (a) and Fluorescence (b) spectra of aza dye in chloroform (λ_{exc} :640 nm)

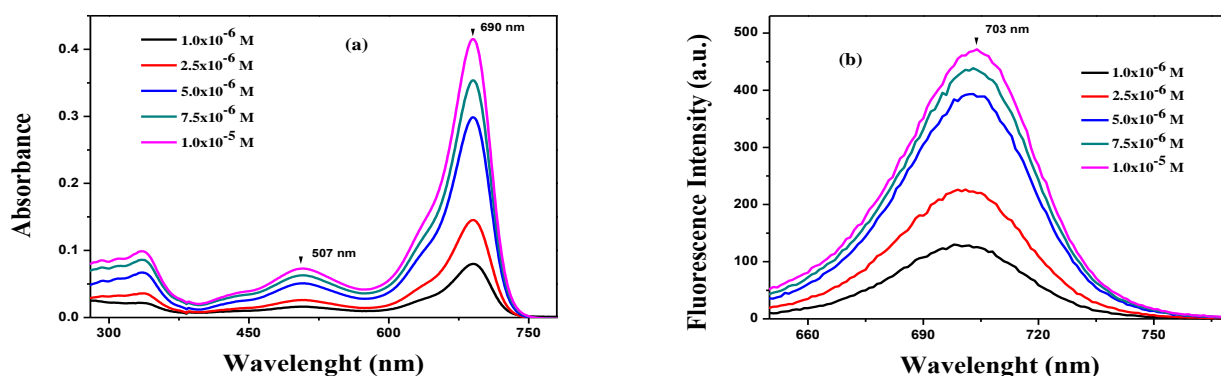


Figure 5. Absorption (a) and Fluorescence (b) spectra of aza dye in ethanol (λ_{exc} :640 nm)

Quantum Yields

The solution of cresyl violet ($\phi_f=0.54$) in methanol was used as a reference in order to calculate the quantum yields. Figure 6 denotes the normalized absorption and emission spectra of cresyl violet in methanol. Quantum yields were calculated for aza compound in ethanol and chloroform media at different concentrations according to Parker-Rees method (Aydın et al., 2009). It was observed that quantum yields in chloroform (Table 1) were higher than quantum yields in ethanol.

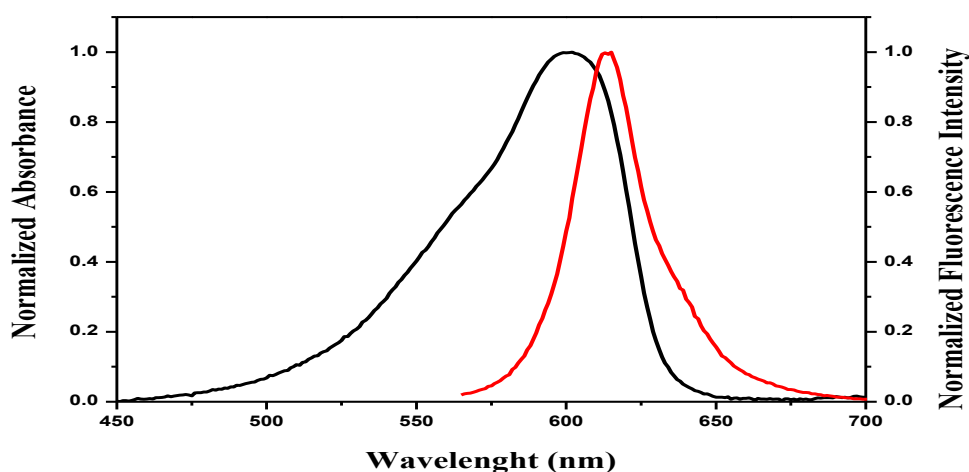


Figure 6. Normalized absorption and fluorescence spectra of cresyl violet in methanol

Table 1. Quantum yields for molecule 6 in ethanol and chloroform

Concentration	Chloroform	Ethanol
1.0×10^{-6} M	0.115	0.094
2.5×10^{-6} M	0.138	0.095
5.0×10^{-6} M	0.125	0.087
7.5×10^{-6} M	0.119	0.080
1.0×10^{-5} M	0.112	0.075

Bimolecular Quenching Mechanisms

The interaction between two molecules is fundamental in the bimolecular quenching event. The collisions as a result of diffusion between molecules, and a photon absorption between molecules as a result of these collisions is defined as dynamic quenching. The formation of a non-fluorescent complex after the collision of fluorophore and quencher is known as static quenching. Quenching mechanisms are discussed with the Stern-Volmer equation (Lakowicz, 1983). Equations 1 and 2 are used to determine dynamic and static mechanisms, respectively.

$$I_o/I = 1 + K_{sv}[Q] = 1 + k_q\tau[Q] \quad (1)$$

$$I_o/I = (1 + K_{sv}[Q])(K_a[Q]) \quad (2)$$

In these equations, I_o is the fluorescence intensity when there is no quencher in the environment and I is the fluorescence intensity when quencher is present in the environment. k_q is the bimolecular dynamic quenching constant and τ is the fluorescence lifetime when there is no quencher. $[Q]$ is the concentration of the quencher. K_{sv} is the dynamic Stern-Volmer rate constant and it is equal to the product of k_q and τ . K_a is the complex forming constant.

Ambient viscosity, temperature, fluorescence lifetime and absorption spectra are important parameters to determine the quenching mechanism. If the temperature of the media is increased in dynamic quenching, the Stern-Volmer constants increase depending on the diffusion coefficient. On the other hand, in static quenching, the stability of the complex decreases with the increase in temperature. As a result, a decrease in Stern-Volmer constants occurs. The change in the absorption spectra of fluorophore and quencher can also be considered in elucidating the quenching mechanism. When quencher is added to the medium at constant fluorophore concentration in static quenching, an increase in the absorption spectrum is observed due to the formation of a dark complex. Due to the fact that the diffusion of quencher to the fluorophore does not affect the excited states of the fluorophore, no change in the absorption spectrum is observed (Zhao et al., 2010; Lakowicz, 1983).

In this study, when the absorption and fluorescence spectra obtained by keeping the concentration of Molecule 6 constant in aqueous medium and increasing the GO concentration are interpreted, it is seen that the emission intensity of Molecule 6 decreases at all temperatures (10 °C-50 °C). This decrease in spectra (Figure 7a and 7b) indicates an interaction between Molecule 6 and GO in aqueous environment. For the interpretation of this interaction, the data obtained according to equation 1 (Table 2) were used in drawing Stern-Volmer graphs.

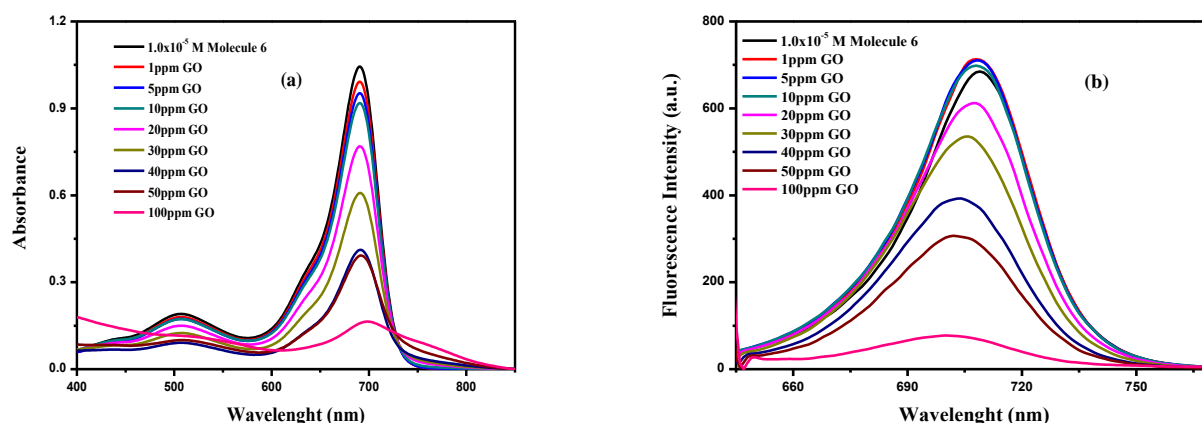


Figure 7. Absorption (a) and Fluorescence (b) spectra of GO added in increasing concentrations on 1.0×10^{-5} M solution of Molecule 6 at 20°C ($\lambda_{\text{exc}}: 640 \text{ nm}$)

Table 2. Temperature dependent I_o/I values

	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C
I_o/I	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.05	1.04 ± 0.05	1.03 ± 0.08	1.04 ± 0.07
I_o/I	1.07 ± 0.05	1.10 ± 0.06	1.63 ± 0.04	1.05 ± 0.04	1.10 ± 0.04
I_o/I	1.20 ± 0.05	1.20 ± 0.05	1.15 ± 0.07	1.13 ± 0.08	1.30 ± 0.09
I_o/I	1.41 ± 0.15	1.31 ± 0.10	1.41 ± 0.10	1.35 ± 0.09	1.40 ± 0.05
I_o/I	1.67 ± 0.11	1.58 ± 0.18	1.59 ± 0.20	1.57 ± 0.11	1.69 ± 0.22
I_o/I	1.99 ± 0.10	1.68 ± 0.10	1.83 ± 0.30	1.80 ± 0.20	1.86 ± 0.15
I_o/I	2.13 ± 0.14	1.91 ± 0.20	2.05 ± 0.10	2.03 ± 0.05	2.11 ± 0.10

When the Stern-Volmer graph drawn according to Table 2 is examined, the absence of a significant increase or decrease in the slope of the graph with the temperature increase indicates that the quenching is not static or dynamic alone (Figure 8).

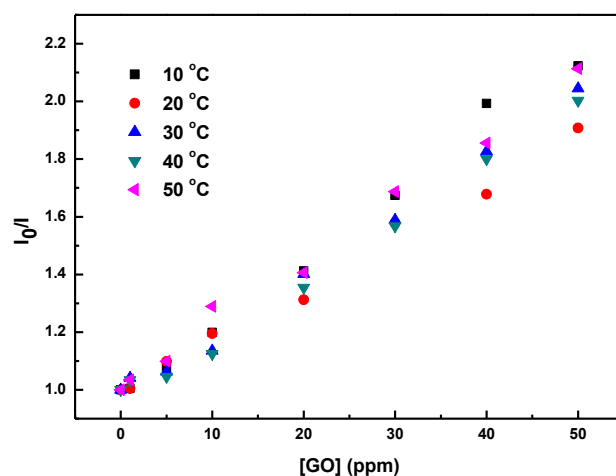


Figure 8. Change of Stern-Volmer graph with temperature for Molecule 6-GO interaction

According to this result, it is thought that static and dynamic quenching occur together as another possibility. For this purpose, it has been discussed whether the graphs drawn with the data in Table 2 are linear or not, taking into account equation 3. However, as seen in Figure 9, any linearity was not observed at any temperature.

$$\frac{I_0}{I} = (1 + K_D[Q])(1 + K_S[Q]) \quad (3)$$

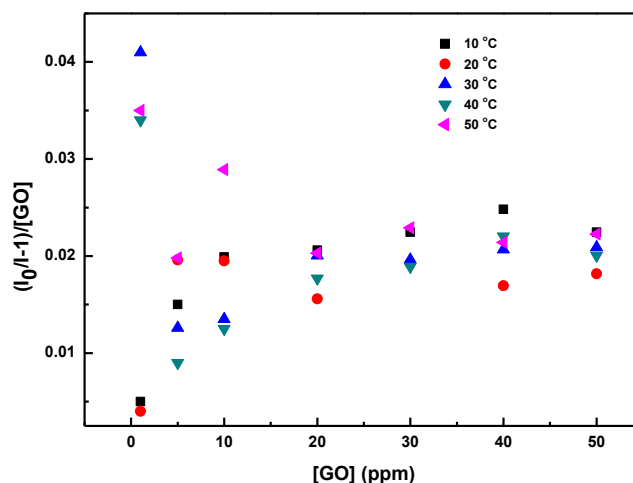


Figure 9. Quenching-linearity relationship of Molecule 6-GO

The calculations made according to equations 1-2-3 indicate that it is not possible to explain the quenching with stern- volmer parameters. Thus, it is thought that the decrease in fluorescence intensity in the Molecule 6 may be caused by the electrostatically adsorption of a part of this molecule on the surface of GO particles.

CONCLUSION

Herein, a new fluorescent aza-BODIPY derivative was synthesized and absorption and fluorescence spectra were recorded in ethanol and chloroform medias in different concentrations.

Fluorescent quantum yields were calculated according to Parker-Rees equation and found to be relatively low. Bimolecular interactions between the dye and graphene oxide were discussed taking in the account the quenching mechanisms. Studies conducted at different temperatures concluded that the decrease in fluorescence intensity of the dye molecule would only be due to electronic adsorption.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by BAP Office of Atatürk University. Project no: FHD-2017-6181

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Aydın BM, Acar M, Arik M, Onganer Y, 2009. The fluorescence resonance energy transfer between dye compounds in micellar media. *Dyes and Pigments*, 81:156-160.
- Balapanuru J, Yang JX, Xiao S, Bao Q, Jahan M, Polavarapu L, Loh KP, 2010. A graphene oxide–organic dye ionic complex with dna-sensing and optical-limiting properties. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(37):6549-6553.
- Brouwer AM, 2011. Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution. *Pure and Applied Chemistry*, 83(12):2213-2228.
- Chen D, Zhong Z, Ma Q, Shao J, Huang W, Dong X, 2020. Aza-BODIPY-Based nanomedicines in cancer phototheranostics. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12:26914-26925.
- Dimiev AM, Tour JM, 2014. Mechanism of graphene oxide formation. *ACS nano*, 8(3):3060-3068.
- Dreyer DR, Park S, Bielawski CW, Ruoff RS, 2010. The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*, 39(1):228-240.
- Gorman A, Killoran J, O'Shea C, Kenna T, Gallagher WM, O'Shea DF, 2004. In vitro demonstration of the heavy-atom effect for photodynamictherapy. *Journal of the American Chemical Society*, 126(34):10619-10631.
- Hall MJ, McDonnell SO, Killoran J, O'Shea DF, 2005. A modular synthesis of unsymmetrical tetraarylazadipyrrromethenes. *The Journal of Organic Chemistry*, 70(14):5571-5578.
- Killoran J, Allen L, Gallagher JF, Gallagher WM, Donal FO, 2002. Synthesis of BF₂ chelates of tetraarylazadipyrrromethenes and evidence for their photodynamic therapeutic behaviour. *Chemical Communications*, 17:1862-1863.
- Lakowicz JR, 1983. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Plenum Press, pp. 278-285, New York-USA
- Li L, Li W, Wang L, Tang H, Cao D, Ran X, 2020. Pyrrolopyrrole *aza*-BODIPY dyes for ultrasensitive and highly selective biogenic diamine detection. *Sensors & Actuators: B. Chemical* 312, 127953:1-10.
- Loudet A, Burgess K, 2007. Bodipy dyes and their derivatives: syntheses and spectroscopic properties. *Chemical Reviews*, 107(11):4891-4932.
- Lu H, Mack J, Yang Y, Shen Z, 2014. Structural modification strategies for the rational design of red/NIR region bodipys. *Chemical Society Reviews*, 43(13):4778-4823.

- Narayanan R, Deepa M, Srivastava AK, 2012. Nanoscale connectivity in a TiO₂/CdSe quantum dots/functionalized graphene oxide nanosheets/Au nanoparticles composite for enhanced photoelectrochemical solar cell performance. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(2):767-778.
- Petersen S, Glyvradal M, Boggild P, Hu W, Feidenhans'l R, Laursen BW, 2012. Graphene oxide as a monoatomic blocking layer. *ACS Nano*, 6(9):8022-8029.
- Ramesha GK, Kumara AV, Muralidhara HB, Sampath S, 2011. Graphene and graphene oxide as effective adsorbents toward anionic and cationic dyes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 361(1):270-277.
- Zhang LL, Zhao X, Stoller MD, Zhu Y, Ji H, Murali S, Ruoff RS, 2012. Highly conductive and porous activated reduced graphene oxide films for highpower supercapacitors. *Nano Letters*, 12(4):1806-1812.
- Zhao Y, Li K, He Z, Zhang Y, Zhao Y, Zhang H, Miao Z, 2016. Investigation on fluorescence quenching mechanism of perylene diimide dyes by graphene oxide. *Molecules*, 21, (1642):1-7.
- Zhu X, Zhu Y, Murali S, Stoller MD, Ruoff RS, 2011. Nanostructured reduced graphene oxide/Fe₂O₃ composite as a high-performance anode material for lithium ion batteries. *ACS Nano*, 5(4):3333-3338.
- Ziessel R, Goze C, Ulrich G, 2007. Design and synthesis of alkyne-substituted boron in dipyrromethene frameworks. *Synthesis*, 06:936-949.
- Zuo J, Pan H, Zhang Y, Chen Y, Wang H, Ren XK, Chen Z, 2020. Near-infrared fluorescent amphiphilic Aza-BODIPY dye: Synthesis, solvatochromic properties, and selective detection of Cu²⁺. *Dyes and Pigments*, 183,108714:1-7.

Atf İçin: Turhan ZS, 2021. Fenazinin Tabanlı Bileşiklerin OLED ve TADF Özelliklerinin İncelenmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2926-2936.

To Cite: Turhan ZS, 2021. Investigation of OLED and TADF Properties of Phenazine Based Compounds. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2926-2936.

Fenazinin Tabanlı Bileşiklerin OLED ve TADF Özelliklerinin İncelenmesi

Zeynep Şilan TURHAN^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada, dibenzo[a,c]fenazinin bazlı akseptör, donör-akseptör tipi potansiyel termal olarak etkinleştirilen gecikmeli floresans (TADF) yayıcıları elde etmek için donörler ve akseptör ile birleştirildi. Tüm moleküllerin yapısal ve elektronik özellikleri teorik olarak Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) ve Zamana Bağlı Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (TD-DFT) seviyesinde üç farklı hibrit fonksiyonun uygulanmasıyla hesaplandı. Tasarlanan yapıların çoğunun TADF bileşikleri olma potansiyeline sahip oldukları bulundu. Bunun nedeni ilk uyarılmış tekli ve üçlü halleri arasında çok dar enerji boşluğuna sahip olmasıdır. Sonuç olarak, tasarlanan türevler, amaç için en iyi aday olarak hesaplanabilir ve verimli bir Organik Işık (Yayan Diyot) OLED malzemesi olarak hizmet etmek için de çok güçlü bir potansiyele sahip olabilir.

Anahtar Kelimeler: Fenazinin, DFT, TD-TDF, TADF, OLED

Investigation of OLED and TADF Properties of Phenazine Based Compounds

ABSTRACT: In this study, dibenzo[a,c]phenazine based acceptor was combined with donors and acceptor to obtain donor- π -acceptor type potential thermally activated delayed fluorescence (TADF) emitters. All molecules' structural and electronic properties were computed theoretically at the level of Density Functional Theory (DFT) and Time Dependent Density Functional Theory (TD-DFT) with the application of three different hybrid functionals. Most of the designed structures were found to have the potential to be TADF compounds. This is because it has a very narrow energy gap between the first excited single and triple states. As a result, the designed derivatives can be calculated as the best candidates for the purpose and also have very strong potential to serve as an efficient Organic Light (Emitting Diode) OLED material

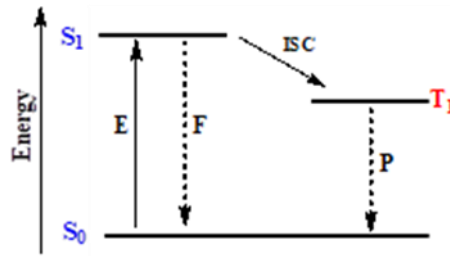
Keywords: Phenazine, DFT, TD-TDF, TADF, OLED

¹Zeynep Şilan TURHAN ([Orcid ID: 0000-0002-3587-2576](https://orcid.org/0000-0002-3587-2576)), İğdır Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Bölümü, İğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Zeynep Şilan TURHAN, e-mail: zeynepilanturhan@hotmail.com

GİRİŞ

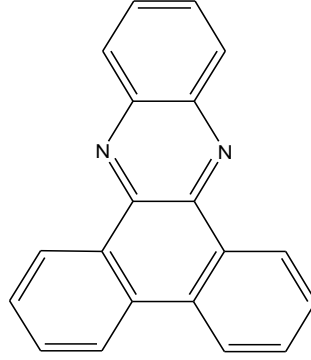
İnsanların ışığı algılama yeteneğinin oldukça fazla olmasına karşın 400 nm dalga boyundaki menekşeden 750 nm dalga boyundaki kırmızı renge giden çok dar bir elektromanyetik spektrum aralığı insan gözü tarafından görülebilir. Görünür bölgeye karşılık gelen dalga boylarının emisyonu 1.8 eV ile 3.1 eV aralığında değişen minimum uyarım enerjisi gerektirir (Kalyani ve ark., 2017). Işık yaratmanın iki yolu vardır. İlk fenomen akkorluk, diğer fenomen ise lüminesanstır. Lüminesans bazı maddelerin ısıyı değişmeksizin elektromanyetik ışınım yapma olayıdır. Yayılan ışığın dalga boyu gelen ışımaya değil, ışıldayan maddenin bir özelliğidir (Foursassier, 1984; Mc Keever, 1985). Işıkla madde etkileşime girdiğinde üç olay meydana gelir. Bunlar; absorpsiyon, emisyon ve saçılmadır. Floresans ve fosforesans olayları lüminesans olaylardır (Gümüş ve Gümüş, 2017). Bazı özel bileşikler üzerine gelen belirli dalga boyunda olan ışınlar, bu bileşikler üzerinden dalga boyu başka olan ışınlar halinde yansır ve bu olaya floresans olayı denir (Sparks ve ark., 2014). Ultraviyole veya görünür ışınım yoluyla uyarmayla uyarılmış elektronlar fazla enerjileri fotonlar şeklinde serbest bırakır, böylece temel duruma geri geçiş yaparak floresans olarak uyarım enerjisi yayar. Bu geçişler esnasında sistemin çokluğu korunur. Diğer yandan, fosforesans yasaklanmış enerji durumunu geçişlerini içeren gecikmeli ışılda demektir (Kalyani ve ark., 2017). Üçlü-tekli geçiş, tekli-tekli geçişten çok daha az olasıdır ve bu nedenle fosforesans daha uzun bir zamanda gerçekleşir (Schlyer ve ark., 1994). Floresans ve fosforesans emisyonları Şekil 1’de basit olarak Jablonski diyagramıyla gösterilmektedir. Reinhoudt’un ampirik kuralı der ki: Sistemler arası geçiş (ISC) süreci, ΔEST tüm molekül türleri için 0.6 eV’den düşük olduğunda etkili olacaktır (Desa ve ark., 2000).



Şekil 1. Floresans ve fosforesansın gösterimi. (E, F ve P sırasıyla Uyarım, Floresans ve Fosforesans anlamına gelir) (Gümüş ve Gümüş, 2017).

Organik yarı-iletken malzemeler üzerine çalışmalar son yıllarda oldukça popülerleşmiştir (Gupta ve Singh, 2005; Okur ve ark., 2009; Aydoğan ve ark., 2010; Yakuphanoglu ve Okur, 2010; Yüksel ve ark., 2013). Organik yarı-iletkenlerin getirdikleri düşük altyapı maliyeti, geniş ve esnek yüzeylere uygulanabilme, kolay ve hızlı üretim yöntemleri ile uygulamaya özgü sentezlenebilen malzeme özellikleri gibi avantajlarla, silisyumun dolduramadığı alanlara girebilecek niteliklere sahip olmaları nedeniyle araştırmacıların bu malzemeler üzerine çalışmasını yoğunlaştırmıştır (Güllü ve ark., 2010). Bu yeni alanın üzerinde en fazla araştırma ve yatırım yapılan aygıtlarının başında Organik Işık Yayan Diyot (OLED)’ler gelmektedir. OLED’leri, Organik Schottky Bariyer Diyotları, Organik Alan Etkili Transistör (OFET), Fotovoltaik Güneş Pilleri ve Spintronikler takip etmektedir (Yahia ve ark., 2011).

Bu çalışmada, bir dizi dibenzo[a,c]fenazinin (Şekil 2) bileşiği oluşturuldu. Yapısal ve elektronik özellikleri teorik olarak DFT düzeyinde incelendi. Dibenzo[a,c]fenazinin tabanlı TADF yayıcılar elde etmek için iyi çalışılmış bir dizi donör ve akseptör ile birleştirildi. Bu çalışmanın, sentetik prosedürlerin uygulanmasından önce organik güneş pilleri, organik ışık yayan diyotlar veya floresan organik malzemeler için potansiyel aday moleküllerin belirlenmesine ve sentetik organik kimya çalışmalarına ışık tutmasına katkı sağlaması beklenmektedir.



Şekil 2. Ana bileşiğin yapısı (dibenzo [a,c] fenazinin)

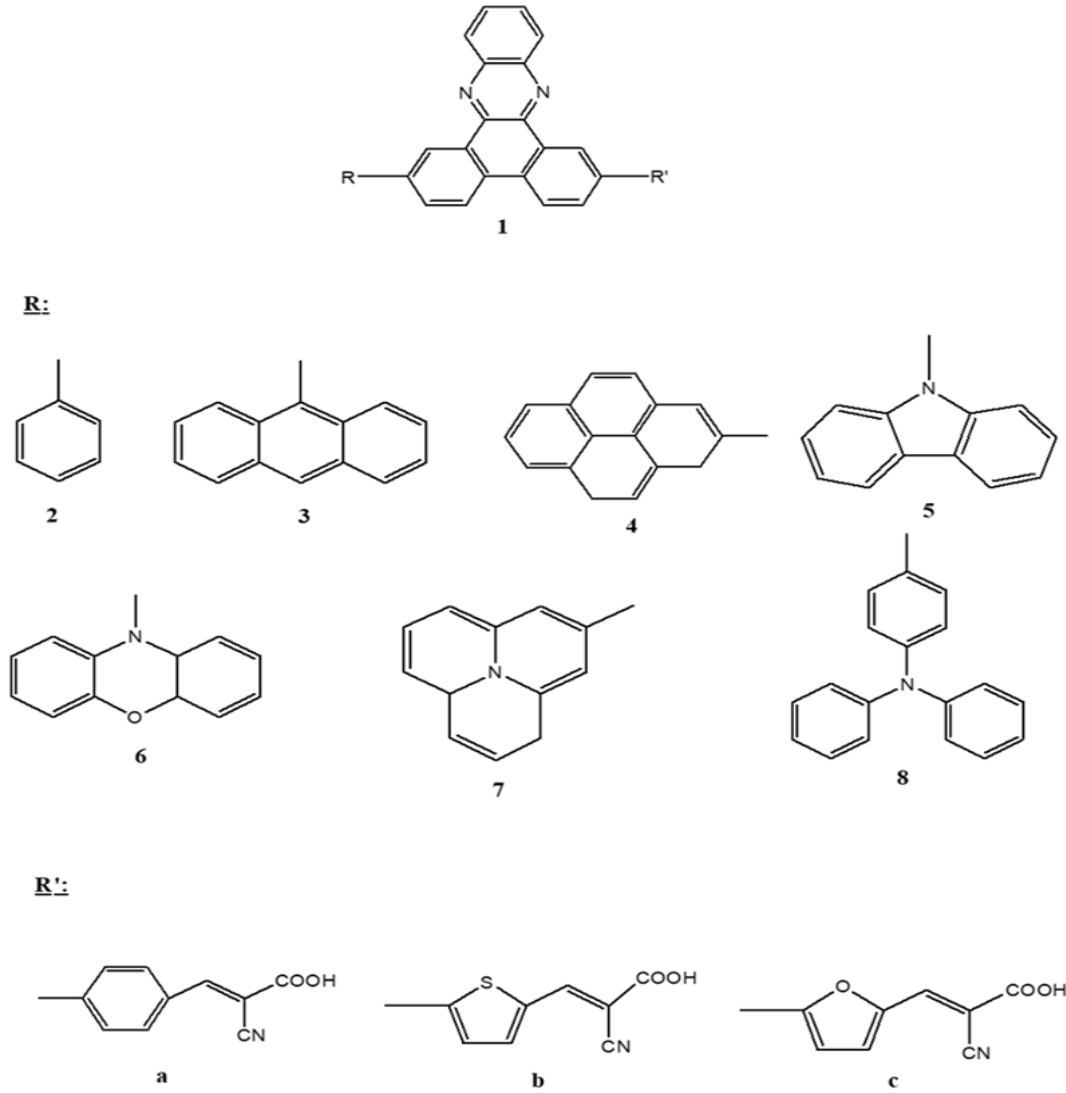
MATERYAL VE METOT

Tüm bileşiklerin temel durum (S_0) geometrileri, Gaussian 09W (Frisch ve ark., 2009) paket programı ve hibrit fonksiyonel B3LYP (Becke, 1988; Lee ve ark., 1988), CAM-B3LYP (Yanai ve ark., 2004) ve WB97XD (Chai ve Head-Gordon, 2008) ile DFT (Kohn ve Sham, 1965) kullanılarak optimize edildi. Tüm atomlar için kullanılan temel set, geometri optimizasyonları için 6-311++G(d,p) olarak seçildi. Bileşiklerin üçlü (T) ve tekli uyarılmış durumları (S), TD-DFT kullanılarak minimum enerji geometrilerini elde etmek için gevşetildi. Tüm yapıların gaz fazı geometri optimizasyonları ilk olarak MM2 yöntemi ve ardından tutarlı moleküler orbital (SCFMO) yöntemi kullanılarak yarı deneysel PM3 kullanılarak gerçekleştirildi. Her bileşik için, ilgili geometri optimizasyonlarında kullanılan aynı temel set kullanılarak titreşim analizleri gerçekleştirildi. Bileşiklerin hiçbirinin frekans analizi, her molekülün yapısının potansiyel enerji yüzeyinde en azından bir yerel minimuma karşılık geldiğini gösteren hayali frekanslar vermedi (Turhan Irak ve Gümüş, 2017).

Optimize edilmiş temel durum yapıları, TD-DFT kullanılarak maksimum absorpsiyon dalga boyları, osilatör güçleri ve ana konfigürasyon ataması dahil üzere elektronik absorpsiyon spektrumlarını elde etmek için kullanıldı (Casida ve ark., 1998). Bazı istisnalar olmasına rağmen, literatürdeki bilgiler PBE0, wB97XD ve CAM-B3LYP fonksiyonelleri ile uyarma enerjilerinin analizinin deneysel verilerle en iyi uyumu öngördüğünü göstermektedir (Yanez ve ark., 2017). Bu nedenle TD-DFT hesaplamaları için B3LYP/6-311++G(d,p), CAMB3LYP/ 6-311++G(d,p), WB97XD/6-311++G(d p) yöntemleri kullanılarak hesaplama yapılmış ve bileşikler karşılaştırılmıştır (Turhan Irak ve ark., 2019).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Literatürde daha önceden sentezlenmiş ve çalışmaya konu olan ana bileşiğinin kapsamlı araştırmaları bu çalışmanın ortaya çıkmasını sağlamıştır (Zhu ve ark., 2007; Shi ve ark., 2012; Boxi ve ark., 2018; Kim ve ark., 2019). Yapısında akseptör parça içeren 1'in donör-akseptör birimlerle modifikasyonu ile, potansiyel TADF bileşikler üretebilir. Ek olarak, kombinasyonlarıyla, en yüksek işgal edilmiş moleküler orbitali (HOMO) ve en düşük boş moleküler orbitali (LUMO) ayırmak mümkün olur, böylece en düşük uyarılmış tekli (S_1) ve üçlü (T_1) durumu arasındaki enerji boşluğu (ΔE_{ST}) değerinin azalması sağlanır. Sonuç olarak, OLED'lerin floresan verimliliğini artırılması mümkün olur (Turhan Irak ve ark., 2019). Literatürdeki bilgiler ışığında potansiyel TADF yayıcılarını önermek için bir dizi dibenzo[a,c]fenazinin türevleri tasarlanmıştır (Şekil 3) (Shi ve ark., 2012; Yang ve ark., 2014; Demirak ve ark., 2017).



Şekil 3. Potansiyel TADF bileşiklerinin yapıları

Yarı-İletken Özellikler

Optimizasyonu yapılan bileşiklerin sınır MO enerjileri DFT/B3LYP/6-311++(d,p) seviyesinde hesaplandı. Hesap sonuçları Çizelge 1’de verildi. Organik yarı-iletkenlerin elektronik yapısı bilindiği üzere yapılarında sahip oldukları π -elektronlarının konjugasyonuna dayanır. Yarı-iletken özellik gösteren moleküllerin bant aralığı 0.5 eV ile 4.0 eV arasında değişmektedir (Atkins ve ark., 2006). Çizelge 1 incelendiğinde ana bileşik (**1**) de dahil olmak üzere ΔE değerlerinin 4 eV’in altında olduğu görülmektedir. Bu bant boşluğu donör ve akseptör birimlerinin eklenmesiyle daralmıştır. Bunun en önemli nedeni, tam da beklenildiği gibi yapılan kombinasyonla yapıdaki konjugasyonun uzamasıdır. Sonuç olarak tüm bileşiklerin yarı-iletken malzeme olma potansiyeli vardır denilebilir. Bütün yapılar arasında en dar bant aralığına sahip üç molekül sırasıyla; **7a**, **7b** ve **7c**’dir.

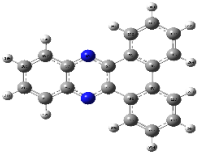
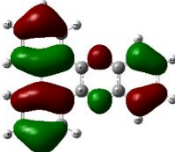
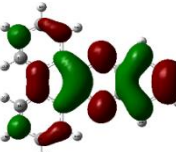
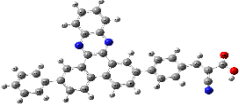
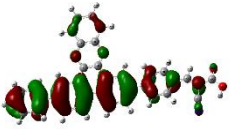

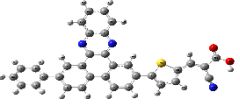
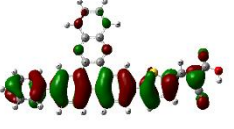

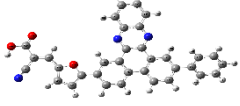
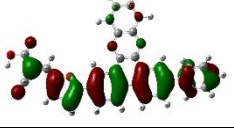
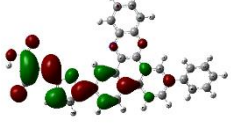
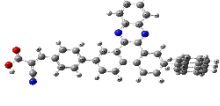
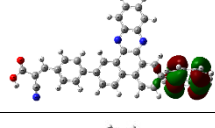
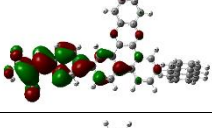
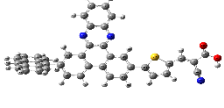
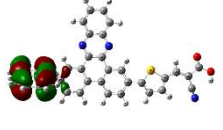
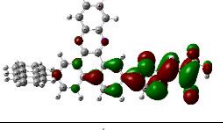

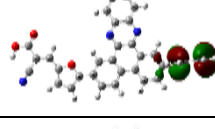
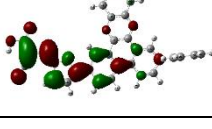
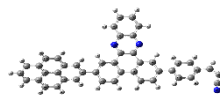
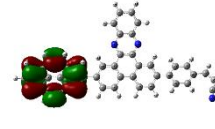
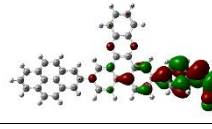
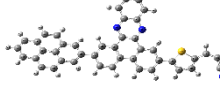
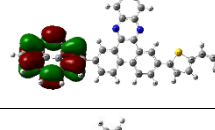
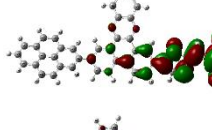
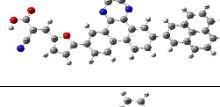
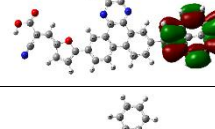
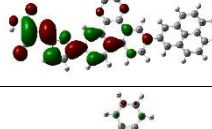
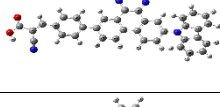
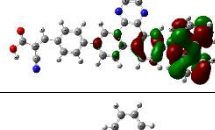
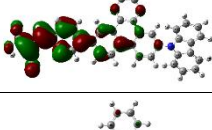
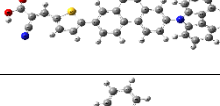

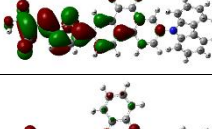
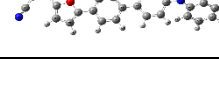
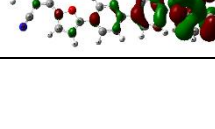
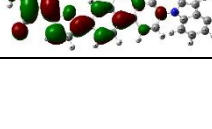
Bileşiklerin optimize edilmiş zemin durum geometrileri yapıları ve 3D sınır MO enerji şemaları Çizelge 2’de verilmiştir. Sınır MO enerji diyagramları bileşiklerin reaktivitesi hakkında bilgi vermektedir. HOMO bileşiğin bazlığı ile ilgili bilgi verirken; LUMO sistemin asitliği ile ilgili bilgi sağlar. Bu nedenle, bir molekülün sınır MO’ların araştırılması ve hangi atomların bu orbitallere katkıda bulunduğunu bilmek önemlidir. Bunun en önemli nedeni; reaktivite merkezlerinin bu enerji şemaları tarafından belirlenmesidir. Bir bileşiğin TADF için iyi bir aday olabilmesi için ilk özellik yarı-iletken özellik göstermesi gerektiğidir (Turhan Irak ve ark., 2019).

Çizelge 1. Hesaplamaların sonuçları (tüm veriler eV olarak verilmiştir)

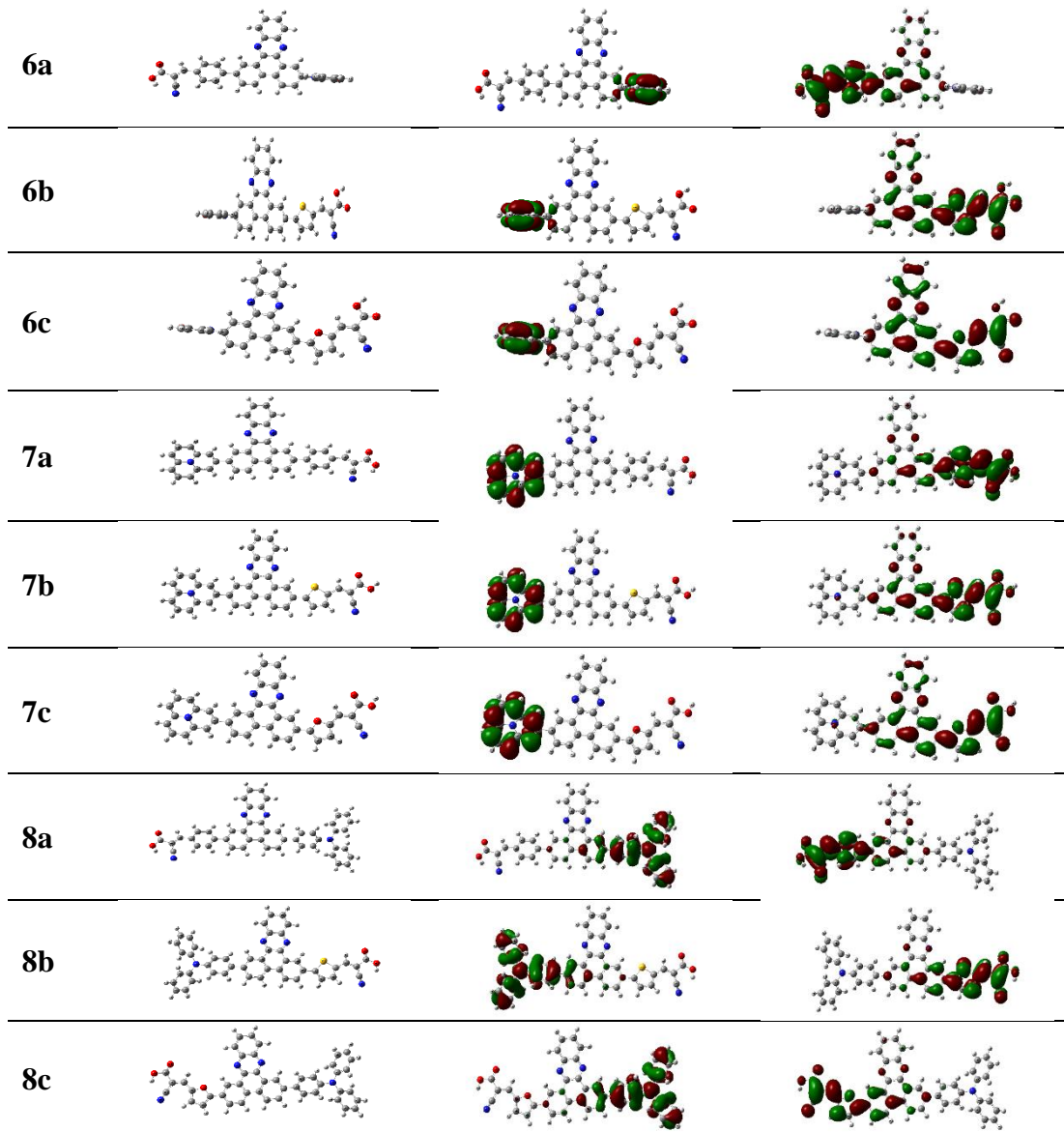
Bileşik	DFT			TD-DFT (ΔE_{ST})		
	B3LYP/6-311++(d,p)			6-311++(d,p)		
	HOMO	LUMO	ΔE	B3LYP	CAM-B3LYP	WB97XD
1	-6.36	-2.59	3.77	0.154	0.579	0.410
2a	-6.29	-3.18	3.11	0.022	0.143	0.101
2b	-6.26	-3.27	2.99	0.032	0.142	0.227
2c	-6.18	-3.21	2.97	0.042	0.120	0.019
3a	-5.57	-3.04	2.53	0.099	0.435	0.473
3b	-5.59	-3.13	2.46	0.001	0.223	0.296
3c	-5.59	-3.07	2.52	0.002	0.201	0.262
4a	-5.75	-3.03	2.72	0.015	0.472	0.538
4b	-5.78	-3.12	2.66	0.018	0.171	0.262
4c	-5.77	-3.06	2.71	0.022	0.151	0.225
5a	-5.71	-3.09	2.62	0.054	0.312	0.387
5b	-5.74	-3.18	2.56	0.095	0.173	0.125
5c	-5.73	-3.12	2.61	0.115	0.334	0.083
6a	-4.99	-3.13	1.86	0.002	0.088	0.298
6b	-5.01	-3.11	1.89	0.003	0.009	0.273
6c	-5.01	-3.07	1.94	0.003	0.012	0.282
7a	-4.17	-3.06	1.11	0.068	0.248	0.230
7b	-4.17	-3.02	1.15	0.085	0.249	0.231
7c	-4.17	-2.97	1.20	0.094	0.249	0.231
8a	-5.31	-3.01	2.30	0.112	0.293	0.337
8b	-5.34	-3.09	2.25	0.269	0.098	0.115
8c	-5.33	-3.03	2.30	0.026	0.083	0.084

Bir bileşiğin potansiyel aday molekül olabilmesi için gereken ikinci özellik ise molekülün sahip olduğu HOMO ve LUMO'ların birbirinden ayrılmasıdır. HOMO-LUMO'nun ayrı olması küçük değişim enerjileri verir (Nakagawa ve ark., 2012; Mehes ve ark., 2012; Nasu ve ark., 2013; Aydemir ve ark., 2016; Gümüş ve Gümüş, 2017). Ana yapıda (1) HOMO-LUMO yapıya dağılmıştır. Konjuge kaynaşmış halkaların olması bunun ana nedenidir. Ana bileşiğin bir tarafına akseptör bir tarafına donör ikameler yapıldı. Çizelge 2'deki diğer moleküllerin HOMO-LUMO şemalarına bakıldığında, molekülde akseptör-donör kısımlarına ayrıldığı görülmektedir. Donör-akseptör birimler arasındaki bükülmeye neden olan sterik engel HOMO ve LUMO'yu ayırma amacına başarılı bir şekilde ulaşmıştır. Her yapı incelendiğinde HOMO'lar donör kısımlara, LUMO'lar akseptörler üzerine dağılmıştır. Bu, donör birimleri, π -köprü ve akseptör arasındaki büyük dihedral açılar nedeniyle HOMO ve LUMO'nun net bir uzamsal ayrılmasını sağlamıştır. Böylelikle, HOMO ve LUMO, sırasıyla sistemin donör ve akseptör kısımlarına açıkça dağıtılmıştır.

Çizelge 2. Temel Durum Geometrisi (GSG), HOMO ve LUMO diyagramları

	GSG	HOMO	LUMO
1			
2a			
2b			
2c			
3a			
3b			
3c			
4a			
4b			
4c			
5a			
5b			
5c			

Çizelge 2'nin devamı



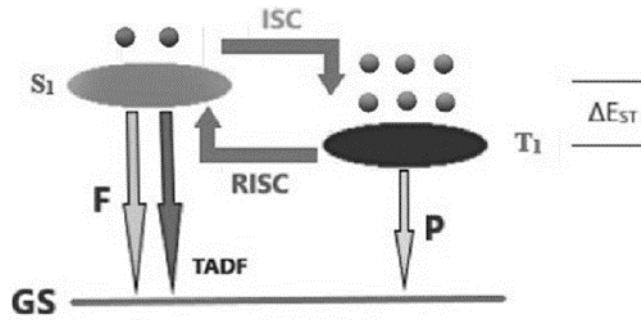
Şekil 3'de verilen ana bileşiğin (1) fenantren kısmının sol tarafına donör gruplar (R), sağ akseptör grup (R') ilave edilmesiyle değerlendirildiğinde; donör gruplar sabit tutularak ikame edilen akseptör kısmın farklılaştırılmasıyla Çizelge 2 incelendiğinde benzer ikamesiyle oluşturulan 2a, 2b ve 2c yapılarında, benzenin düşük donör kabiliyeti nedeniyle HOMO-LUMO'nun iyi ayrılması gerçekleşmemiştir. Ayrıca, HOMO-LUMO enerji seviyeleri yapıların daha iyi yarı-iletkenlik kabiliyetine sahip olabilmesi için yeterince değişmemiştir.

Antrasen (3) (Aydemir ve ark., 2016), piren (4) (Shan ve ark., 2017), karbazol (5) (Çiçek ve ark., 2018), feoksazin (6) (Li ve ark., 2017), kinolizin (7) (Zhang ve ark., 2017) ve trifenilamin (8) (Gümüş ve Gümüş, 2017b) tabanlı OLED ve TADF sistemleri literatürde oldukça iyi bir şekilde araştırılmıştır. Bu nedenle, bu donörlerin her birinin ana bileşik ile kombinasyonu, OLED ve TADF bileşikleri için iyi çalışan potansiyel adaylarla sonuçlanabilir. Donör-akseptör dihedral açılarındaki düzlemsellikten sapmalar bileşikler (3a-8c) için HOMO-LUMO'nun sistemde iyi bir şekilde ayrılmasına izin vermiştir. Çizelge 2'ye bakıldığında 3a-8c bileşikleri için, HOMO'ların donör parçaya; LUMO'ların ise akseptör parçalara yerleştiği görülmektedir, böylece OLED cihazlarında potansiyel kullanıma sahip iyi yarı-iletken malzemeler oldukları söylenebilir. 3a-8c yapılarına enerji açısından bakıldığında (Çizelge 1), HOMO-LUMO ΔE 2.71 eV ile 1.11 eV arasında değişmektedir, Bu sonuçlar tasarlanan bileşiklerin iyi

çalışabilecek kombinasyonlar olduğu göstermektedir. Bileşik 1'in bir yarı-iletken malzeme olarak potansiyel kullanımı, güçlü donör grupları ve yine güçlü akseptör gruplar ile modifikasyon yoluyla başarılı bir şekilde arttırılmıştır. Üzerinde çalışılan bileşikler arasında, **7a**, 1.11 eV ile en dar sınırlar arası bant aralığına sahiptir, bu da onu OLED olarak çok önemli ve iyi çalışabilecek bir aday yapmaktadır.

TADF Özellikleri

TADF, OLED'lerde kullanılan moleküllerde emisyon mekanizması olarak önemli bir dikkat çekmiştir (Endo ve ark., 2009). Üçlü durum, T_1 'den ters sistem arası geçiş (RISC) yoluyla floresansın yanı sıra tekli uyarılmış durumdan (S_1) gelen floresansı kullanarak tam olarak teorik bir kuantum verimliliği sağlar. Şekil 4'de görüldüğü gibi bir moleküldeki RISC sürecini mümkün kılmak için, S_1 ve T_1 , ΔE_{ST} arasındaki enerji farkı, RISC enerji bariyerinin termal uyarma yoluyla aşılabilecek kadar küçük olması gerekir.



Şekil 4. ISC ve RISC için örnek

TADF molekülleri tasarlarırken en önemli hususlardan birincisi, S_1 ve T_1 uyarılmış durumları arasında küçük bir enerji boşluğu oluşturmaktır. Bu durum yalnızca en düşük enerji geçişinin düşük ΔE_{ST} sahip olması durumunda karşılanabilmektedir (Turro, 1991). Bu nedenle, yeni TADF yayıcılar hakkındaki araştırmalardaki mevcut eğilimler esas olarak molekül içi donör akseptör (DA) tipi moleküller üzerine odaklanmıştır (Li ve ark., 2014). Tam renkli TADF molekülleri elde etmek için uygun donör-akseptör parçalar dikkatle seçilmeli, HOMO ve LUMO'ları farklı bölgelere dağılmalıdır. Sınır MO'ların net bir şekilde ayrılması, daha dar ΔE_{ST} değerleri ile sonuçlanır. Ana yapı (**1**) ve **2a-8c** moleküllerinin geometrik ve elektronik yapıları hakkında ayrıntılara ulaşmak için TD-DFT hesaplamaları B3LYP/6-311+G(d,p), CAM-B3LYP/6-311+G(d,p), WB97XD/6-311+G(d,p) seviyesinde yapılmıştır. HOMO, LUMO enerjileri ve **1-8c** bileşikleri için tekli ve üçlü uyarılmış durumlar arasındaki ΔE_{ST} değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelgeye bakıldığında, sınır MO'ların ayrılması daha dar ΔE_{ST} değerleri ile sonuçlanır. Bileşik **1** için ΔE_{ST} değerleri sırasıyla CAM-B3LYP/6-311++G(d,p) ve WB97XD/6-311++G(d,p) ile 0.579 eV ve 0.410 eV olarak hesaplandı. **2** için ΔE_{ST} değerleri ana molekülden daha küçük, ancak HOMO-LUMO ayrışması bakımından iyileştirilmesi gerekiyor. ΔE_{ST} değerlerinin $\leq 0,50$ eV TADF potansiyeli için verimli olduğu kabul edildiğinden (Turhan Irak ve ark., 2019) ve iyi ayrılmış HOMO-LUMO dağılımına ve çok yakın T_1 ve S_1 seviyeleriyle birlikte bükülmüş geometriye (tüm hesaplama seviyelerine göre) sahip olmasından dolayı **4a** bileşiği hariç **3a-8c** bileşiklerinin, TADF yayıcıları için potansiyel aday olabileceği söylenebilir. Bu nedenle, TD-DFT hesaplamalarıyla tahmin edilen ΔE_{ST} değerleri, hemen hemen tüm bileşikler için $T_1 \rightarrow S_1$ ters sistemler arası geçiş (RISC) yoluyla S_1 durumunun termal yeniden popülasyonu için yeterince küçüktür. Hesaplanan tüm moleküller arasından bileşik **8c**, dar S_1 - T_1 enerji aralığına ve iyi ayrılmış HOMO ve LUMO diyagramlarına sahip olduğu için TADF yayıcılar olarak en yüksek potansiyelli aday olarak önerebilir. Çizelge 1'de verilen hesaplanan en düşük enerjili

uyarılmış durumlar, enerjide çok az değişiklik olan bir molekül içi yük transferine (ICT) karşılık gelen HOMO-LUMO geçişi ile açıklanabilir.

SONUÇ

Çevreye duyarlı yeşil malzemelerin enerji üretimi için ekonomik olarak ucuz olması, yeni fikirler ve uygulamalar için yeni araştırmalar yapmaya yol açmıştır. Özellikle organik yarı-iletken malzemeler daha ucuz alternatifler arasındadır. Son derece yüksek optik soğurma katsayılarına sahip olan organik fotovoltailer çok ince güneş pillerinin üretimi için uygundur.

Dibenzo[a,c]fenazinin tabanlı potansiyel OLED ve TADF yayıcılarının tasarımında sıklıkla tercih edilen donörlerle ve akseptörlerle birleştirilmiştir. Yapısal ve elektronik özellikleri, Yoğunluk Fonksiyonel Teorisinin farklı teori seviyelerinde uygulanmasıyla hesaplanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre; tasarlanan bileşiklerden hemen hemen hepsi, iyi ayrılmış HOMO-LUMO orbitalleri ve ΔE_{ST} nedeniyle TADF yayıcılar için iyi adaylar olarak gösterilebilir. Dahası, bileşiklerin dar sınırlar arası moleküler yörünge enerji boşluğuna sahip olduğu görülmüştür. Sisteme donör ve akseptör eklenmesi yoluyla türetmenin HOMO-LUMO bant aralığını büyük ölçüde azalttığının çok önemli bir göstergesidir. Böylece, kendisi de yarı iletken davranışa sahip ana molekülden türetilen bileşikler, OLED'ler için güçlü bir aday olabilecek faydalı bir yarı iletkene dönüştü. Ek olarak, **4a** dışındaki bileşiklerin OLED malzemesinin kuantum verimliliğini artırmak için TADF yayıcılar olarak hareket etme potansiyeline sahip olduğu da söylenebilir, çünkü uyarılmış durum tekli-üçlü enerji seviyesi farklılıkları, uygulanan tüm yöntemler için 0,50 eV'den daha küçüktür.

Çıkar Çatışması

Makaleye ait çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve makalenin yazılması aşamalarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim.

Yazar Katkısı

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması makale tek yazarı olarak tarafımda yapıldığı beyan ederim.

KAYNAKLAR

- Atkins P, Overton T, Rourke J, Weller M, Armstrong F, 2006. Shriver and Atkins Inorganic Chemistry. 4th Edition, Oxford University Press, Oxford.
- Aydemir M, Haykır G, Battal A, Jankus V, Sugunan SK, Dias FB, Attar H, Türksöy F, Tavaslı M, Monkman AP, 2016. High Efficiency OLEDs Based on Anthracene Derivatives: The impact of Electron Donating and Withdrawing group on the Performance of OLED. *Organic Electronics*, 30: 149-157.
- Aydoğan Ş, İncekara Ü, Deniz AR, Türüt A, 2010. Extraction of electronic parameters of Schottky Diode Based on An Organic Orcein. *Microelectronic Engineering*, 87(12): 2525-2530.
- Becke AD, 1998. Density-functional Exchange Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior. *Physical Review A*, 38: 3098–3100.
- Boxi S, Jana D, Parui PP, Ghorai BK, 2018. Dibenzo[a,c]phenazine Based Donor-Acceptor (D–A) Tetra Branched Molecules: Fine tuning of Optical Properties. *Chemistry Select*, 3(24): 6953-6959.
- Casida ME, Jamorski C, Casida KC, Salahub DR, 1998. Molecular Excitation Energies to High-Lying Bound States from Time-dependent Density-functional Response Theory: Characterization and Correction of The Time-dependent local Density Approximation Ionization Threshold. *The Journal of Chemical Physics*, 108(11): 4439-4449.
- Chai JD, Head-Gordon M, 2008. Long-range Corrected Hybrid Density Functionals with Damped Atom–Atom Dispersion Corrections. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 10(44): 6615-6620.

- Çiçek B, Çalışır Ü, Tavaslı M, Tülek R, Teke A, 2018. Synthesis and Optical Characterization of Novel Carbazole Schiff Bases. *Journal of Molecular Structure*, 1153: 42-47.
- De Sa GF, Malta OL, de Mello Donegá C, Simas AM, Longo RL, Santa-Cruz PA, da Silva Jr EF, 2000. Spectroscopic Properties and Design of Highly Luminescent Lanthanide Coordination Complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, 196(1): 165-195.
- Demirak K, Can M, Özsoy C, Yiğit MZ, Gültekin B, Demiç Ş, Zafer C, 2017. Synthesis and photovoltaic characterization of triarylamine-substituted quinoxaline push-pull dyes to improve the performance of dye-sensitized solar cells. *Turkish Journal of Chemistry*, 41(3): 309-322.
- Endo A, Ogasawara M, Takahashi A, Yokoyama D, Kato Y, Adachi C, 2009. Thermally Activated Delayed Fluorescence from Sn⁴⁺-porphyrin Complexes and Their Application to Organic Light Emitting Diodes-A Novel Mechanism for Electroluminescence. *Advanced Materials*, 21(47): 4802-4806.
- Fourassier C, 1984. *Luminescence Encyclopedia of Inorganic Chemistry*. Academic Press, New York.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery JA, Vreven TJ, Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin N, Staroverov VN, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli CJ, Ochterski W, Martin LR, Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas O, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J and Fox DJ, 2009. Gaussian Inc., Wallingford, CT.
- Gupta RK, Singh RA, 2005. Fabrication and Characteristics of Schottky Diode Based on Composite Organic Semiconductors. *Composites Science and Technology*, 65(3-4): 677-681.
- Güllü Ö, Asubay S, Aydoğan Ş, Türüt A, 2010. Electrical Characterization of The Al/new fuchsin/n-Si Organic-modified Device. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 42(5): 1411-1416.
- Gümüş A, Gümüş S, 2017. Potential Thermally Activated Delayed Fluorescence Properties of A Series of 2,3-dicyanopyrazine Based Compounds. 5th Virtual Conference on Computational Science (VCCS), Electro Network.
- Gümüş S, Gümüş A, 2017. A Computational Study on A Series of Phenanthrene and Phenanthroline Based Potential Organic Photovoltaics. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 36(2): 239-249.
- Kalyani NT, Swart HC, Dhoble SJ, 2017. *Principles and Applications of Organic Light Emitting Diodes (OLEDs)*. Woodhead Publishing. Duxford, United Kingdom.
- Kim DH, Han YW, Moon DK, 2019. A Comparative Investigation of Dibenzo[a,c]phenazine and Quinoxaline Donor-Acceptor Conjugated Polymers: Correlation of Planar Structure and Intramolecular Charge Transfer Properties. *Polymer*, 185: 121906.
- Kohn W, Sham LJ, 1965. Self-consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review*, 140(4A): A1133.
- Lee C, Yang W, Parr RG, 1988. Development of The Colle-Salvetti Correlation-energy Formula Into a Functional of The Electron Density. *Physical Review B*, 37(2): 785.
- Li J, Zhang Q, Nomura H, Miyazaki H, Adachi C, 2014. Thermally Activated Delayed Fluorescence from 3n π^* to 1n π^* up Conversion and Its Application to Organic Light-emitting Diodes. *Applied Physics Letters*, 105(1): 13301-13304.
- Li P, Cui Y, Song C, Zhang H, 2017. A Systematic Study of Phenoxazine Based Organic Sensitizers for Solar Cells. *Dyes and Pigments*, 137: 12-23.
- Mc Keever SW, 1985. *Thermoluminescence in Solids*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Méhes G, Nomura H, Zhang Q, Nakagawa T, Adachi C, 2012. Enhanced Electroluminescence Efficiency in A Spiroacridine Derivative Through Thermally Activated Delayed Fluorescence. *Angewandte Chemie International Edition*, 51(45): 11311-11315.

- Nakagawa T, Ku SY, Wong KT, Adachi C, 2012. Electroluminescence Based on Thermally Activated Delayed Fluorescence Generated by A Spirobifluorene Donor–Acceptor Structure. *Chemical Communications*, 48(77): 9580-9582.
- Nasu K, Nakagawa T, Nomura H, Lin CJ, Cheng CH, Tseng MR, Yasuda T, Adachi C, 2013. A Highly Luminescent Spiroanthracenone Based Organic Light-emitting Diode Exhibiting Thermally Activated Delayed Fluorescence. *Chemical Communications*, 49(88): 10385-10387.
- Okur S, Yakuphanoglu F, Ozsoz M, Kadayifcilar PK, 2009. Electrical and Interface properties of Au/DNA/n-Si Organic on Inorganic Structures. *Microelectronic Engineering*, 86(11): 2305-2311.
- Schlyer BD, Schauerte JA, Steel DG, Gafni A, 1994. Time-resolved Room Temperature Protein Phosphorescence: Nonexponential Decay from Single Emitting Tryptophans. *Biophysical Journal*, 67(3): 1192-1202.
- Shan T, Gao Z, Tang X, He X, Gao Y, Li J, Ma Y, 2017. Highly Efficient and Stable Pure Blue Non-doped Organic Light-emitting Diodes at High Luminance Based on Phenanthroimidazole-pyrene Derivative Enabled by Triplei-triplet Annihilation. *Dyes and Pigments*, 142: 189-197.
- Shi J, Chen J, Chai Z, Wang H, Tang R, Fan K, Li Z, 2012. High Performance Organic Sensitizers Based on 11,12-bis (hexyloxy) dibenzo[a,c]phenazine for Dye-sensitized solar cells. *Journal of Materials Chemistry*, 22(36): 18830-18838.
- Sparks JS, Schelly RC, Smith WL, Davis MP, Tchernov D, Pierivone VA, Gruber DF, 2014. The Covert World of Fish Biofluorescence: A Phylogenetically Widespread and Phenotypically Variable Phenomenon. *PLoS One*, 9(1): e83259.
- Turhan Irak Z, Gümüş A, Gümüş S, 2019. Investigation of Tadf Properties of Novel Donor-Acceptor Type Pyrazine Derivatives. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 64(1), 4303-4309.
- Turhan Irak Z, Gümüş S, 2017. Heterotricyclic Compounds via Click Reaction: A computational Study. *Noble International Journal Science*, 7: 80-89.
- Turro NJ, 1991. *Modern Molecular Photochemistry*. University Science Books.
- Yahia IS, Farag AAM, Yakuphanoglu F, Farooq WA, 2011. Temperature Dependence of Electronic Parameters of Organic Schottky Diode Based on Fluorescein Sodium Salt. *Synthetic Metals*, 161(9-10): 881-887.
- Yakuphanoglu F, Okur S, 2010. Analysis of Electronic Parameters and Interface States of Boron Dispersed Triethanolamine/p-Si structure by AFM, I–V, C–V–f and G/ω–V–f Techniques. *Microelectronic Engineering*, 87(1): 30-34.
- Yanai T, Tew DP, Handy NC, 2004. A New Hybrid Exchange–correlation Functional Using The Coulomb-attenuating Method (CAM-B3LYP). *Chemical Physics Letters*, 393(1-3): 51-57.
- Yáñez-S M, Moya SA, Zuniga C, Cardenas-Jiron G, 2017. Theoretical Assessment of TD-DFT Applied to a Ferrocene Based Complex. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1118: 65-74.
- Yang J, Ganesan P, Teuscher J, Moehl T, Kim YJ, Yi C, Grätzel M, 2014. Influence of the donor size in D–π–A organic dyes for dye-sensitized solar cells. *Journal of the American Chemical Society*, 136(15): 5722-5730.
- Yüksel ÖF, Tuğluoğlu N, Şafak H, Kuş M, 2013. The Modification of Schottky Barrier Height of Au/p-Si Schottky Devices by Perylene-diimide. *Journal of Applied Physics*, 113(4): 044507.
- Zhang D, Zhao C, Zhang Y, Song X, Wei P, Cai M, Duan L, 2017. Highly Efficient Full-color Thermally Activated Delayed Fluorescent Organic Light-emitting Diodes: Extremely Low Efficiency Roll-off Utilizing A Host with Small Singlet–Triplet Splitting. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(5): 4769-4777.
- Zhu Y, Gibbons KM, Kulkarni AP, Jenekhe SA, 2007. Polyfluorenes Containing Dibenzo [a, c] phenazine Segments: Synthesis and Efficient Blue Electroluminescence from Intramolecular Charge Transfer States. *Macromolecules*, 40(4): 804-813.

Atf İçin: Sulak M, 2021. Ege Bölgesinde Yetişen Antiviral M. parviflora L (Ebegümece) Bitkisi Kullanılarak Demir oksit (γ -Fe₂O₃) Nanopartiküllerin Sentezi ve Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2937-2946.

To Cite: Sulak M, 2021. Synthesis of Iron Oxide (γ -Fe₂O₃) Nanoparticles Using Antiviral M. Parviflora L (Mallow) Plant Growing in the Aegean Region and Investigation of Antibacterial Properties. Iğdır University Journal of Science and Technology Institute, 11(4): 2937-2946.

Ege Bölgesinde Yetişen Antiviral M. parviflora L (Ebegümece) Bitkisi Kullanılarak Demir oksit (γ -Fe₂O₃) Nanopartiküllerin Sentezi ve Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi

Mine SULAK^{1*}

ÖZET: Son yıllarda manyetik nanomalzemeler arasında maghemit (γ -Fe₂O₃), doğal biyoyumlu doğası, oksidasyon kararlılığı ve iyi manyetik özellikleri nedeniyle biyoloji, kimya, metalurji alanlarında önemli bir araştırma alanı kazanmıştır. Kanser tedavisi, gen araştırmaları, ilaç kimyası gibi alanlarda uygulamaları mevcuttur. Toksin olmaması ve çevre dostu davranışı nedeniyle son derece umut verici olan son zamanlarda oldukça popüler yöntem olan yeşil sentez yoluyla nano boyutta demir oksit sentezlenmiştir. Bu çalışmada, nano ölçekli maghemit (γ -Fe₂O₃), antiviral özellikli M. parviflora L (ebegümece) yaprağı ekstresi kullanılarak heksahidrat ferrik klorürden (FeCl₃.6H₂O) sentezlenmiştir. Elde edilen nano demir oksitlerin sentezi UV-Vis, FTIR, XRD, FESEM, EDX kullanılarak karakterize edilmiştir. γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin antimikrobiyal aktivitesi, disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil sentez, M. parviflora L (ebegümece), γ -Demir oksit nanopartikül

Synthesis of Iron Oxide (γ -Fe₂O₃) Nanoparticles Using Antiviral M. Parviflora L (Mallow) Plant Growing in the Aegean Region and Investigation of Antibacterial Properties

ABSTRACT: Maghemite (γ -Fe₂O₃) among magnetic nanomaterials in recent years has gained an important research field in the fields of biology, chemistry, metallurgy due to its natural biocompatible nature, oxidation stability and good magnetic properties. It has applications in areas such as cancer therapy, gene research, and drug chemistry. Extremely promising due to its non-toxic and environmentally friendly behavior, iron oxide in nanoscale has been synthesized via the highly applied green synthesis recently. In this study, nanoscale maghemite (γ -Fe₂O₃) was synthesized from hexahydrate ferric chloride (FeCl₃.6H₂O) using M. parviflora L (mallow) leaf extract. The synthesis of nano iron oxides obtained was characterized by using UV-Vis, FTIR, XRD, FESEM, EDX. The antimicrobial activity of γ -Fe₂O₃ nanoparticles was achieved by disk diffusion method.

Keywords: Green synthesis, M. parviflora L (mallow), γ -Ferric oxide nanoparticles

¹Mine SULAK ([Orcid ID: 0000-0003-1300-8661](https://orcid.org/0000-0003-1300-8661)), Pamukkale Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mine SULAK, e-mail: msulak@pau.edu.tr

GİRİŞ

Nanoteknoloji, metrenin milyarda biri ölçeğine sahip olan atom ve molekülleri tek tek işleme, yeniden düzenleme yoluyla materyal, araç yaratma, sanat ve bilimde çeşitli madde yapılarını konu alan bir bilimdir (Mittal and Banerjee 2013).

Nanoteknoloji ile, nanometre ölçeğindeki malzemelerin sahip oldukları üstün fiziksel özellikler kullanılarak çeşitli alanlarda (bilişim, iletişim, elektronik, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp, savunma, tekstil, makine ve inşaat sanayileri vb) teknolojik devrim niteliğinde yeni ürünler elde edilebilmektedir (Gunalan ve ark., 2012). Nanopartiküllerin (Np) sentezinde aşağıdan yukarı “Bottom Up” ve yukarıdan aşağı “Top Down” olarak adlandırılan iki yaklaşımdan bahsetmek mümkündür. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı ile yapılan sentezlerde malzemeye dışarıdan mekaniksel ve/veya kimyasal işlemler ile malzeme nano boyuta indirilir (Salam ve ark., 2012; Fernandez-Remolar 2014; Khadeeja ve ark., 2016). Nano sentezinde kullanılan kimyasal sentez yöntemleri, sentezinin karmaşık, pahalı, zaman alıcı, toksik madde kullanılmasının gerekliliği, gibi birçok dezavantajları içermektedir, Nano sentezinde son dönemlerde tercih edilen yeşil sentez ise, bitkilerin kolay bulunması, yenilenebilir, güvenli, ekonomik, toksik madde kullanımı gerektirmeyen, atıkları oluşumu olmaması, biyoyumlu, düşük maliyetli olması, farmakolojik ve biyomedikal uygulamalara uygun olması nedeniyle günümüzde ilgi odağı olmuştur (Benelli ve Lukehart 2017). Nanoparçacıkların biyolojik yöntemler kullanılarak sentezlenmesinde çözücü olarak genellikle su kullanılmaktadır.

Son yıllarda, istenen morfoloji ve boyut nanopartiküllerini hazırlamak için doğal indirgeme ve stabilize edici maddeler kullanılarak sentez yöntemleri geliştirmek için birçok araştırma yapılmıştır. Meyveler, yapraklar, kökler, saplar, perikarp, lateks ve ekstraktlar gibi birçok bitki parçası, mantarlar, mikroorganizmalar ve biyolojik olarak bozunabilir polimerler, nanopartiküllerin yeşil sentezinde bir indirgeme ve stabilize edici maddeler kaynağı olarak kullanılır (Kharissova ve ark., 2013). Biyolojik olarak sentezlenen nanopartiküller, şekillerine, boyutlarına, bileşimlerine ve fizikokimyasal özelliklerine göre çalışmak için geniş bir alana sahiptir. Np'lerin bitki bazlı sentezinde seçilen bitkinin ekstraktı ile metal tuzu çözeltisi kullanılarak sentezlenir ve reaksiyon oda sıcaklığında veya belli bir sıcaklıkta dakikalar ile birkaç saat arasında tamamlanır. Bu yeşil biyo-perspektif sentez, kimyasal ve fiziksel yöntemlerin yerini almaktadır (Li ve ark., 2013)

Demir oksitler doğal olarak bulunur ve ayrıca laboratuvarında kolayca sentezlenebilirler. Yaklaşık 16 tür demir oksit vardır: oksitler, hidroksitler ve oksit-hidroksitlerdir. Götit, akaganeit, lepidokrosit, maghemit, manyetit ve hematit önemli demir oksitlerden bazılarıdır (Dale 2005). Demir oksitlerin mükemmel, benzersiz, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri vardır.

Manyetik nanomalzemeler arasında maghemit (γ -Fe₂O₃Np), doğal biyoyumlu doğası ve oksidasyon kararlılığı ve iyi manyetik özellikleri nedeniyle çeşitli uygulamalar için en çok tercih edilen malzemelerden biri olarak kabul edilir (Singh ve ark., 2008; Hu ve ark., 2008; Lu ve ark., 2009). γ -Fe₂O₃ Np ayrıca orta düzeyde fotokatalitik aktivite ve ayrılabilirlik sergiler (Biswas ve ark., 1999). γ -Fe₂O₃ Np'nin yapısal özellikleri, yüksek manyetizasyonu, radyolojik uygulamalar (MRI), ilaç endüstrisi, gen terapisi, nano sensör uygulamaları, hücre etiketleme, kanser tedavisi ve atık su arıtımı gibi birçok uygulama alanına sahiptir. Sonuç olarak, γ -Fe₂O₃ nano partiküllerinin önemli özelliği olan manyetik özellikleri, çalışma için dikkat çekicidir (Xinming 2000).

Ebegümece bitkisi Malvaceae yani ebegümecegiller familyasına ait olan otlardan birisidir. Ülkemizde birçok yerde farklı isimlerde anılmaktadır. *M. parviflora* L. türü en çok Ege ve Akdeniz bölgesinde yetişen bir türdür. Türkiye'de halk arasında solunum ve sindirim sistemi tahriş ve

iltihaplarında koruyucu olarak dahilen; cilt üzerindeki çıban ve yaraların tedavisinde ise lapa halinde haricen olarak kullanılmaktadır (Baytop 1994; Fenercioğlu ve Tuzlacı 1998; Dülger ve Gönüz 2004).

Md. Ashaduzzaman arkadaşları papaya yaprağı ekstresi kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile demir oksit nanopartikülünün sentezini gerçekleştirmiş remazol sarı RR boyasının fotokatalitik bozunması ve antibakteriyel aktivite için uygulamasını incelemişlerdir. Şekil, boyut, kantitatif analizler sırasıyla transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve UV-görünür spektroskopi kullanılarak yapılmıştır (Ashaduzzaman ve ark., 2020). 2019 yılında yapılan bir çalışmada Abdul Hamid Wani ve arkadaşları çınar ağacı yapraklarını kullanarak Fe₂O₃ nanopartiküllerini hazırlamak için çevre dostu ve uygun maliyetli bir yöntem geliştirmişlerdir. Platanus orientalis yapraklarında bulunan proteinin, demir sülfatın Fe₂O₃ nanopartiküllerine indirgenmesinden başlıca sorumlu olduğunu bildirmişler ve antifungal özelliklerini incelemişlerdir (Devi ve ark., 2019).

Yayınlanan birçok literatürde yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen manyetit nanopartiküllerle ilgili çalışmalar mevcuttur (Pyle ve ark., 1999), ancak Ege bölgesine has Denizli’de yetişen antiviral ve antioksidan özelliğe sahip ebegümece bitkisinin yaprakları kullanılarak manyetit nanopartiküllerin yeşil sentezine ilişkin literatür mevcut değildir. Bu nedenle, bu çalışmada ebegümece bitkisinin yapraklarından yararlanarak Fe₂O₃ nanopartiküllerinin sentezini ve antibakteriyel aktivitelerini incelemiştir.

MATERYAL VE METOT

Demir (III) Klorür Hekzahidrat (FeCl₃ x6H₂O % 99.99), sodyum hidroksit (NaOH) Sigma Aldrich Pvt. Ltd., Almanya’dan satın alınmıştır. Analitik saflıkta olduğu için tüm kimyasallar daha fazla saflaştırılmadan doğrudan kullanılmıştır. Ebegümece Denizli ili Pamukkale ilçesinde yer alan sanayi bölgesinden uzak yerlerde yetişen tarlalardan toplanmıştır. Antibakteriyel aktivitelerini incelemek için kullanılan bakteriler Pamukkale Üniversitesi Teknoloji Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof Dr. Ahmet Koluman’dan temin edilmiştir.

XRD (GNR APD PRO 2000), Cu K α 1 radyasyonu ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$) kullanılarak 5-90° arasında 2 θ aralığında hazırlanan γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin fazlarını incelemek için kullanılmıştır. Nanopartiküllerin morfolojisi SEM (Zeiss Supra 40 VP) kullanılarak incelenmiş ve kantitatif analizleri SEM'e bağlı enerji dağıtıcı spektroskopi (EDX) kullanılarak yapılmıştır. UV-Görünür spektroskopi (UV/Vis-1601, Shimadzu, Kanagawa, Japan), manyetit nanopartiküllerin optik özelliklerini incelemek için kullanılmıştır. Hazırlanan maghemit nanopartiküllerinin antibakteriyel aktiviteleri, disk difüzyon yöntemi ile üç tane gram-pozitif (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) ve üç tane gram-negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *K. Pneumoniae*) olmak üzere altı bakteri suşlara karşı incelenmiştir.

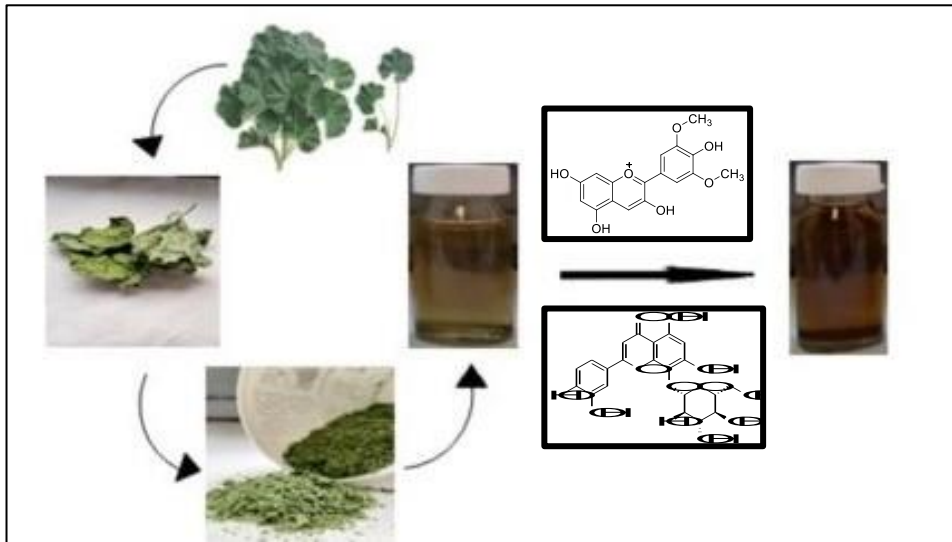
Ebegümece Yaprak Ekstrelerinin Hazırlanması

Ebegümece bitki yaprakları üzerinde bulunan kirlere arındırılmak için öncelikle saf su ile yıkanmış karanlık ortamda kurutularak toz haline getirilmiştir. Ebegümececinin 5 gram toz yaprakları 100 mL deiyonize su ile karıştırılmış ve çözelti, güçlü sarı renkli bir çözelti elde edilene kadar 15-20 dakika süreyle 80 °C'de kaynatılmıştır. Daha sonra çözelti oda sıcaklığına (yaklaşık 25 °C) soğutulmuş ve genel amaçlı filtre kağıtlarından süzülüş ve ardından berrak koyu sarı renkli bitki ekstrakt çözeltisi elde etmek için santrifüjlenmiştir.

γ -Fe₂O₃ Nanopartikülünün Hazırlanması

0.01 M 'lik bir demir klorür çözeltisi 100 mL deiyonize su içerisinde çözündürülmüştür. Daha sonra homojen bir çözelti elde etmek için karışım manyetik bir karıştırıcıda 25 °C 'de 10 dakika karıştırılmıştır. Manyetit nanopartiküllerinin ilk oluşumunu gösteren koyu kahverengimsi bir renk elde etmek için yavaş yavaş 5 mL ebegümece bitki ekstraktı ilave edilmiş ve çözelti manyetik bir karıştırıcıda 80 °C 'de belirgin renk değişimi olana kadar (yaklaşık 20 dakika) karıştırılmıştır. pH:11 olana kadar 0.1 M NaOH ilave edilmiş ve 80 °C 'de 10 dakika daha karıştırılmış ardından oda sıcaklığına soğutulmuştur.

Elde edilen çözelti, tüm safsızlıklarından uzaklaştırmak için 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş üstte oluşan süpernatant çözeltisi atılmıştır. Nanopartiküller suda çözünen safsızlıklardan arındırılmak için en az 3 kez su ile yıkanarak santrifüjlenmiştir. Tüpün altında toplanan kahverengi γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri bir saat camında toplanmış ve gece boyunca etüvde 70 °C 'de kurutulmuştur. Kurutulmuş koyu kahverengi renkli γ -Fe₂O₃ nanopartiküller, buharlaşabilir safsızlıklardan uzaklaştırmak için 300 °C 'de fırında iki saat kalsine edilmiştir. Kalsine numuneler oda sıcaklığına soğutulmuş, toz haline getirilip daha sonra karakterizasyon yapılmak üzere saklanmıştır. Şekil 1'de γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin hazırlanması şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. Nanopartiküllerin hazırlama şeması

Antibakteriyel Çalışmalar

Antibakteri duyarlılığının saptanmasında en sık olarak kullanılan yöntem disk difüzyon testleridir. Kirby Bauer tarafından geliştirilmiş olan bu yöntem ucuz ve uygulaması basit olan bir yöntemdir. Bu işlem yapılırken, oluşacak zonların birbirini üzerine gelmemesi için diskler arasında 22 mm, petri kenarından ise 14 mm uzaklık olmasına dikkat edilir. Bu çalışmada nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi, Clinical Laboratory Institute standardına (Anonymous 2020, M100 | Performance Standards for Antimicrobial Sensceptibility Testing, 31th Edition, Clinical Laboratory) göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak üç gram negatif ve üç gram pozitif bakteri üzerinde tanımlanmıştır <https://clsi.org/>.

γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri içeren diskler steril bir pens yardımıyla agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Daha sonra besiyerler 18-24 saat süreyle 35°C 'de inkübe edilmiş ve oluşan inhibisyon zonları mm cinsinden ölçülmüştür. Deney üç kez tekrarlanmış ve ortalama değerler antibakteriyel aktivite için hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

X-Işını Kırınımı

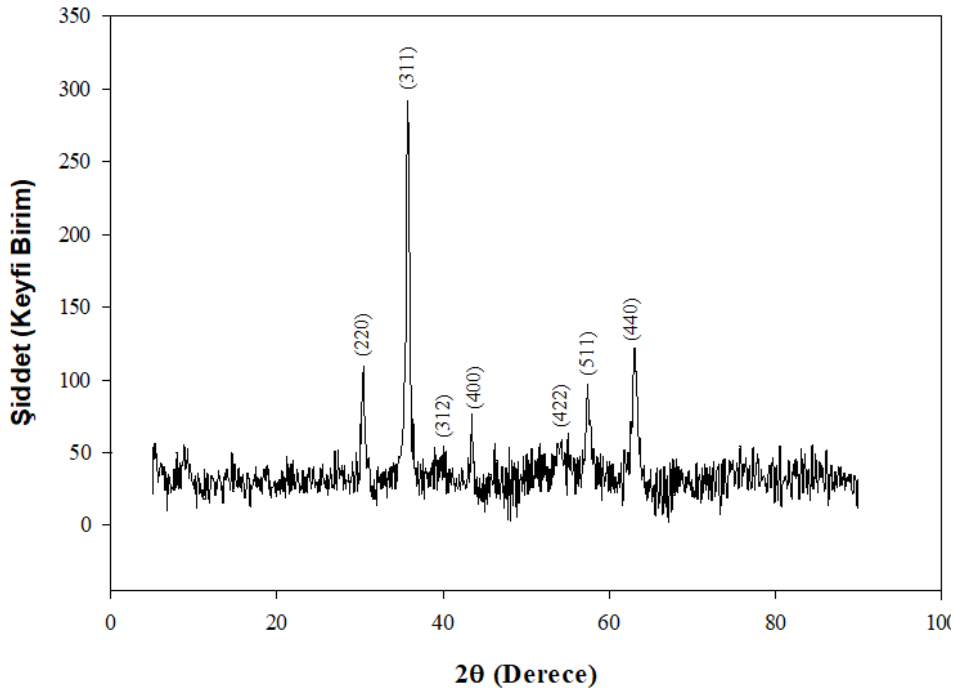
M. parviflora L (ebegümece), yaprakları ekstresi tarafından hazırlanan γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin XRD kırınım modeli Bragg kırınım değerleri ((2 2 0), (3 1 1), (3 1 2), (4 0 0), (5 1 1) ve (4 4 0)) Şekil 2’de gösterilmiştir. XRD analiz sonuçlarına göre oluşan piklerin, tetragonal yapıdaki Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait olduğu ve örgü parametrelerinin a=8.339 Å ve c=8.322 Å olduğu ICDD kütüphanesine göre belirlenmiştir (ICDD card no: 03-065-0390).

XRD analizleri CuK_α radyasyonu kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan X-Işınının dalga boyu 1.54059 Å’ dır. Elde edilen XRD difraktogramı, difraktometreye bağlı bilgisayarda bulunan Match programında ve ICDD (International Centre for Diffraction Data)’nın kütüphanesine göre yarı kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan manyetit nanopartiküllerinin kristalit boyutu, Scherrer’in formülü ile aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (1)$$

Burada, D = Ortalama kristalit boyutu, K = 0.94’e eşit bir sabit, λ = X-ışını radyasyonunun dalga boyu (0.144 nm), β = Tam genişlikte tepe noktasının maksimum yarısı (FWHM) (radyan cinsinden) ve 2θ = Bragg açısı (derece). Debye Scherrer formülüne göre hesaplanan ortalama tanecik boyutu yaklaşık 17,57 nm’ dir. Şekil 2’ de γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait X-Işını difraktogramı, Miller indisleri (yönelim düzlemleri) ile birlikte verilmiştir.

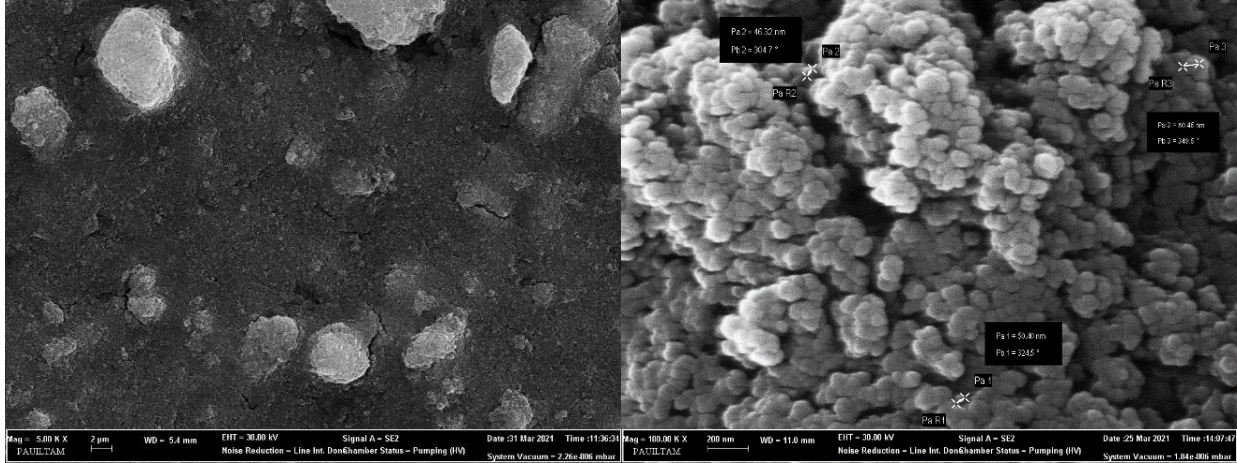
Daha yüksek yoğunluk, maghemit fazının (γ -Fe₂O₃) varlığını gösterir; bunun nedeni, ebegümece içinde bulunan polihidroksi fenol türevi olan malvidin ve hipolaetin-3-glukozid bileşiği ile ferrik (Fe³⁺) iyonlarının daha iyi şelatlaşması sonucunda γ -Fe₂O₃ nanopartikülün daha çok oluştuğu düşünülmektedir.



Şekil 2. Ebe gümecinden elde edilen nano γ -Fe₂O₃ bileşiğinin XRD grafiği

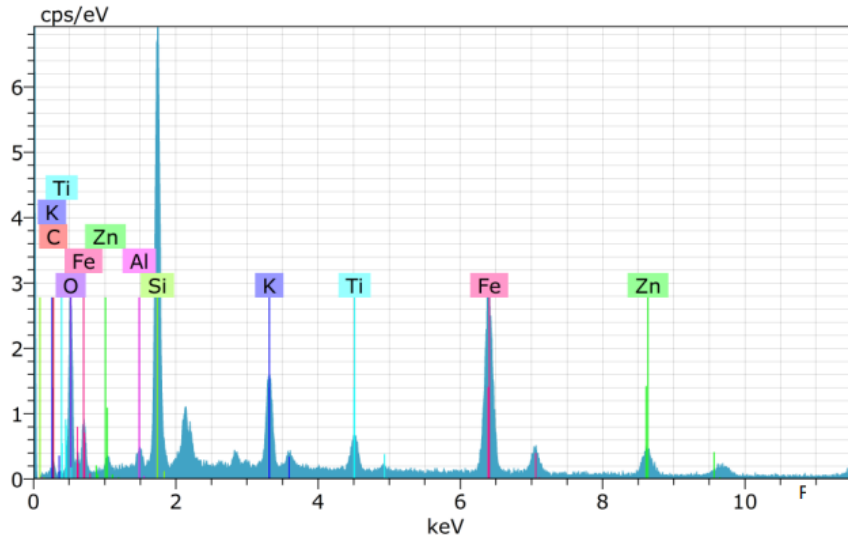
Taramalı Elektron Mikroskobu

Hazırlanan γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin SEM analizi Şekil 3' de gösterilmektedir. SEM görüntüleri dikkatlice incelendiğinde, neredeyse aynı boyutlardaki kübik ve ortalama küresel manyetit nanopartiküller görebilmektedir. Hazırlanan manyetit nanopartiküllerinin ortalama partikül boyutunun yaklaşık 30 nm olduğu bulunmuştur.



Şekil 3. γ -Fe₂O₃ Np'nin SEM görüntüsü

Biyoekestreler ile sentezlenen Fe₂O₃Np' lerin EDX analizi ile karakterizasyonu yapılmıştır. EDX sonuçlarına ait örnek Şekil 4' de verilmiştir.



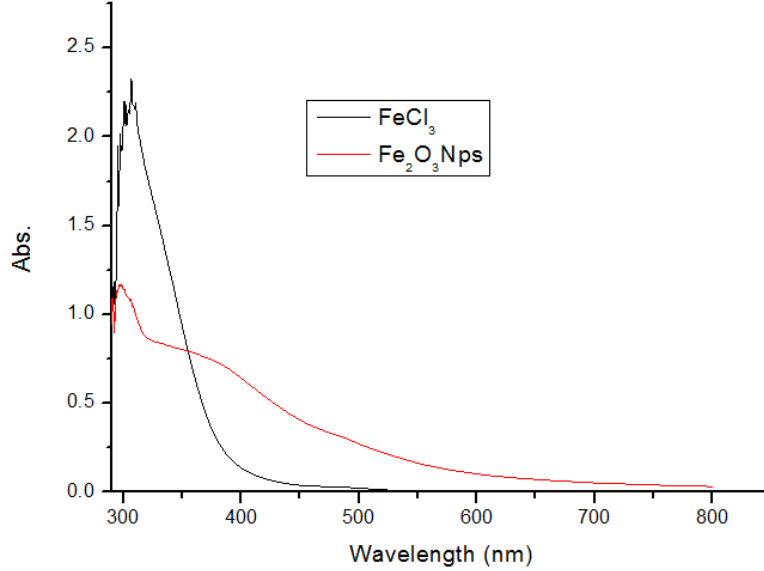
Şekil 4. γ -Fe₂O₃ nanopartikül için EDX sonuçları

EDX analizi sonucunda 0.8 keV ve 6.5 keV civarında gelen güçlü pikler Fe₂O₃ Np' lerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermiştir. EDX spektrumunda oksijene ait pikin gözlenmesi ve O pikinin şiddetinin 6.5 keV' daki Fe pikinin şiddetinin 3 katı olması ve bu iki pik arasında 2:3 oranının bulunması Fe₂O₃ nanopartiküllerinin sentezlendiğini desteklemektedir. γ -Fe₂O₃Np'lere ait piklerin yanında biyoekestreden gelen C' a ait ve analizde Zn band kullanımından kaynaklı Zn' a ait pikler safsızlık olarak EDX spektrumundaki gözlenmiştir.

Ebegümeçi Yaprak Ekstresi Kullanılarak Sentezlenen γ -Fe₂O₃ nanopartilülün FTIR Analizi ve UV-Görünür spektroskopisi

γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerinin optik yapısını açıklamak için UV-Vis spektroskopisinden bilgi edinmek mümkündür. Hazırlanan nanopartiküller, homojen bir çözelti elde etmek için 10 dakika

süreyle bir ultrasonikatör kullanılarak deiyonize su içinde dağıtılmıştır. Şekil 5' de görüldüğü gibi Fe³⁺ çözeltisinin karakteristik absorpsiyon piki 300 nm'dir. 300 nm'deki pik ise Fe(OH)²⁺ veya Fe(OH)²⁺ demirin sulu komplekslerine ait olduğu bilinmektedir. Fe₂O₃Np'lerin UV-Vis spektrumlarındaki karakteristik absorpsiyon piki 377 nm dalga boyu aralığında gözlenmiştir.



Şekil 5. Yeşil sentezle elde edilen γ -Fe₂O₃ nanopartiküle ait UV-Vis spektrumu

Hazırlanan manyetit nanopartiküllerinin bant aralığı enerjisi (E) aşağıdaki kullanılarak hesaplanmıştır.

$$E = h \cdot c / \lambda \quad (2)$$

E = Bandgap enerjisi

h = Plank sabiti = 6.626×10^{-34} Joule.sec

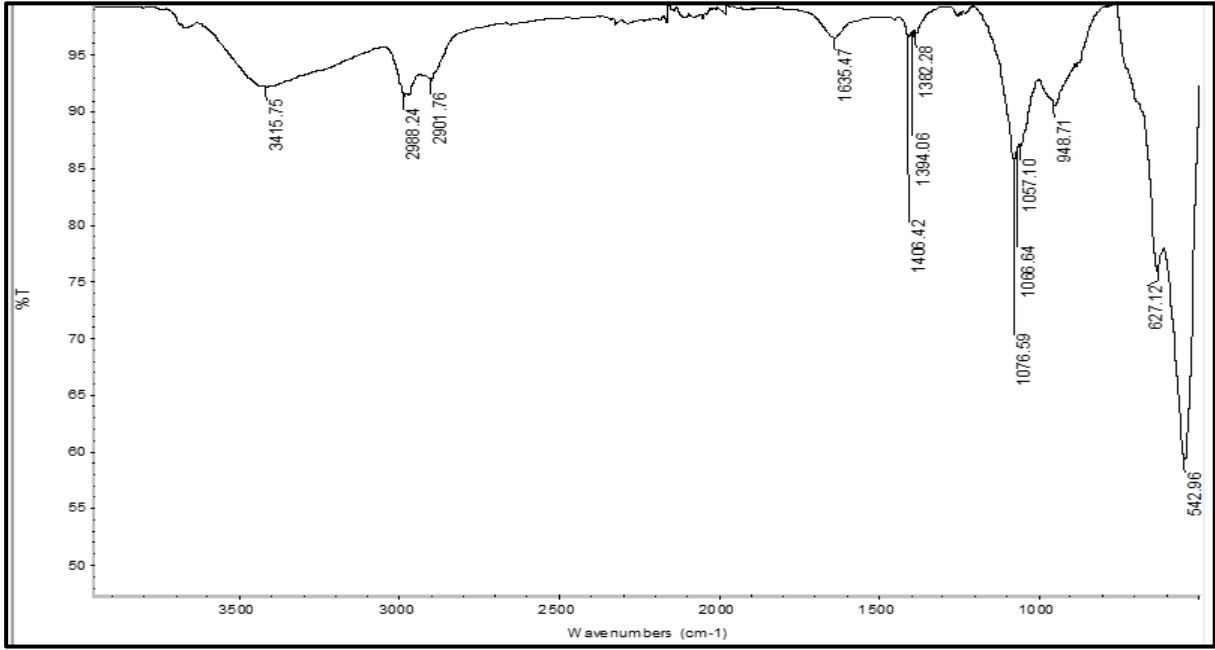
C = Işık hızı = 3.0×10^8 metre / sn

λ = Kesilmiş dalga boyu = 377×10^{-9} metre

* Dönüşüm 1eV = 1.6×10^{-19} Joule

Manyetit nanopartiküllerin hesaplanan bant aralığı enerjisi 3.29 eV olarak bulunmuştur. Ghandoor ve ark. manyetit nanopartiküllerinin bant aralığını 3.64 olarak rapor etmişlerdir (Ghandoor ve ark., 2012). Hesaplanan bant aralığı değerlerimiz rapor edilen değerlerden daha düşüktür ve bu da bizim örneğimizin onlarınkinden daha iletken olduğunu doğrulamaktadır. Ayrıca elde edilen nanopartikülün dalga boyu daha uzun dalga boyuna doğru, yani 230'dan 340'a kırmızıya kayması bleşğin α -Fe₂O₃'ten γ -Fe₂O₃'e faz dönüşümünü kanıtlamaktadır (Qingyi ve ark., 2015).

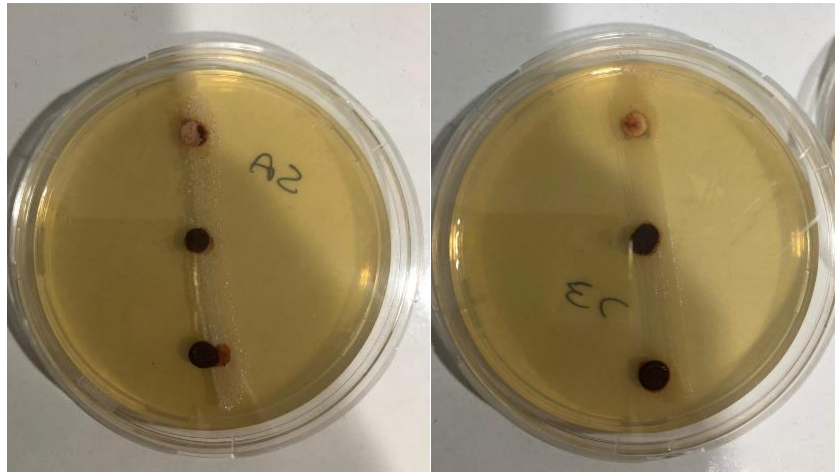
Demir oksit nanopartiküllerinin FTIR spektrumu Şekil 6 'da gösterilmektedir. Spektrumda gözlenen 3415.75 cm⁻¹ deki güçlü pik hidroksil gruplarına, 2988.24 cm⁻¹ deki pik C-H gruplarının ait titreşim hareketlerinin frekanslarını temsil etmektedir. 1635.47 cm⁻¹ ve 1394.06 cm⁻¹ deki pikler karbonil gruplarının (C=O) asimetric ve simetric gerilme titreşimlerinden kaynaklanmıştır. Bu piklerin büyük olasılıkla γ -Fe₂O₃Np'lerin sentezinde kullanılan ebegümeçi ekstrenin içeriğindeki karbosilik asit gruplarından kaynaklandığı düşünülmektedir. 1076.59 cm⁻¹ deki pikin ise ekstredeki protein bağlarına (C-O-C ve C-OH) aittir. 627.12 cm⁻¹ ve 542.96 cm⁻¹ deki bandların gözlenmesi Fe-O bağlarının oluştuğunu ve Fe₂O₃Np'lerin sentezlendiğini desteklemektedir.



Şekil 6. γ -Fe₂O₃ nanopartikülüne ait FTIR analizi

Antibakteriyel Çalışmalar

Biosentezle elde edilen manyetik nano partikülün antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerin farklı boyutlarda (20nm, 30nm, 70nm) sentezi gerçekleştirilmiş, farklı konsantrasyonlarda Fe₂O₃ 'ün dispersiyon çözeltileri hazırlanmış ayrıca değişik çözümler (etil alkol, metil alkol, su) kullanılarak γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerin antibakteriyel özellikleri disk difüzyon tekniği kullanılarak incelenmiştir. γ -Fe₂O₃ nanopartikülleri nanopartiküllerin boyutunun değişmesi, farklı konsantrasyonlarda nanopartiküllerin kullanılması, çözücünün değişmesi durumunda bile antibakteriyel etki göstermemiştir (Şekil 7). Deney sonucunda γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerin çalıştığımız bakteriler için immünomanyetik ayırma yaptığı sonucuna varılmıştır.



Şekil 7. γ -Fe₂O₃'in antibakteriyel çalışmaları

SONUÇ

Bu çalışmada Ege bölgesinde yetişen şifalı bitkiler sınıfında yer alan *M. parviflora* L (ebegümece) bitkisini kullanılarak kolay, çevre dostu bitki aracılı biyolojik bir yöntemle demir oksit (γ -Fe₂O₃) nano partikülleri başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. Çalışmamızda kullanılan ebegümece bitkisi nanopartiküllerin sentezinde hem indirgeme aracı hem de stabilizasyon aracı olarak işlev görmüştür,

bu nedenle hazırlanan nanopartiküllerde çok az topaklaşma (aglomerasyon) oluşmuş şekilde elde edilmiştir. γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerin sentezlendiği UV-Vis, FTIR, SEM, XRD analizleri ile ispatlanmıştır. XRD analiz sonuçlarına göre hazırlanan maghemit nanopartiküller için oluşan piklerin, tetragonal yapıdaki γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerine ait olduğu ve örgü parametrelerinin a=8.339 Å ve c=8.322 Å olduğu ICDD kütüphanesine göre belirlenmiştir (ICDD card no: 03-065-0390), ayrıca Scherrer'in formülü ile hesaplanan kristal boyutu 17.57 nm olarak hesaplanmıştır. SEM çalışmaları, hazırlanan nanopartiküllerin topaklaşması (aglomerasyon) çok az küresel bir yapıda olduğunu göstermektedir. EDX analizi teorik ve deneysel olarak sitokiyometrik 2:3 demir ve oksijen oranlarını doğrulamıştır. Manyetit nanopartiküllerinin UV-Görünür spektroskopisi, 375 nm'de geniş bir yüzey plasmon rezonans absorpsiyon zirvesi göstermiştir.

Hazırlanan demir oksit nanopartiküller, 3.31 eV'lik bir bant aralığı sergilemiştir ki bu, bildirilen diğer değerlere kıyasla oldukça az ve dolayısıyla daha iletken olduğunu göstermektedir. Hazırlanan manyetit nanopartiküllerinin *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* bakteri şuşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. γ -Fe₂O₃ nanopartiküllerin şartları (farklı boyutta, farklı konsantrasyonda ve farklı çözücülerde) değiştirilerek birçok çalışma yapılmasına rağmen bakteri şuşları üzerinde antibakteriyel özellik göstermediği gözlenmiştir. Demiroksit nanopartikülünün manyetik etkisinden dolayı bakterilerde antibakteriyel etki yapmadığı düşünülmüştür. Antibakteriyel çalışmaları sonucunda elde edilen veriler ışığında ilerleyen çalışmalarda iminogloblin üzerinde çalışmalar devam edecektir.

TEŞEKKÜR

Katkılarından dolayı Prof. Dr. Ahmet Koluman hocama teşekkürü bir borç bilirim. Bu çalışma, Pamukkale Üniversitesi, BAP 2021HZDP014 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Çıkar çatışması yoktur, yazarın kendi özgün çalışmasıdır.

Yazar Katkısı

Tüm çalışma, yazarın kendisine aittir.

KAYNAKLAR

- Ashaduzzaman M, Hossen Bhuiyan S, Miah MY, Shujit Chandra P, Das Aka T, Saha O, Rahaman M, Sharif JI, Habiba O, 2020. Green synthesis of iron oxide nanoparticle using *Carica papaya* leaf extract: application for photocatalytic degradation of remazol yellow RR dye and antibacterial activity. *Heliyon*, 6(8): 4603
- Baytop T, 1994. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Türk Dil Kurumu Yayınları: 578, Türk Tarih Kurumu Basımevi. Ankara-Türkiye
- Benelli G, Lukehart CM, 2017. Applications of green-synthesized nanoparticles in pharmacology, parasitology and entomology. *Journal of Cluster Science*, 28(1): 1-2.
- Biswas PS, Debnath TK, Saha PK, Chowdury AV, Shaw U, 1999. Chemical and pharmacological evaluation of different Ayurvedic preparations of iron. *Journal of Ethnopharmacology*, 65: 149–156.
- Dale L, 2005. Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. *Small Nano Micro*, 1: 482–501.

- Devi HS, Boda A, Ashraf Shah M, Parveen S, Wani AH, 2019. Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Platanus orientalis* leaf extract for antifungal activity. *Green Processing Synthesis*, 8: 38–45.
- Dülger B, Gönüz A, 2004. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian Journal Plant Science*, 3: 104-107.
- Fenercioğlu ET, Tuzlacı E, 1998. Şile (İstanbul) yöresinde geleneksel halk ilacı olarak kullanılan bitkileri, *Proceedings of XIIth International Symposium on Plant Originated Crude Drugs*, Ankara, Mayıs, 1998: 243-248.
- Fernandez-Remolar DC, 2014. Iron oxides, hydroxides and oxy-hydroxides. *Encyclopedia of Astrobiology*, pp. 1268-1270, France.
- Ghandoor HE, Zidan HM, Khalil MH, Ismail MIM, 2012. Synthesis and Some Physical Properties of Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles. *International Journal of Electrochemical Science*, 7:5734-45.
- Gunalan S, Sivaraj R, Rajendran V, 2012. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science*, 22 (6): 693-700.
- Hu JS, Zhong LS, Song WG, Wan LJ, 2008. Synthesis of hierarchically structured metal oxides and their application in heavy metal ion removal. *Advanced Materials*, 20: 2977–2982.
- Khadeeja P, Banse V, Ledwani L, 2016. Green synthesis of nanoparticles: their advantages and disadvantages. *AIP Conference Proceedings*. 1724: 020048.
- Kharissova OV, Dias HR, Kharisov BI, Pérez BO, Pérez VMJ, 2013. The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 31(4): 240-248.
- Li L, Jiang W, Luo K, Song H, Lan F, Wu Y, GZ, 2013. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as MRI contrast agents for non-invasive stem cell labeling and tracking. *Theranostics*, 3(8): 595.
- Lu J, Jiao X, Chen D, Gu W, 2009. Solvothermal Synthesis and Characterization of Fe₃O₄ and γ -Fe₂O₃ Nanoplates. *Journal of Physical Chemistry C*, 113: 4012–4017.
- Mittal AK, Chisti Y, Banerjee UC, 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31 (2): 346–356.
- Pyle BH, Broadaway SC, Mcfeters GA, 1999. Sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 in food and water by immunomagnetic separation and 76 solid-phase laser cytometry. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(5): 1966- 1972.
- Qingyi Z, Bai J, Li J, Xia L, Huang K, Li X, Zhou BA, 2015. Novel Insitu preparation method for nanostructured α -Fe₂O₃ films from electrodeposited Fe films for efficient photoelectrocatalytic water splitting and the degradation of organic pollutants. *Journal of Materials Chemistry A*, 3: 4345– 4353.
- Salam HA, Rajiv P, Kamaraj M, Jagadeeswaran P, Gunalan S, Sivaraj R, 2012. Plants: green route for nanoparticle synthesis. *International Research Journal of Biological Science*, 1: 85–90.
- Singh K, Ohlan A, Kotnala RK, Bakhshi AK, Dhawan SK, 2008. Dielectric and magnetic properties of conducting ferromagnetic composite of polyaniline with gamma-Fe₂O₃ nanoparticles. *Material Chemistry Physics*, 112: 651–658.
- Xinming Q, 2000. Nanomagnetism and magnetic nanoparticles for biomedical application. *Journal Nano Research*, 2: 191–198.

Atf İçin: Koksall Z, Atasever A, 2021. Investigation of the Inhibition Effects of Some Antidepressants on Lactoperoxidase Enzyme. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2947-2954.

To Cite: Koksall Z, Atasever A, 2021. Investigation of the Inhibition Effects of Some Antidepressants on Lactoperoxidase Enzyme. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2947-2954.

Investigation of the Inhibition Effects of Some Antidepressants on Lactoperoxidase Enzyme

Zeynep KÖKSAL^{1*}, Ali ATASEVER²

ABSTRACT: Lactoperoxidase (LPO) (E.C.1.11.1.7), which is a component of human and animal milk, is an oxidoreductase that is found in milk, saliva and tears, especially protecting the gut systems and mammary glands of newborns. In this study, Bovine LPO enzyme was purified 447.57 times with 35.24% yield and 31.33 EU / mg protein specific activity using Amberlite CG-50 H⁺ resin and affinity chromatography. Enzyme activity was measured using ABTS as a chromogenic substrate (pH 6.0). After purification the *in vitro* effects of some antidepressants (Sodium valproate, mirtazapine, risperidone) were investigated on lactoperoxidase. K_i values for these antidepressants were found as 296.4±119.3 µM and 0.90±0.40 µM, respectively. Sodium valproate did not show an inhibition effect on LPO. Risperidone exhibited noncompetitive inhibition, mirtazapine showed competitive inhibition.

Keywords: Lactoperoxidase, bovine milk, antidepressant, inhibition

¹Zeynep KÖKSAL ([Orcid ID: 0000-0001-8203-4623](https://orcid.org/0000-0001-8203-4623)), Istanbul Medeniyet University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Istanbul, Turkey

²Ali ATASEVER ([Orcid ID: 0000-0002-1994-4197](https://orcid.org/0000-0002-1994-4197)), Ataturk University, Ispir Hamza Polat Vocational Training School, Erzurum, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Zeynep KÖKSAL, e-mail: zeynepkoksall77@gmail.com

INTRODUCTION

Among the enzymes, peroxidases included in the oxidoreductase enzyme class (POD: H₂O₂-Oxidoreductase E.C.1.11.1.7) that have the potential to be used in many fields today, which commonly found in prokaryotes, eukaryotes, and photosynthetic cells (Huystee, 1987).

By using various aromatic compounds as substrate, peroxidases eliminate the harmful effect of H₂O₂ that occurs during metabolism (Robert et al., 1993). It is required to remove H₂O₂, which has an oxidizing feature and formed as a result of biological systems, from the environment without losing time. This important task is performed by catalase and peroxidase enzymes, being the antioxidant enzymes in the cells (Halliwell, 1984).

Lactoperoxidase enzyme (LPO: Hydrogen Peroxide Oxidoreductase E.C. 1.11.1.7) is present in mammals' milk, tears, saliva, and airways surface fluid (Prince et al., 2000; Fontehet al., 2002). The enzyme is a glycoprotein containing hem group with a molecular weight of 78 kDa (Elagamy et al., 1992; Amornkul and Henning, 1997; Kumar and Bhatla, 1985). Due to the reason that lactoperoxidase enzyme contains 0.07% Fe²⁺ together with protein, it is included in the metalloprotein group. This iron atom in the structure, forms part of hem group in the catalytic center of the enzyme. Hem group enzyme in LPO, is constituted of protoporphyrin IX tightly connecting with disulfide bridges (Thanabal and LaMar, 1989). The peptide chain in the enzyme contains 612 amino acid residues and 15 half cystine residues (Reiter and Harnulv, 1984). The isoelectric point of the LPO enzyme is 9.6 (Anonymous, 1955). Lactoperoxidase enzyme is a molecule containing 8-10% carbohydrate and having a glucose-binding region (Cals et al., 1991). In studies conducted in relation to secondary structure of LPO enzyme, it has been determined that 65% of molecules had β structure, 23% of molecules had α structure and that 12% of molecules had irregular structure (Sievers, 1980). The most commonly known substrates are simple phenols such as ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), guaiacol and catechol (Shindler and Bardsley, 1975).

Antidepressants are medicines that can help alleviate depression, anxiety disorders, seasonal mood disorder, and mild chronic depression symptoms and other conditions and they aim to correct the chemical imbalances of neurotransmitters (Beser -Gördeles and Öz, 2003).

Mirtazapine is used in the treatment of Major depressive disorder. It effects chemicals that can become unstable in brain and cause depression and anxiety (Brunton et al., 2005; Süzer, 2002).

Studies show that risperidone can be used as an antidepressant in bipolar disease (Sanger et al., 2001). Risperidone influences Dopamine (D₂) and serotonin (5-HT₂) receptor antagonists. Its antagonist effect on other receptors can explain other effects of risperidone. It also has antagonistic effects on alpha-1, alpha-2 and histamine-1 receptors (Grant et al., 1994).

It has been reported that sodium valproate is an antiepileptic substance that has its effect on the central nervous system (Emrich et al., 1985). Valproic acid is an antiepileptic drug, widely used as a mood stabilizer in the therapy of bipolar disorder. It also exhibits antidepressant effect (Pistovcakova et al., 2008)

In the present study we aimed to investigate the inhibitory effects of antidepressants (Sodium valproate, mirtazapine, risperidone) on bovine milk LPO enzyme activity. For this aim, LPO enzyme was purified from bovine milk then IC₅₀, K_i constants and inhibition types were firstly determined for these molecules. Since LPO has a crucial role for the immunity system, the inhibition of this enzyme means that the immune system is weakened, it is not desirable, especially for newborns. No previous study in the literature so far investigated the inhibitory effects of these molecules on bovine milk LPO.

MATERIALS AND METHODS

Activity Procedure

For checking the activity of LPO used procedure is based on the oxidation of ABTS as a substrate by H_2O_2 , results in a product that absorbs at 412 nm (Shindler and Bardsley, 1975; Ozdemir and Uguz, 1995).

Purification procedure

Bovine milk was centrifuged to remove fat of milk. Amberlite CG 50 NH_4^+ resin was added in the milk for the bound proteins were elute after the eluate was applied to the Sepharose4B-L-tyrosine-sulphanilamide affinity column (Atasever et al. 2013).

SDS PAGE

The sodium dodecyl sulphate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) used to check the LPO purity. In this method the stacking and running gels contained 3% (w/v) and 10% (w/v) acrylamide, respectively, and 0.1% (w/v) SDS. After electrophoresis, proteins can be stained with Coomassie Blue R-250 (Laemmli, 1970).

Protein Determination

The protein concentration was determined according to the Bradford method (Bradford, 1976) and BSA (Bovine serum albumine) was used as a standard protein. In this method, Coomassie Brilliant Blue G-250, binds to proteins, and the resulting coloured complex has a maximum absorbance at 595 nm (Gulcin et al. 2004).

In Vitro Inhibition Studies

Determined the IC_{50} concentrations for each molecules, constant ABTS concentration and five different inhibitor concentrations were used after an activity %-[Inhibitor] graphs were drawn. K_i values were determined with Lineweaver-Burk graphs at five different ABTS concentrations (0.083- 0.50 mM) and three different inhibitor concentrations. Analysis of data obtained was made by *t*-test and they are given as $X \pm SD$. (Atasever et al., 2013).

RESULTS AND DISCUSSION

The LPO system in milk has an antibacterial effect, it is based on the oxidation of SCN^- ions by the reaction catalyzed in the presence of H_2O_2 . It is accepted that the active intermediary product that is formed during oxidation of thiocyanate to hypothiocyanate (OSCN) (Madureira, 2007). It has the ability to oxidize free sulfhydryl (-SH) groups in enzymes that are vital in bacterial metabolism (Madureira, 2007).

The biological importance of LPO involves its role in providing a natural defense system against the invasion of microorganisms (Koksal et al., 2016). LPO system has effect on a wide microorganism group. Apart from certain special cases, while it has a bacteriostatic effect against Gram (+) bacteria such as streptococcal and lactobacillus, it has a bactericidal effect against Gram (-) bacteria causing degradation in products such as Pseudomonas, E. Coli and enteropathogenic species of salmonella (Duffy, 1983).

Until now, many LPO inhibitors have been reported in the literature. For example, hydrazines, thiocarbamide compounds, sulfanilamides, propofol, some anesthetic drugs, some bacteria species, some phenolic acid compounds and phenolics, avermectins, adrenaline, melatonin, serotonin and norepinephrine, fungi and bacteria, hydrazines and some thiocarbamide compounds (Koksal et al., 2020; Koksal et al., 2016). But, there is not any research in the literature that investigated the inhibitory activity

of antidepressants on LPO. For this purpose, LPO was purified from bovine milk 447.57 times with 35.24% yield with an affinity technique and the purification table was prepared with the data obtained (Table 1).

Table 1. The purification of lactoperoxidase from bovine milk

Purification steps	Total Volume (ml)	Activity (EU/ml)	Protein (mg/ml)	Total Activity (EU)	Total Protein (mg)	Specific Activity (EU/mg)	Yield %	Purification Fold
Crude Homogenate	55.00	0.97	13.00	53.35	715.0	0.07	100	1.00
Affinity Chromatography	10.00	1.88	0.06	18.80	0.60	31.33	35.24	447.57

The purity of LPO was checked with the SDS-PAGE and the molecular weight was determined to be 78 kDa (Figure 1).

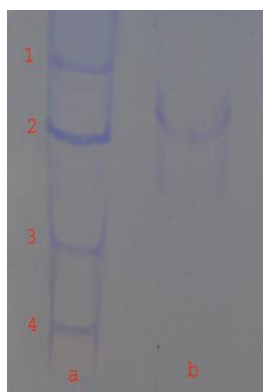


Figure 1. Sodium dodecylsulphate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) band of LPO. Column “b” is purified LPO. Column “a” is standard proteins (Line 1: 250 kDa, Line 2: 150 kDa, Line 3: 100 kDa, Line 4: 70 kDa, Line 5: 50 kDa, Line 6: 40 kDa, Line 7: 30 kDa, Line 8: 20 kDa, Line 9: 15 kDa from Thermo 26630, with a 250-20 kDa interval)

LPO activity was measured for the different molecular structures of compounds used in this study (Figure 2) and the determined inhibition values and types were given in the (Table 2, Figure 3).

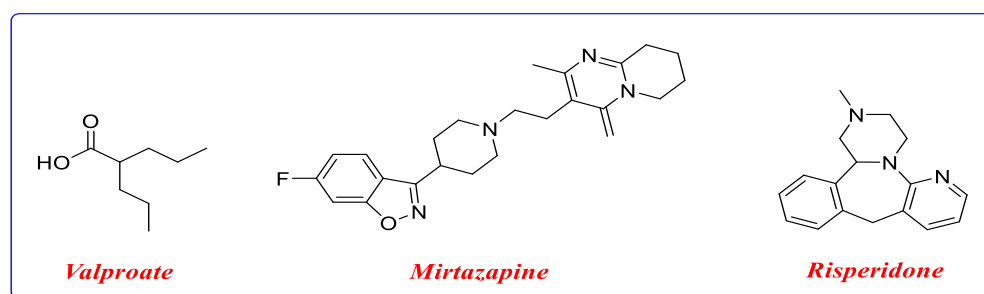


Figure 2. The molecular structures of antidepressants used in this study

Table 2. IC₅₀ and K_i values and inhibition types for antidepressants used in this study

Antidepressant	IC ₅₀ (μM)	R ²	K _i (μM)	Inhibition Type
Sodium valproate	No inhibition			
Mirtazapine	263.35	0.96	296.4±119.3	Competitive
Risperidone	1.02	0.99	0.90±0.40	Noncompetitive

In this study, both K_i and IC₅₀ parameters for these molecules on bovine LPO are first determined and summarized in Table 2. K_i and IC₅₀ graphs of Mirtazapine and Risperidone are given in Figure 3.

As seen in Table 2, the obtained IC₅₀ values of antidepressants against LPO are as follows: risperidone (1.02 μM, R²: 0.99) > mirtazapine (263.35 μM, R²: 0.96). On the other hand, K_i values of

these compounds decreased in the following order: risperidone ($0.90 \pm 0.40 \mu\text{M}$) > mirtazapine ($296.4 \pm 119.3 \mu\text{M}$).

Among these compounds, while sodium valproate does not show an inhibitory effect, risperidone has shown the strongest inhibition effect. Also, the inhibition effect of risperidone on LPO was found to be a noncompetitive inhibition. mirtazapine demonstrated competitive inhibition type. Risperidone caused to inhibition by binding to enzyme somewhere other than active site and mirtazapine caused to inhibition by only binding to enzyme–substrate complex.

Mirtazapine is a molecule with a steric hindrance relative to the risperidone molecule. Additionally, LPO inhibition by these molecules is dependent on the positioning of the inhibitor in the active site; the distance between the atoms in the molecules and active site amino acids (Koksal et al., 2017).

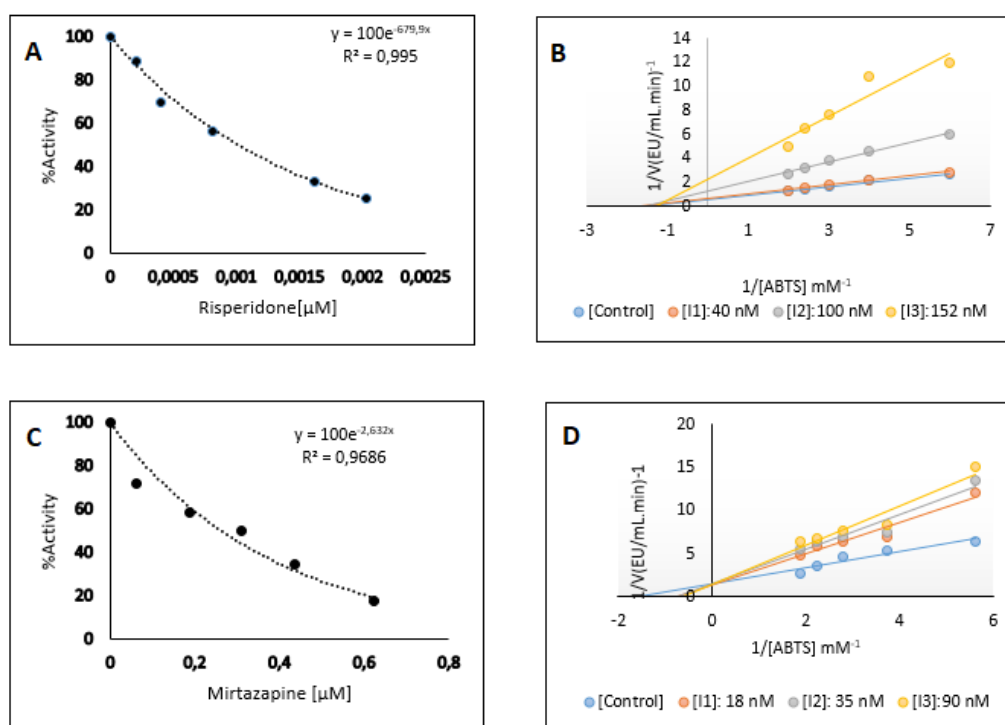


Figure 3. IC₅₀ graphs (A,C) and Lineweaver–Burk graphs (B, D) of Risperidone and Mirtazapine for LPO, respectively

The *in vitro* inhibition effects of mirtazapine, sodium valproate and risperidone antidepressants on the AChE enzyme was investigated and the following conclusions were reached. IC₅₀ values were found to be 0.428 mM and 0.019 mM for Mirtazapine and Risperidone, respectively. The K_i values for each molecule were found to be 0.23 ± 0.051 mM and 0.012 ± 0.0018 mM (Özcan, 2014).

In vitro inhibitory effects of mirtazapine was investigated against Dihydropyrimidine dehydrogenase enzyme. IC₅₀ value was determined as 86.65 μM (Camadan, 2016).

In a study conducted to investigate *in vitro* drug-drug interactions, the effect of antidepressants on the Cytochrome P450 system was investigated. For CYP3A4, mirtazapine is also a very weak inhibition effect (K_i = 0.07 μM) (Owen et al., 1998).

Another study, *in vitro* metabolism of risperidone was investigated using the recombinant human cytochrome P450 enzymes. The contribution of CYP2D6 and CYP3A to the metabolism of risperidone may have significant value in predicting potential drug-drug interactions in the clinical use of risperidone (Fang et al., 1999).

Use of antidepressants in pregnancy is increasing to 2–8.7% over the recent years in Western countries (Ray and Stowe, 2014). Many *in vitro* inhibition studies in the literature provide guidance for clinical studies. When the results of *in vitro* studies are evaluated, it may be useful for drug design and dosage adjustment.

CONCLUSION

In this study being conducted, it has been reported that some antidepressants inhibit LPO enzyme activity. LPO activity is a very important enzyme during lactation. It has vital importance especially in protection of immune system. Reduction in LPO activity of milk during antidepressant usage, can be harmful for the newborn. Attention should be paid during medicine consumptions a dosage adjustment should be made. Care should be taken in the use of antidepressants specified in the study.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Amornkul Y, Henning DR, 2007. Utilization of microfiltration or lactoperoxidase system or both for manufacture of Cheddar cheese from raw milk. *Journal of dairy science*, 90-11: 4988-5000.
- Aune TM, Thomas EL, 1978. Oxidation of protein sulfhydryls by products of peroxidase-catalyzed oxidation of thiocyanate ion. *Biochemistry*, 17(6): 1005-1010.
- Beser-Gördeles N, Öz F, 2003. Hastaların Ö. F. K. A. L. AD Düzeyleri, Y. Kalitesi. *CÜ Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi*, 7.
- Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, 2008. Goldman and Gilman. Nobel Tıp Kitapevleri 2015, Ankara.
- Cals MM, Maillart P, Brignon G, Anglade P, Dumas BR, 1991. Primary structure of bovine lactoperoxidase, a fourth member of a mammalian heme peroxidase family. *European Journal of Biochemistry*, 198(3):733-739.
- Camadan Y, Özdemir H, Gulcin İ, 2016. Purification and characterization of dihydropyrimidine dehydrogenase enzyme from sheep liver and determination of the effects of some anaesthetic and antidepressant drugs on the enzyme activity. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 31(6): 1335-1341.
- Elagamy EI, Ruppanner R, Ismail A, Champagne CP, R Assaf, 1996. Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *International Dairy Journal*, 6(2):129-145.
- Emrich HM, Dose M, Von Zerssen D, 1985. The use of sodium valproate, carbamazepine and oxcarbazepine in patients with affective disorders. *Journal of affective disorders*, 8(3):243-250.
- Expósito IL, Recio I, 2006. Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins. *International Dairy Journal*, 16(11):1294-1305.
- Fang J, Bourin M, Baker GB, 1999. Metabolism of risperidone to 9-hydroxyrisperidone by human cytochromes P450 2D6 and 3A4. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 359(2): 147-151.
- Fonteh FA, Grandison AS, Lewis MJ, 2002. Variations of lactoperoxidase activity and thiocyanate content in cows' and goats' milk throughout lactation. *The Journal of dairy research*, 69(3): 401.

- Gau J, Furtmüller PG, Obinger C, Prévost M, Van Antwerpen P, Arnhold J, Flemmig J, 2016. Flavonoids as promoters of the (pseudo-) halogenating activity of lactoperoxidase and myeloperoxidase. *Free Radical Biology and Medicine*, 97:307-319.
- Georgiopoulos AM, Bryan TL, Wollan P, Yawn BP, 2001. Routine screening for postpartum depression. *Journal of Family Practice*, 50(2):117-117.
- Grant S, Fitton A, 1994. Risperidone. *Drugs*, 48(2): 253-273.
- Gülçin İ, Küfrevioğlu ÖI, Oktay M, Büyükkuroğlu ME, 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.), *Journal of Ethnopharmacol*, 90(2,3):205–215.
- Gülseren L, 1999. Doğum Sonrası Depresyon. *Türk Psikiyatri Dergisi*, 10(1):58-67.
- Halliwell B, 1984. Oxygen radicals: a commonsense look at their nature and medical importance. *Medicine Biology*, 62, 71-77.
- Huystee RV, 1987. Some molecular aspects of plant peroxidase biosynthetic studies. *Annual review of plant physiology*, 38(1):205-219.
- İnal S, 2015. Afinité Kromatografisi Tekniği ile Peroksidaz Enziminin Kırmızı Pancardan (*Beta Vulgaris*) Saflaştırılması ve Karakterizasyonu (Master's thesis).
- Koksal Z, Alim Z, Beydemir S, Ozdemir H, 2016. Potent inhibitory effects of some phenolic acids on lactoperoxidase. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 30(11): 533-538.
- Koksal Z, Gulcin I, Ozdemir H, 2016. An important milk enzyme: lactoperoxidase. In *Milk proteins- From structure to biological properties and health aspects*. Intech Open, No:7; pp.243-250, Open Access.
- Köksal Z, Alim Z, 2020. Lactoperoxidase, an antimicrobial enzyme, is inhibited by some indazoles. *Drug and chemical toxicology*, 43(1):22-26.
- Köksal Z, Kalin R, Camadan Y, Usanmaz H, Almaz Z, Gülçin I, Ozdemir H, 2017. Secondary sulfonamides as effective lactoperoxidase inhibitors. *Molecules*, 22(6): 793.
- Kumar R, Bhatia KL, Dauter Z, Betzel CH, Singh TP, 1995. Purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of lactoperoxidase from buffalo milk. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 51(6):1094-1096.
- Kussendrager KD, Van Hooijdonk ACM, 2000. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *British Journal of Nutrition*, 84(S1):19-25.
- Madureira AR, Pereira CI, Gomes AM, Pintado ME, Malcata FX, 2007. Bovine whey proteins— Overview on their main biological properties. *Food Research International*, 40(10): 1197-1211.
- Murray L, Cooper PJ, 1997. Postpartum depression and child development. *Psychological medicine*, 27(2):253-260.
- Oram JD, Reiter B, 1966. The inhibition of streptococci by lactoperoxidase, thiocyanate and hydrogen peroxide. The effect of the inhibitory system on susceptible and resistant strains of group N streptococci. *Biochemical Journal*, 100(2):373-381.
- Owen JR, Nemeroff CB, 1998. New antidepressants and the cytochrome P450 system: focus on venlafaxine, nefazodone, and mirtazapine. *Depression and anxiety*, 7(S1): 24-32.
- Özcan Bilge, 2014. Investigation Of The Effects Of Some Chemical Substances On Acetylcholinesterase Enzyme Activity Purified From Human Erythrocytes, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Özdemir H, Uğuz MT, 2005. In vitro effects of some anaesthetic drugs on lactoperoxidase enzyme activity. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 20(5): 491-495.

- Pistovcakova J, Dostálek M, Sulcova A, Jezova D, 2008. Tiagabine treatment is associated with neurochemical, immune and behavioural alterations in the olfactory bulbectomized rat model of depression. *Pharmacopsychiatry*, 41(02): 54-59.
- Pütter J, Becker R, 1987. *Methods of Enzymatic Analysis: Peroxidases* Bergmeyer. Third edition, 286, VCH, New York, USA.
- Ratner AJ, Prince A, 2000. Lactoperoxidase: new recognition of an “old” enzyme in airway defenses. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 22(6):642-644.
- Ray S, Stowe ZN, 2014. The use of antidepressant medication in pregnancy. *Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 28(1), 71-83
- Reiter B, Härnolv G, 1984. Lactoperoxidase antibacterial system: natural occurrence, biological functions and practical applications. *Journal of Food Protection*, 47(9): 724-732.
- Sanger TM, Grundy SL, Gibson PJ, Namjoshi MA, Greaney MG, Tohen MF, 2001. Long-term olanzapine therapy in the treatment of bipolar I disorder: an open-label continuation phase study. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 62(4):273-81
- Shindler JS, Bardsley WG, 1975. Steady-state kinetics of lactoperoxidase with ABTS as chromogen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 67(4):1307-1312.
- Sievers G, 1980. Structure of milk lactoperoxidase. A study using circular dichroism and difference absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 624(1):249-259.
- Stowe ZN, Nemeroff CB, 1997. Depression during pregnancy and the puerperium. *Journal of Clinical Psychiatry*, 58(15):26-32.
- Thanabal V, La Mar GN, 1989. A nuclear Overhauser effect investigation of the molecular and electronic structure of the heme crevice in lactoperoxidase. *Biochemistry*, 28: 7038-7044.
- Weber MF, Aalberts M, Schukken YH, 2016. An update on milk quality assurance for paratuberculosis in Dutch dairy herds.

Atf İçin: Tekeş AT, Ata AC, Tanrıverdi AA, Çakmak İ, 2021. THBF Bileşiğinin İnsiliko Moleküler Yerleştirme Çalışmaları: TD-DFT Simülasyonları ve İlaç Tasarımı. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2955-2966.

To Cite: Tekeş AT, Ata AC, Tanrıverdi AA, Çakmak İ, 2021. Insilico Molecular Docking Studies of THBF Compound: TD-DFT Simulations and Drug Design. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2955-2966.

THBF Bileşiğinin İnsiliko Moleküler Yerleştirme Çalışmaları: TD-DFT Simülasyonları ve İlaç Tasarımı

Ahmet Turan TEKEŞ¹, Ahmet Çağrı ATA¹, Aslıhan Aycan TANRIVERDİ^{1*}, İsmail ÇAKMAK¹

ÖZET: Bu çalışmada, 4 - ((2R, 3S) -2, 3, 4-trihidroksibutoksi) ftalonitrilin geometrik yapılarının B3LYP / 6-311G (d, p) ve elektronik özelliklerine dayalı detaylı bir TD-DFT çalışması sunuyoruz. Çalışma, enerji boşluğu (Δ), İyonlaşma potansiyeli (I), Elektron Afinitesi (A), Global Sertlik (η), Kimyasal Potansiyel (μ), Global Elektrofilitik (ω), Elektronejisite (ϵ) hesaplamak için HOMO-LUMO analizine genişletildi. Hesaplanan HOMO ve LUMO enerjisi, molekül içinde meydana gelen yük transferlerini ortaya çıkarır. Sonuçlar grafikler, tablolar ve şekiller ile gösterildi. Bileşiğin doğrusal olmayan özellikleri belirlendi. Ligand-protein etkileşimlerinin tam bağlanma bölgesini ve bağlanma mekanizmasını araştırmak için moleküler yerleştirme sağlandı.

Anahtar Kelimeler: Ftalonitril, TD-DFT, HOMO-LUMO, moleküler yerleştirme, ilaç tasarımı

Insilico Molecular Docking Studies of THBF Compound: TD-DFT Simulations and Drug Design

ABSTRACT: In this study, we present a detailed TD-DFT study based on the B3LYP / 6-311G (d, p) and electronic properties of geometric structures of 4 - ((2R, 3S) -2, 3, 4-trihydroxybutoxy) phthalonitrile. The study was expanded to HOMO-LUMO analysis to calculate energy gap (Δ), Ionization potential (I), Electron Affinity (A), Global Hardness (η), Chemical Potential (μ), Global Electrophilicity (ω), Electronegativity (ϵ). Calculated HOMO and LUMO energy reveal charge transfers that occur within the molecule. The results were shown with graphs, tables, and figures. Nonlinear properties of the compound have been determined. Molecular docking was achieved to probe the complete binding site and binding mechanism of the ligand-protein interactions.

Keywords: Phthalonitrile, TD-DFT, HOMO-LUMO, molecular docking, drug design

¹Ahmet Turan TEKEŞ ([Orcid ID: 0000-0002-9942-7367](https://orcid.org/0000-0002-9942-7367)), Ahmet Çağrı ATA ([Orcid ID: 0000-0002-2296-2265](https://orcid.org/0000-0002-2296-2265)), Aslıhan Aycan TANRIVERDİ ([Orcid ID: 0000-0001-5811-8253](https://orcid.org/0000-0001-5811-8253)), İsmail ÇAKMAK ([Orcid ID: 0000-0002-3191-7570](https://orcid.org/0000-0002-3191-7570)), Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kars, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Aslıhan Aycan TANRIVERDİ, e-mail: t.aslihanaycan@gmail.com

INTRODUCTION

As a group of compounds, phthalocyanines (Pc) have been used widely in basic research and have been widely employed in several sectors from industrial to technological fields. Information on different synthesis pathways and structures for phthalocyanines is well established (McKeown 1998; Zhang et al., 2010; George 2018; Ağırtaş et al., 2021). Over the past three decades, an increasingly strong correlation has emerged between PC features and applications (Leznoff et al., 1989; McKeown 1998; George 2018). Optical and light sensitivity properties (De La Torre et al., 2001; Isago 2015; Okura 2017), as well as paint and pigment grades (Gregory 2003), have always been at the forefront of PC research. Once the basics of synthesis and features were understood, new applications began to be explored, which could benefit from its extraordinary electronic properties and led to its use as materials and devices (Claessens et al., 2008). This led to the use of PCs in paint-sensitive solar cells (DSSC), which was recently extensively reviewed (Urbani et al., 2019). Recently, PCs have found applications in biological systems, especially photodynamic therapy (PDT) (Lo et al., 2020), nanobiotechnology and theranostics (Zafar et al., 2016).

We felt that an updated review of PCs was desirable in the field of new applications that have not yet been addressed. These areas include the use of PCs in chemical sensor technology, nonlinear optics (NLO), and energy storage applications. Many different studies have been conducted to theoretically investigate the electrical properties of the conjugate π system in phthalocyanine compounds (highest occupied molecular orbital (HOMO) and lowest unoccupied molecular orbital (LUMO), stimulation energies) (Zagal et al., 2010; Urbani et al., 2019; Cabir et al., 2020; Lo et al., 2020). Density functional theory (DFT) is known as the most widely used method, with results and rational phenomenon in modeling medium and large molecules (Yıldırım et al., 2021). However, HOMO and LUMO energies calculated by DFT and TD-DFT methods illuminate specific interactions as well as dielectric properties in the molecular system (CagriAta et al., 2021).

We felt that an updated review of PCs was desirable in the field of new applications that have not yet been addressed. These areas include the use of PCs in chemical sensor technology, nonlinear optics (NLO), and energy storage applications. Numerous studies have been carried out to theoretically examine the electronic structure of the conjugate π system of phthalocyanine composites (Zagal et al., 2010; Cabir et al., 2019; Urbani et al., 2019; Lo et al., 2020;). Density functional theory (DFT) appropriately represents the preferred approach for modeling medium and large molecules with emerging results (Güngördü Solğun et al., 2019; Solğun et al., 2020; Ağırtaş et al., 2020; Solğun et al., 2021). However, HOMO and LUMO energies calculated using DFT and TD-DFT methods demonstrate dielectric characteristics and specific interactions in a molecule. Molecular docking was performed binding mechanism of the ligand-protein interactions.

MATERIALS AND METHODS

Computer Calculations

The THBF molecule was first drawn in ChemBioDraw for TD-DFT calculations in the gaussian 09 program and minimized by SYBL2 (mol2) method with Chem3D program. Similarly, the drawn molecules were converted to 3D MOL2 files in Chem3D and transferred to GaussView 6.0. TD-DFT study was calculated on 6-311G basis set in B3LYP and LanL2DZ method and images of each calculation (Geometry optimization, HOMO and LUMO analysis, Mulliken atomic charges and MEP analysis) were taken. Molecular docking was provided to investigate the exact binding site and binding mechanism of ligand-protein interactions. Schrödinger's Maestro Molecular Modeling platform (version 11.8). The LLC model was applied in the molecular docking approach. High resolution (1.55-2.10 Å)

crystal structures of human glutathione S-transferase of subunit type 1 (hGSTA1-1) (PDB: 5JCU), human acetylcholinesterase (hAChE) (PDB: 6O4W) and butyrylcholinesterase (BChE) (PDB: 6SAM) enzymes were downloaded. All compounds were equipped as for that former studies with the Ligprep module. At the same time, all the water molecules in the crystalline structure were deleted individually. With this module, protein ion balance was regulated by designating the active site of the protein for flexible binding. Using the receptor grid module, grid boxes were created to let flexible docking by making grids on the protein's binding sites, as for that former studies (Wang et al., 2020). Ligand-protein docking studies were performed with the glide docking module. The highest binding energies and binding conformations between ligands and enzymes were estimated. The lowest energy positions show the highest binding affinities. The resulting receptor 3D interactions were visualized with Discovery Studio 2016 client (Visualizer 2005).

RESULTS AND DISCUSSION

TD-DFT Studies

Geometry optimization

THBF optimized basic structure and total energy conversion are given in Figure 1. The 6-311G (d, p) basis set of TD-DFT-B3LYP and the optimized bond length parameters of the molecule calculated with LanL2DZ are listed in Table 1. Two optimized methods of the THBF compound were compared. This means that the structure has minimal potential energy. All connective lengths and connective angles in phenyl rings are within the normal range. The bond distances for C-C for B3LYP are 1,392-1,544 Å and 1,401-1,532 Å for LanL2DZ, and the 1,414 to 1,443 Å C-O bond distances for these values belong to the oxygen atom between the two phenyl rings. The lengths of C-H in the aromatic ring are 1,078 - 1,080 Å. All C-C-C angles range from 112° to 122°. The C-C-H angle in the compound is 106° - 109°, C-C-O is 104° - 112°, and O-C-H is 110-112°. There are very small differences between the B3LYP and LanL2DZ values. Theoretically calculated values of some phthalonitrile compounds may give insight into the geometry of molecular changes.

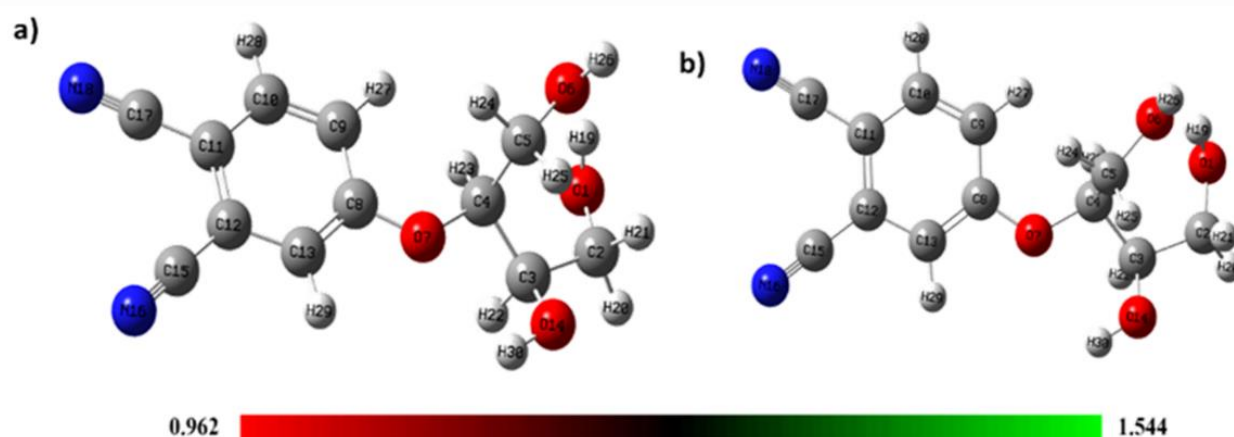


Figure 1. The structure of the THBF compound optimized using the TD-DFT method a) B3LYP/ 6-311G and b) LanL2DZ basis set.

Table 1. Theoretically obtained bond lengths (Å), connective angles (°), and dihedral angles (°) of the molecule

Bond lengths (Å)			Bond angles (°)		
Atomic Groups	B3LYP	LanL2DZ	Atomic Groups	B3LYP	LanL2DZ
O1-C2	1.414	1.443	O1-C2-C3	112.8	111.7
O1-H19	0.966	0.984	C2-O1-H19	106.1	108.6
C2-H21	1.095	1.097	O1-C2-H21	112.1	111.9
C2-H20	1.091	1.090	O1-C2-H20	107.8	106.8
C2-C3	1.538	1.535	C2-C3-C4	112.7	112.0
C3-O14	1.416	1.447	H21-C2-H20	107.7	108.4
C3-H22	1.097	1.098	C3-C2-H21	108.1	108.2
O14-H30	0.963	0.977	C3-C2-H20	107.9	109.3
C3-C4	1.544	1.532	C2-C3-O14	106.5	105.9
C4-H23	1.092	1.092	C3-C4-O14	111.1	111.1
C4-O7	1.443	1.471	C3-O14-H30	108.3	110.9
C4-C5	1.533	1.532	H22-C3-O14	110.8	110.7
C5-H24	1.095	1.095	H22-C3-C2	109.3	110.3
C5-H25	1.094	1.095	H22-C3-C4	106.1	107.1
C5-O6	1.429	1.458	C3-C4-C5	114.7	114.4
O6-H26	0.961	0.975	C3-C4-H23	109.0	109.6
C8-O7	1.349	1.363	C4-C5-O6	106.8	106.8
C8-C9	1.425	1.438	C5-C4-O7	108.2	108.4
C9-H27	1.078	1.080	C5-C4-H23	109.7	109.9
C9-C10	1.392	1.401	C4-C5-H24	108.7	109.7
C10-H28	1.082	1.084	C4-C5-H25	109.2	109.9
C10-C11	1.412	1.426	H24-C5-H25	109.3	109.9
C11-C12	1.459	1.455	C5-O6-H26	109.0	112.3
C12-C13	1.428	1.432	H25-C5-O6	112.0	111.3
C8-C13	1.405	1.414	H24-C5-O6	110.5	109.9
C13-H29	1.081	1.083	O7-C4-C3	104.4	104.4
C12-C15	1.394	1.408	O7-C4-H23	110.2	109.9
C15-N16	1.168	1.185	C4-O7-C8	122.5	122.6
C11-C17	1.407	1.419	O7-C8-C13	113.9	114.3
C17-N18	1.162	1.180	O7-C8-C9	123.0	122.7
Dihedral Angles (°)					
Atomic Groups	B3LYP	LanL2DZ	Atomic Groups	B3LYP	LanL2DZ
H19-O1-C2-C3	82.9	80.2	H22-C3-C4-C5	179.8	64.0
O1-C2-C3-H22	71.1	77.2	C2-C3-C4-H23	63.2	58.8
H20-C2-C3-O14	73.0	78.9	O14-C3-C4-C5	59.1	60.5
H21-C2-C3-C4	78.9	81.6	H22-C3-C4-O7	61.3	69.6

Frontier molecular orbitaller (HOMO – LUMO)

The main electrical parameters related to orbitals in a molecule are the highest occupied molecular orbital (HOMO) and the lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) and energy gaps. HOMO is the outermost (highest energy) orbital electrons that can function as an electron donor. LUMO is the innermost (lowest energy) orbit that has enough space to accept electrons and can function as an electron accept. HOMO and LUMO orbitals specify the interaction of the molecule with other types. The orbital representation of HOMO and LUMO for the density THBF molecule is shown in Figure 2. $E_{\text{HOMO}} - 7.1850 \text{ eV}$ - $E_{\text{LUMO}} - 2.6997 \text{ eV}$ for B3LYP method with TD-DFT method and $E_{\text{HOMO}} - 8.6599 \text{ eV}$ - $E_{\text{LUMO}} - 1.5723 \text{ eV}$ for LanL2DZ method were calculated. HOMO and LUMO orbitals regulate how the molecule interacts with other types. It also aids to characterize band space chemical reactivity and kinetic stability. A small boundary indicates the polarization, hardness, electronegativity, and other reactivity intakes of a molecule with an orbital gap. Table 2 shows the chemical reactivity indices.

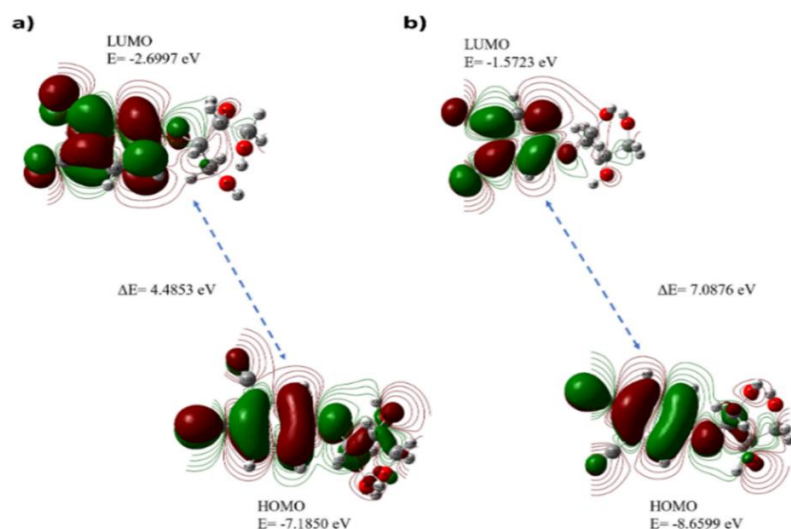


Figure 2. HOMO-LUMO energy maps and bandwidth using a) B3LYP and b) LanL2DZ basis set by TD-DFT method for THBF molecule

Table 2. Comparison of molecular properties related to HOMO-LUMO energy cavities (D) and THBF molecule (au)

Molecular Energy	B3LYP	LanL2DZ
E_{LUMO}	-2.6997	-1.5723
E_{HOMO}	-7.1850	-8.6599
E_{LUMO+1}	-1.8447	-0.6952
E_{HOMO-1}	-7.7075	-9.2174
Energy gaps (Δ) $ E_{HOMO} - E_{LUMO} $	4.4853	7.0876
Ionization Potential ($I = -E_{HOMO}$)	7.1850	8.6599
Electron affinity ($A = -E_{LUMO}$)	2.6997	1.5723
Chemical hardness ($\eta = (I - A)/2$)	2.2426	3.5438
Global Softness ($s = 1/2 \eta$)	1.1213	1.7719
Chemical potential ($\mu = -(I + A)/2$)	-4.9423	-5.1161
Electronegativity ($\chi = (I + A)/2$)	1.8498	1.2861
Global Electrophilicity ($\omega = \mu^2/2 \eta$)	5.4459	3.6929

Molecular electrostatic potential surface (MEPS)

Molecular electrostatic potential surface MEPS shows the shape size and electrostatic potential values of the molecule and are drawn for the phthalonitrile molecule. Molecular electrostatic potential (MEPS) mapping is very useful in investigating the physicochemical properties of molecular structure (Vanasundari et al., 2017). Some of the molecules with negative electrostatic potential are susceptible to electrophilic attack. The blue and red regions on the MEPS map answer to positive and negative potential regions and refer to electron-rich and electron-deficient regions respectively. The green color indicates neutral electrostatic potential.

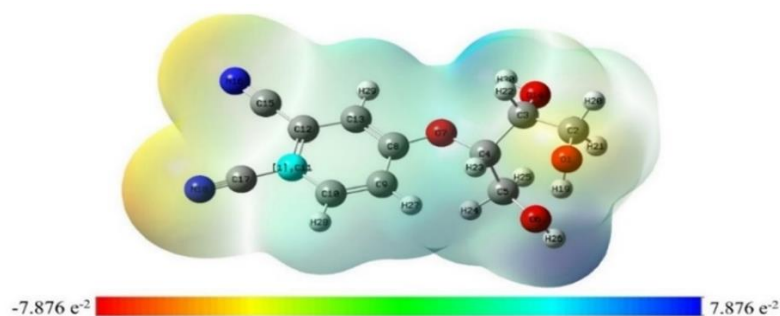


Figure 3. MEPS mapping of the THBF molecule

In this study molecular electrostatic potential (MEPS) maps were mapped for the THBF molecule, as displayed in Figure 3. In the case of phthalonitrile, the MEPS map shows the presence of negative potential regions around the nitrogen atoms which are characterized in red. A relatively larger region around the nitrogen atoms of the dibromo perylene molecule denotes the most negative potential region (dark red) and interaction is permitted. The hydrogen atom carries the maximum strength of the positive charge (dark blue). It shows an almost neutral potential as most of the aromatic ring region is represented by green.

Mulliken atomic charges

The calculation of mulliken atomic charges plays an important role in the application of quantum chemical calculations to the molecular system. Because atomic charges affect, molecular polarization, electronic structure and many features of molecular systems. The charge distribution indicates the formation of pairs of transmitters and receivers on the atom including charge transfer in the molecule. The mulliken atom was calculated in the basis set B3LYP / 6-311G (d, p) and LanL2DZ using the TD-DFT method. The data obtained are shown in Figure 4-5 and Table 3.

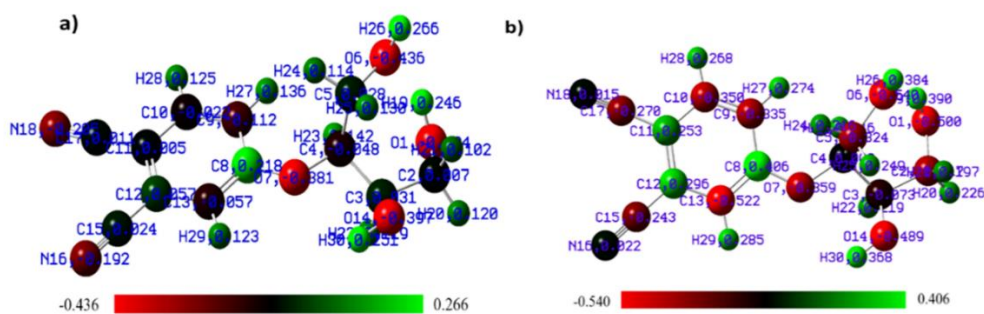


Figure 4. With the TD-DFT method of the THBF molecule a) B3LYP / 6-311G (d, p) and b) LanL2DZ basis set mulliken atomic charges

The distribution of the mulliken payload is that the oxygen atom attached to the aromatic ring is O1 (-0.403) - (-0.500). O6 (-0.435) - (-0.539). O7 (-0.381) - (-0.359). The charge value of the H atom connected to the aromatic ring has a positive charge. It was shown that while some C atoms were positive and some were negative.

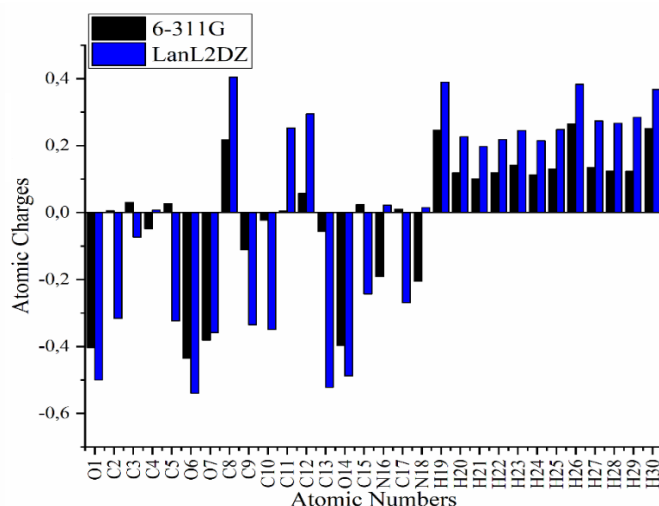


Figure 5. Comparison of mulliken atomic charges for the THBF molecule

Table 3. Mulliken atomic charges were calculated by the TD-DFT method with the basis set B3LYP / 6-311G (d, p) and LanL2DZ

Atoms	6-311G	LanL2DZ	Atoms	6-311G	LanL2DZ
O1	-0.403	-0.500	N16	-0.191	0.022
C2	0.006	-0.316	C17	0.010	-0.269
C3	0.031	-0.073	N18	-0.205	0.015
C4	-0.048	0.008	H19	0.246	0.390
C5	0.027	-0.323	H20	0.119	0.226
O6	-0.435	-0.539	H21	0.101	0.197
O7	-0.381	-0.359	H22	0.119	0.218
C8	0.217	0.405	H23	0.142	0.245
C9	-0.111	-0.335	H24	0.113	0.215
C10	-0.022	-0.349	H25	0.129	0.248
C11	0.005	0.253	H26	0.265	0.383
C12	0.057	0.295	H27	0.135	0.274
C13	-0.056	-0.522	H28	0.124	0.267
O14	-0.397	-0.488	H29	0.123	0.285
C15	0.024	-0.243	H30	0.251	0.368

NBO analysis

NBO analysis provides research on the most accurate Lewis structure of the molecule. the detailed electron density of all orbitals the NBO method is an assessment of full and empty orbital interactions that provide information about both inter-molecular and intermolecular interactions. In the NBO analysis of compound, a circumstantial Fock matrix was performed to evaluate transmitter-receiver interactions. The consequence of the interaction is a loss of occupancy from a localized NBO of the idealized Lewis structure to an empty non-Lewis orbit. For each transmitter (i) and receiver (j), the stabilization energy associated with the displacement of $i \rightarrow j$ is estimated as $E(2)$. NBO analysis was performed to explain charge transfer or charge displacement due to intra-molecular interaction between the bonds. These results are delocalization and hyperconjugation measurements. The analyzed results are given in Table 4. Intra-molecular interactions are observed as an increase in electron density (ED) in antibody orbitals that weaken the relevant bonds (C - O). The occupancy rate of E bonds is higher than σ^* ligaments which provides greater localization. The intra-molecular hyper conjugative interaction of the distribution to the electrons of the π (π (C8-C9) in the ring (C8-C9) leads to the stabilization of part of the ring as shown in

Table 4. π^* (C10-C11) and anti Ring * (C12-C13) lead to 25.61-18.56 kcal/mol stabilization. These values increased conjugation which led to strong localization.

Table 4. Selected NBO results for THBF molecule (TD-DFT) B3LYP / 6-311G (d, p) basis set)

NBO(i)	Type	ED/e	NBO(j)	Type	ED/e	E(2) ^a (Kcal/mol)	E (j)-E(i) ^b (a.u.)	F (i, j) ^c (a.u)
O1-C2	σ	1.99381	C3-O14	σ^*	0.04747	1.31	1.11	0.034
O1-H19	σ	1.98833	C2-H20	σ^*	0.02047	1.55	1.12	0.037
C2-C3	σ	1.97792	C3-C4	σ^*	0.04747	0.72	0.96	0.024
C2-H20	σ	1.98214	O1-H19	σ^*	0.01653	1.79	0.95	0.037
C2-H21	σ	1.98703	C3-O14	σ^*	0.01999	1.09	0.80	0.026
C3-C4	σ	1.97475	C5-H24	σ^*	0.02464	1.03	1.01	0.029
C3-O14	σ	1.99086	O1-C2	σ^*	0.00791	1.50	1.15	0.037
C3-H22	σ	1.97434	C2-H21	σ^*	0.02569	1.98	0.91	0.038
C4-O7	σ	1.98612	C2-C3	σ^*	0.03846	1.39	1.21	0.037
C4-H23	σ	1.97713	C3-O14	σ^*	0.01999	3.52	0.83	0.048
C5-O6	σ	1.99151	C4-O7	σ^*	0.03349	2.07	1.09	0.043
C5-H24	σ	1.98516	C3-C4	σ^*	0.04747	3.07	0.88	0.047
O6-H26	σ	1.98875	C4-C5	σ^*	0.03155	2.10	1.08	0.043
O7-C8	σ	1.99010	C12-C13	σ^*	0.02208	1.01	1.70	0.037
C8-C9	σ	1.97976	C8-C13	σ^*	0.02054	4.03	1.24	0.063
	π	1.59934	C10-C11	π^*	0.38304	25.61	0.28	0.076
			C12-C13	π^*	0.37067	18.56	0.27	0.064
C15-N16	σ	1.99344	C12-C15	σ^*	0.03019	10.02	1.58	0.113
C17-N18	σ	1.99390	C11-C17	σ^*	0.03091	9.28	1.57	0.108

Molecular Docking Studies

Molecular docking was achieved to probe the complete binding site and binding mechanism of the ligand-protein interactions. The Maestro Molecular Modeling platform (version 11.8) of the Schrödinger, LLC model was exerted in the molecular docking approach. High resolution (1.55-2.10 Å) crystal structures of human glutathione S-transferase of subunit type 1 (hGSTA1-1) (PDB: 5JCU), human acetylcholinesterase (hAChE) (PDB: 6O4W) and butyrylcholinesterase (BChE) (PDB: 6SAM) enzymes were downloaded (Wang et al., 2020). The molecular insertion method acts an important part in structure-basic drug design. It foresees the type of interaction and binding patterns between active site proteins and ligands as well as the interval and intimacy of the relevant functional groups. The option of the goal protein for docking withal the ligand is correlated to the binding energy value. The more negative the binding energy value of any species indicates, the better the ability to docking to target the protein. In this study, molecular docking analysis was achieved by ligand (Arivazhagan et al., 2021). Glucosinolate precursors in many eatable vegetables are effective in preventing cancer in chemically stimulated and transgenic gnawing models. Here, we record the crystal structures of the alpha class GST of subunit type 1 (hGSTA1) within a complex with the THBF plugin (Kumari et al., 2016). Structural studies of the catalytic subunit of acetylcholinesterase (AChE) developed after the amino acid sequence has been subtracted from cDNA cloning less than 20% of the AChE structures are therapeutically relevant human AChE (hAChE) target structures. With the help of Structure, design of new pharmacologically active molecule endures at least in part on the functionally topical accuracy of macromolecular structures for model basic drug design. In this article, we describe the development and properties of hAChE crystals of THBF and a new unit cell suitable for X-ray diffraction studies at room temperature. The succeeded solution of the room temperature 3.2 Å resolution structure of the hAChE complex enables us to examine the room temperature structures of fallen affinity complexes such as hAChE-dependent oxime reactivators. Where there may be conformational variation associated with

temperature. Under conditions approaching physiological temperature. awaited in both oxime and hAChE. it can lead to a more conscious structure-basic design (Gerlits et al., 2019). Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative brain sickness with amyloid b peptide (Ab) accumulations (amyloid plaques) and oxidative stress products that contribute to the pathogenesis of the disease. Compounds that can interact with a singlet or multi goals included in AD pathogenesis are probable anti-Alzheimer's agents. Neurodegeneration and synaptic dysfunction in AD staidly effect the cholinergic system and reason a reduce in the levels of the neurotransmitter acetylcholine (ACh) which then products memory lapse and cognitive impairment that is particular for patients with AD. Butyrylcholinesterase (BChE) is cholinesterase (ChE) that enders cholinergic neurotransmission by catalyzing the hydrolysis of ACh. Inhibition of ACh hydrolysis in the brain is used to raise ACh levels and hereby restore cognitive function and alleviate AD symptoms. In the study, we are investigating the interaction of THBF's BchE crystals in AD (Koçak et al., 2020).

In pursuit of electing the best pose in all ligand-enzyme docking. the binding modes were examined to comprehend their inhibition mechanisms. Fig. 6 shows the interaction of 3D and 2D as a result of the THBF-hGSTA1-1 docking study. The docking score in binding affinity with THBF-hGSTA1-1 was calculated as -6.690 cal/mol. Here the binding mechanism, ARG D:13 (1.92 Å). ILE D:106 (2.34 Å), LEU D:107 (3.02 Å) and GLY D:14 (2.27 Å) Conventional hydrogen bond bonded to the hydroxyl groups. LEU D:107 (4.59 Å) Pi-Alkyl bonded to the phenyl center. SER D:18 (2.35 Å) Conventional hydrogen bond bonded to the nitrile group. LEU D:163 (2.78 Å) Van der Waals bonded to the nitrile group is an example. In Fig. 7 3D and 2D interactions are given as a result of the THBF-hAChE docking study.

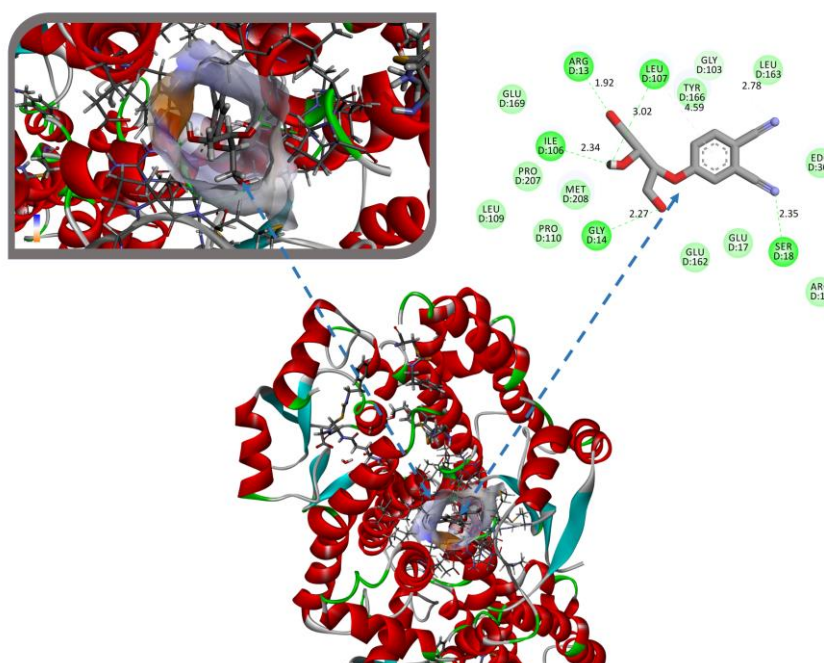


Figure 6. The interaction model between THBF – hGSTA1-1

The docking score in binding affinity with THBF-hAChE was calculated as -5.884 cal/mol. Here the binding mechanism. HOH A:729 (2.93 Å) Water hydrogen bond bonded to the hydroxyl group. TYR A:124 (2.32 Å). SER A:125 (2.85 Å). ASP A:74 (2.29 Å) and TYR A:337 (2.35 Å) Conventional hydrogen bond bonded to the hydroxyl groups. TRP A:86 (2.90 Å) Carbon hydrogen bond bonded to the hydroxyl group.

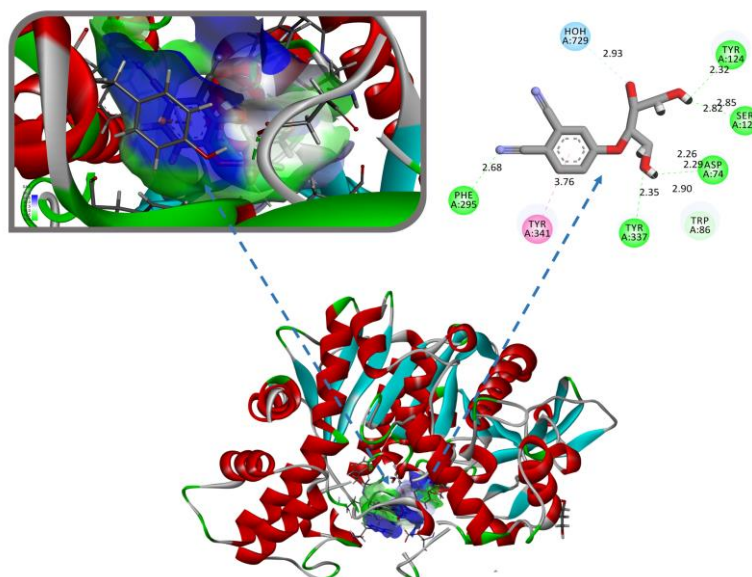


Figure 7. The interaction model between THBF – hAChE

TYR A:341 (3.76 Å) Pi-pi stacked bonded to the phenyl center. PHE A:295 (2.68 Å) Conventional hydrogen bond bonded to the nitrile group that are examples. The other interactions are in Figs. In Fig. 8 3D and 2D interactions are given as a result of the THBF-BChE docking study. The glide score in binding affinity with THBF-BChE was calculated as -4.834 cal/mol. Here the binding mechanism. ASP A:70 (2.05 Å) and HIS A:438 (2.13 Å) Conventional hydrogen bond bonded to the hydroxyl groups. SER A:198 (2.70 Å) and GLY A:117 (2.82 Å) Conventional hydrogen bond bonded to the hydroxyl groups bonded to the nitrile group that are examples. As a result of the research, the receptor molecules examined by molecular docking analysis were specified and it has emerged that THBF-hGSTA1-1 was more effective with the receptor binding score.

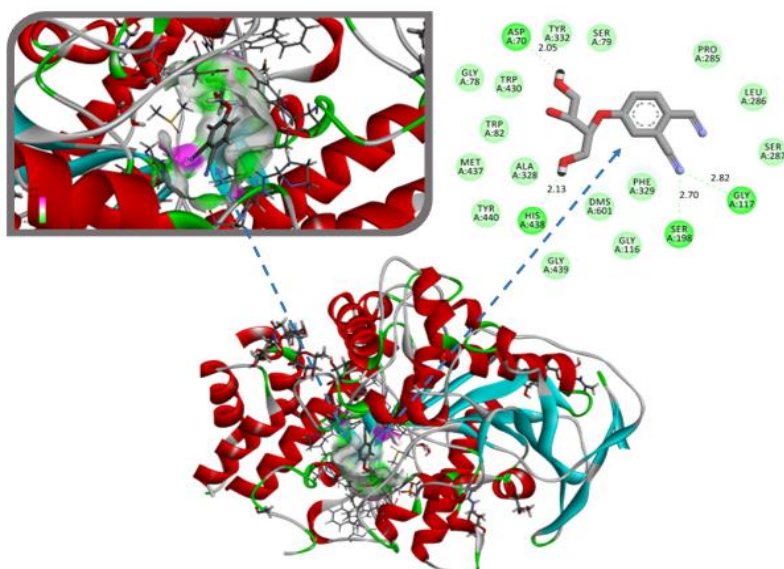


Figure 8. The interaction model between THBF – BChE

CONCLUSION

In this study, theoretical studies of 4 - ((2*R*, 3*S*) -2, 3, 4-trihydroxybutoxy) phthalonitrile compound were performed. Detailed research was carried out using quantum chemical calculations for the THBF molecule structural, electronic vibration frequencies of the compound were calculated by the TD-DFT

method with the basis set of B3LPY / 6-311G (d, p) and LanL2DZ. Structural parameters (bond lengths, bond angles and dihedral angles) were theoretically determined. Nonlinear optical properties were investigated. Finally, it was concluded that the compound examined could be used as a nonlinear optical (NLO) material as well as MEPS. HOMO-LUMO maps and Mulliken while visualized charges are visualized available as a good intermediate material for synthesis. Thus taking into account this data for future synthesis studies minimizing the chemical consumption of molecules to be synthesized in the future and making the necessary predictions will provide significant conveniences for the synthesis of molecules. As a result of molecular docking studies, the receptor molecules were examined and it has emerged that THBF-hGSTA1-1 was more effective with the receptor glide score.

ACKNOWLEDGEMENTS

For his support, Dr. We owe a great debt of gratitude to Ümit YILDIKO.

Conflict of Interest

We declare that there is no a conflict of interest with any person, institute, company, etc.

Author's Contributions

A.T.T., A.Ç.A, A.A.T., and İ.Ç. designed the study. A.T.T., A.Ç.A., A.A.T. performed the theoretical calculations. A.T.T., A.Ç.A, A.A.T., and İ.Ç. co-wrote the manuscript. All authors discussed the results and commented on the manuscript. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

REFERENCES

- Ağırtaş MS, Cabir B, Gonca S and Ozdemir S, 2021. Antioxidant, Antimicrobial, DNA Cleavage, Fluorescence Properties and Synthesis of 4-(3, 4, 5-Trimethoxybenzyloxy) Phenoxy) Substituted Zinc Phthalocyanine. Polycyclic Aromatic Compounds, 1-15.
- Ağırtaş MS, Solğun DG, Yildiko Ü, Özkartal A, 2020. Design of novel substituted phthalocyanines; synthesis and fluorescence, DFT, photovoltaic properties. Turkish Journal of Chemistry, 44 (6):1574-1586.
- Arivazhagan R, Sridevi C, Prakasam A, 2021. Exploring molecular structure, spectral features, electronic properties and molecular docking of a novel biologically active heterocyclic compound 4-phenylthiosemicarbazide. Journal of Molecular Structure, 1232: 129956.
- Cabir B, Yildiko U, Ağırtaş MS, 2019. Synthesis, DFT analysis, and electronic properties of new phthalocyanines bearing ETAE0 substituents on peripheral position. Journal of Coordination Chemistry, 72 (17):2997-3011.
- Cabir B, Yildiko U, Ağırtaş MS, Horoz S, 2020. Computational DFT calculations, photovoltaic properties and synthesis of (2R, 3S)-2, 3, 4-trihydroxybutoxy substituted phthalocyanines. Inorganic and Nano-Metal Chemistry, 50 (9):816-827.
- CagriAta A, Yildiko Ü, Cakmak İ, Tanriverdi AA, 2021. Synthesis and characterization of polyvinyl alcohol-g-polystyrene copolymers via MADIX polymerization technique. Iranian Polymer Journal. 10.1007/s13726-021-00940-x.
- Claessens CG, Hahn U and Torres T, 2008. Phthalocyanines: From outstanding electronic properties to emerging applications. The Chemical Record, 8 (2):75-97.
- De La Torre G, Nicolau M, Torres T, 2001. In Supramolecular photosensitive and electroactive materials. Elsevier, pp. 1-111.
- George L, 2018. Light-Activated Antimicrobial Materials Based on Perylene Imides and Phthalocyanines. <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-15-4159-9>.
- Gerlits O, Ho K-Y, Cheng X, Blumenthal D, Taylor P, Kovalevsky A, Radić Z, 2019. A new crystal form of human acetylcholinesterase for exploratory room-temperature crystallography studies. Chemico-Biological Interactions, 309: 108698.

- Gregory P, 2003. Metal complexes as speciality dyes and pigments.
- Güngördü Solğun D, Salihağırtaş M and Yildiko U, 2019. Synthesis and structural characterization of HMBOS; A comparative MP2 and DFT study.10.13140/RG.2.2.25747.22566.
- Isago H, 2015. Optical spectra of phthalocyanines and related compounds. Springer, pp. 21-40.
- Košak U, Strašek N, Knez D, Jukič M, Žakelj S, Zahirović A, Pišlar A, Brazzolotto X, Nachon F, Kos J, Gobec S, 2020. N-alkylpiperidine carbamates as potential anti-Alzheimer's agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 197: 112282.
- Kumari V, Dyba MA, Holland RJ, Liang Y-H, Singh SV, Ji X, 2016. Irreversible Inhibition of Glutathione S-Transferase by Phenethyl Isothiocyanate (PEITC), a Dietary Cancer Chemopreventive Phytochemical. *PLOS ONE*, 11 (9):e0163821.
- Leznoff C, Lever A, Properties and Applications, (VCH, New York, 1989).
- Lo P-C, Rodríguez-Morgade MS, Pandey RK, Ng DK, Torres T, Dumoulin F, 2020. The unique features and promises of phthalocyanines as advanced photosensitisers for photodynamic therapy of cancer. *Chemical Society Reviews*, 49 (4):1041-1056.
- McKeown NB, 1998. Phthalocyanine materials: synthesis, structure and function. Cambridge university press.
- Okura I, 2017. Photosensitization of porphyrins and phthalocyanines. CRC Press.
- Solğun D, Yıldiko Ü, Ağırtaş M, 2021. Synthesis, DFT calculations, photophysical, photochemical properties of peripherally metallophthalocyanines bearing (2-(benzo [d][1, 3] dioxol-5-ylmethoxy) phenoxy) substituents. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 1-19.
- Solğun DG, Keskin MS and Ağırtaş MS, 2020. DFT analysis and electronic properties, and synthesis of tetra (9-phenyl-9H-xanthen-9-yl) oxy peripheral-substituted zinc phthalocyanine. *Chemical Papers*, 1-13.
- Urbani M, de la Torre G, Nazeeruddin MK, Torres T, 2019. Phthalocyanines and porphyrinoid analogues as hole- and electron-transporting materials for perovskite solar cells. *Chemical Society Reviews*, 48 (10):2738-2766.
- Urbani M, Ragoussi M-E, Nazeeruddin MK, Torres T, 2019. Phthalocyanines for dye-sensitized solar cells. *Coordination Chemistry Reviews*, 381: 1-64.
- Vanasundari K, Balachandran V, Kavimani M and Narayana B, 2017. Spectroscopic investigation, vibrational assignments, Fukui functions, HOMO-LUMO, MEP and molecular docking evaluation of 4-[(3, 4-dichlorophenyl) amino] 2-methylidene 4-oxo butanoic acid by DFT method. *Journal of Molecular Structure*, 1147: 136-147.
- Wang G, Liu W, Gong Z, Huang Y, Li Y and Peng Z, 2020. Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of new chalcone derivatives containing diaryl ether moiety as potential anticancer agents and tubulin polymerization inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 95: 103565.
- Yildiko Ü, Ata AÇ, Tanrıverdi AA and Çakmak İ, 2021. Investigation of novel diethanolamine dithiocarbamate agent for RAFT polymerization: DFT computational study of the oligomer molecules. *Bulletin of Materials Science*, 44 (3):186.
- Zafar I, Arfan M, Nasir R, Shaikh A, 2016. Aluminum phthalocyanine derivatives: potential in antimicrobial PDT and photodiagnosis. *Austin Biomolecules: Open Access*, 1 (2):1-7.
- Zagal JH, Griveau S, Silva JF, Nyokong T, Bedioui F, 2010. Metallophthalocyanine-based molecular materials as catalysts for electrochemical reactions. *Coordination Chemistry Reviews*, 254 (23-24):2755-2791.
- Zhang Y, Cai X, Bian Y, Jiang J, 2010. Organic semiconductors of phthalocyanine compounds for field effect transistors (FETs). *Functional Phthalocyanine Molecular Materials*, 275-321.

Atf İçin: Başaran E, 2021. Bazı Aril Sülfonil Ester-Bazlı Heterosiklik Schiff Bazları: Sentez, Yapı Aydınlatma ve Antioksidan Aktivite. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2967-2978.

To Cite: Başaran E, 2021. Some Aryl Sulfonyl Ester-Based Heterocyclic Schiff Bases: Synthesis, Structure Elucidation and Antioxidant Activity. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2967-2978.

Some Aryl Sulfonyl Ester-Based Heterocyclic Schiff Bases: Synthesis, Structure Elucidation and Antioxidant Activity

Eyüp BAŞARAN^{1*}

ABSTRACT: In this research work, a series of heterocyclic Schiff base compounds bearing arylsulfonyl ester moiety (**2a-i**) were designed, synthesized, characterized by spectral techniques such as 1D NMR (¹H and ¹³C), 2D NMR (COSY and HMQC), and FT-IR; and then examined their antioxidant activity was by using four different methods as DPPH, ABTS, CUPRAC, and β -carotene-linoleic acid assays. According to the results obtained, it determined that all synthesized molecules had antioxidant activity. In the DPPH assay, it was found that compound **2e** (IC₅₀: 96.23±0.02 μ M/mL) demonstrated the antioxidant activity among all synthesized molecules. In ABTS assay, compounds **2e** (IC₅₀: 41.88±0.21 μ M/mL) and **2g** (IC₅₀: 50.75±0.32 μ M/mL) were determined to be the molecules with the activity, respectively. Compound **2e** (IC₅₀:73.49±0.00 μ M/mL) indicated the best antioxidant activity in the CUPRAC assay compared to other synthesized molecules. In the β -carotene-linoleic acid assay, compound **2e** (IC₅₀: 58.79±0.58 μ M/mL) displayed antioxidant activity than all other synthesized molecules. Compounds **2d** (IC₅₀: 74.17±0.22 μ M/mL) and **2g** (IC₅₀: 66.06±0.13 μ M/mL) indicated higher antioxidant activity than the remaining molecules in this series, except for compound **2e**. In conclusion, it is thought that this study will contribute to the ongoing studies on the design and synthesis of new antioxidant agents.

Keywords: Antioxidant activity, 4-Aminoantipyrine, Sulfonyl ester, Schiff base.

¹ Eyüp BAŞARAN ([Orcid ID: 0000-0002-7840-5919](https://orcid.org/0000-0002-7840-5919)) Department of Chemistry and Chemical Processing Technologies, Vocational School of Technical Sciences, Batman University, Batman, Turkey.

* **Corresponding Author:** Eyüp BAŞARAN, e-mail: eyup.basaran@batman.edu.tr

INTRODUCTION

Free radicals and reactive oxygen species (ROS) are both harmful and beneficial structures produced by cells during the normal vital activities of the body (Pham-Huy et al., 2008). The effects of oxidation on human health are known due to damaged cells, proteins, and DNA, contributing to aging. It may also play a role in developing a range of health conditions, including diabetes, cancer, and neurodegenerative diseases such as Alzheimer's (Sıcak et al., 2017). ROS can attack healthy cells, alter the cell structure or cause the cell to lose its ability to function (Uttara et al., 2009). Excessive production of reactive oxygen species leads to oxidative stress, which can cause fatal damage to living cell structures (Puskullu et al., 2016). When free radicals and/or ROS rate reaches uncontrollable levels, they can initially damage cell membranes and tissues, accordingly proteins, lipids, enzymes, and DNA (Sıcak et al., 2019). Antioxidants are used to neutralize free radicals. They play an essential role in stopping radical degradation and scavenging ROS (Sıcak et al., 2021a). When an antioxidant encounters an oxidisable substance, it can significantly retard or inhibit the oxidation of the substrate even at low concentrations (Baytop, 1984; Antolovich et al., 2002). Antioxidants play a significant role in the preventing and treating diverse chronic health problems such as cancer, cardiovascular, diabetes, inflammation, Alzheimer's, autoimmune, atherosclerosis, and stroke (Gutteridge, 1994; Karaaslan et al., 2013). The balance between the body's antioxidant systems and free radicals is essential in maintaining the health status of the organism (Suzen, 2007; Bozkurt et al., 2020). Therefore, there is a need to discover and develop more effective and potent radical scavenging antioxidant agents to prevent the harmful influences of free radicals in the human body (Sıcak et al., 2021b)

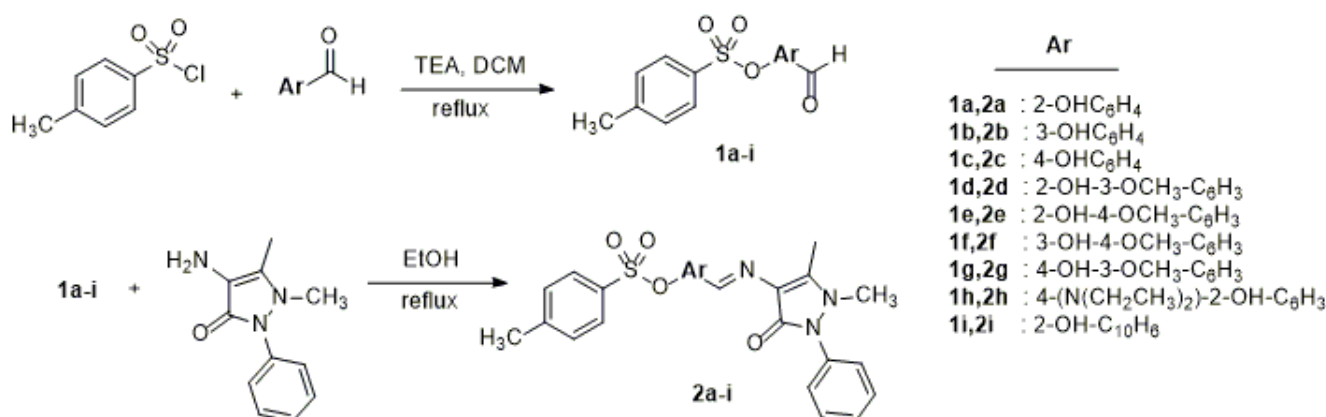
Heterocyclic Schiff base derivatives, synthesized by the condensation of aldehydes with heterocyclic amines, are among the significant compounds in medicinal chemistry (Hashem et al., 2021; Camadan et al., 2021; Orlova et al., 2021). In recent years, compounds of this type have attracted considerable attention due to their remarkable antifungal, antimicrobial, anti-viral, anti-cancer, anti-hyperlipidemic, anti-inflammatory, and antitumor activities (Şener et al., 2021; Lotlikar et al., 2021; Al-Rubaye et al., 2021; Srinivasan et al., 2021). Nowadays, medicinal chemists studying this subject are constantly synthesizing their novel derivatives and investigating their biological activities (Kavitha, 2021; Mohamed et al., 2021; Naureen et al., 2021)

Given the abovementioned findings, this study was carried out to contribute to the continuing researches to design and synthesis new and potent antioxidant agents. This research work's main goal was to synthesize heterocyclic Schiff base compounds containing 4-aminoantipyrine (4-AAP) and evaluate their antioxidant activity. Within the scope of the study, characterization studies of all synthesized target molecules were carried out with some spectroscopic methods.

MATERIALS AND METHODS

Materials

All chemicals required to synthesize antioxidant agents and biological activity assays in this research were procured from Merck, Sigma Aldrich companies. These chemicals purchased were employed without any further purification. Spectroscopic data of all synthesized molecules were recorded on the following instruments: FT-IR: Cary 630 FTIR spectrometer (Agilent Technologies, Inc., Danbury, CT) with the diamond ATR module at a scan range of 4000-400 cm^{-1} , ^1H - and ^{13}C - NMR (in CDCl_3 solutions): Bruker AVANCE III (Bruker, Germany) 400 MHz spectrometer using tetramethylsilane as the internal reference at 400 and 100 MHz, respectively. Melting points were determined by melting point apparatus (Barnstead IA9100 Electrothermal Digital Melting Points Apparatus, Staffordshire, Great Britain), and they are uncorrected.



Scheme 1. Synthetic pathway of targeted heterocyclic Schiff base compounds (**2a-i**)

Experimental Procedure

General procedure for synthesis of sulfonyl esters derivatives (**1a-i**)

The solution of a phenolic aldehyde (9.2 mmol) and triethylamine (18.4 mmol) in 20 mL of CH₂Cl₂ WAS stirred at room temperature (RT) for 1 h (Selvi et al., 2020). Then, the mixture was added dropwise 4-methylbenzenesulfonyl chloride (9.2 mmol) in 20 mL of CH₂Cl₂, and the resulting mixture was refluxed for 5 h. TLC was used for followed the progress of the reaction. Upon completing the reaction, the obtained solution was extracted two times with 2 M HCl. The organic phase obtained was dried over Na₂SO₄ and then filtered. Finally, the crude product acquired was crystallized from ethanol.

2-Formylphenyl 4-methylbenzenesulfonate (**1a**)

Off white solid, yield: 84%, m.p. 63-65 °C, lit.: m.p. 63-64°C (Freudenberg and Hess, 1926). FT-IR (ATR, cm⁻¹) ν_{\max} : 3077, 3038 (C-H_{arom}), 2952, 2930 (C-H_{aliph}), 2884, 2754 (C-H_{aldehyde}), 1688 (C=O_{aldehyde}), 1373 (SO₂_{antisym}), 1175 (SO₂_{sym}) (Figure S1). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 10.02 (s, 1H, H₁₂), 7.89 (dd, *J* = 7.6, 1.8 Hz, 1H, H₁₀), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₄), 7.60 (td, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H, H₈), 7.42 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, H₉), 7.36 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₃), 7.23 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H₇), 2.48 (s, 3H, H₁) (Figure S2).

3-Formylphenyl 4-methylbenzenesulfonate (**1b**)

White solid, yield: 84%, m.p. 68-70 °C, lit.: m.p. 64-66°C (Piller et al., 2009). FT-IR (ATR, cm⁻¹) ν_{\max} : 3072, 3038 (C-H_{arom}), 2978, 2922 (C-H_{aliph}), 2812, 2731 (C-H_{aldehyde}), 1698 (C=O_{aldehyde}), 1368 (SO₂_{antisym}), 1170 (SO₂_{sym}) (Figure S3). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 9.93 (s, 1H, H₁₂), 7.78 (t, *J* = 4.2 Hz, 1H, H₈), 7.72 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H₄), 7.50 (d, *J* = 12.6 Hz, 2H, H₃), 7.36 – 7.28 (m, 3H, H₇, H₉ and H₁₁), 2.46 (s, 3H, H₁) (Figure S4).

4-Formylphenyl 4-methylbenzenesulfonate (**1c**)

Off white, yield: 89%, m.p. 75-76 °C, lit.: m.p. 72-73°C (Collado et al., 2006). FT-IR (ATR, cm⁻¹) ν_{\max} : 3101, 3063 (C-H_{arom}), 2978, 2921 (C-H_{aliph}), 2821, 2729 (C-H_{aldehyde}), 1704 (C=O_{aldehyde}), 1368 (SO₂_{antisym}), 1145 (SO₂_{sym}) (Figure S5). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 9.99 (s, 1H, H₁₀), 7.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H₈), 7.74 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₄), 7.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H₃), 7.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₇), 2.48 (s, 3H, H₁) (Figure S6).

2-Formyl-6-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate (**1d**) (Nadler et al., 2015)

Light yellow solid, yield: 91%, m.p. 97-98 °C. FT-IR (ATR, cm⁻¹) ν_{\max} : 3095, 3027 (C-H_{arom}), 2977, 2938 (C-H_{aliph}), 2880, 2759 (C-H_{aldehyde}), 1691 (C=O_{aldehyde}), 1378 (SO₂_{antisym}), 1150 (SO₂_{sym}) (Figure S7). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 10.12 (s, 1H, H₁₃), 7.78 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₄), 7.52 – 7.48 (m, 1H, H₁₀), 7.38 – 7.32 (m, 3H, H₃ and H₉), 7.14 – 7.10 (m, 1H, H₇), 3.58 (s, 3H, H₁₂), 2.48 (s, 3H, H₁) (Figure S8).

2-Formyl-5-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate (1e) (Motherwell and Vázquez, 2000)

White solid, yield: 90%, m.p. 89-90 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3098, 3053 (C-H_{arom}), 2955, 2906 (C-H_{aliph}), 2850, 2781 (C-H_{aldehyde}), 1676 (C=O_{aldehyde}), 1597 (C=C_{arom}), 1366 (SO_{2antisym}), 1143 (SO_{2sym}) (Figure S9). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 9.80 (s, 1H, H₁₃), 7.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H₁₀), 7.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₄), 7.36 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₃), 6.93 – 6.89 (m, 1H, H₇), 6.78 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H₉), 3.86 (s, 3H, H₁₂), 2.47 (s, 3H, H₁) (Figure S10).

5-Formyl-2-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate (1f)

White solid, yield: 88%, m.p. 145-146 °C, lit.: 148-151 °C (Reddy et al., 2008). FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3089, 3067 (C-H_{arom}), 3014, 2940 (C-H_{aliph}), 2841, 2793 (C-H_{aldehyde}), 1684 (C=O_{aldehyde}), 1357 (SO_{2antisym}), 1176 (SO_{2sym}) (Figure S11). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 9.84 (s, 1H, H₁₃), 7.81 – 7.75 (m, 3H, H₄ and H₁₁), 7.64 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H₉), 7.34 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₃), 7.00 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H₈), 3.71 (s, 3H, H₁₂), 2.47 (s, 3H, H₁) (Figure S12).

4-Formyl-2-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate (1g)

Off white solid, yield: 89%, m.p. 126-128 °C, lit.: m.p. 126-128 °C (Reddy et al., 2010). FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3056, 3018 (C-H_{arom}), 2989, 2956 (C-H_{aliph}), 2818, 2774 (C-H_{aldehyde}), 1696 (C=O_{aldehyde}), 1359 (SO_{2antisym}), 1149 (SO_{2sym}) (Figure S13). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 9.94 (s, 1H, H₁₃), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₄), 7.45 (dd, $J = 8.4, 1.6$ Hz, 1H, H₈), 7.40 – 7.36 (m, 2H, H₇ and H₁₀), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₃), 3.65 (s, 3H, H₁₂), 2.47 (s, 3H, H₁) (Figure S14).

5-(Diethylamino)-2-formylphenyl 4-methylbenzenesulfonate (1h) (Liu et al., 2016)

Light brown solid, yield: 87%, m.p. 102-103 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3111, 3067 (C-H_{arom}), 2969, 2928 (C-H_{aliph}), 2866, 2772 (C-H_{aldehyde}), 1670 (C=O_{aldehyde}), 1367 (SO_{2antisym}), 1172 (SO_{2sym}) (Figure S15). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 9.62 (s, 1H, H₁₄), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₄), 7.69 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, H₁₀), 7.34 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₃), 6.56 (dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1H, H₉), 6.39 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H₇), 3.39 (q, $J = 7.2$ Hz, 4H, H₁₂), 2.46 (s, 3H, H₁), 1.19 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H, H₁₃) (Figure S16).

1-Formylnaphthalen-2-yl 4-methylbenzenesulfonate (1i) (Lei et al., 2015)

Off white solid, yield: 92%, m.p. 136-138 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3071, 3058 (C-H_{arom}), 2970, 2922 (C-H_{aliph}), 2877, 2775 (C-H_{aldehyde}), 1692 (C=O_{aldehyde}), 1369 (SO_{2antisym}), 1170 (SO_{2sym}) (Figure S17). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 10.41 (s, 1H, H₁₆), 9.16 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H₉), 8.07 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H₁₄), 7.88 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H₁₂), 7.75 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₄), 7.70 – 7.66 (m, 1H, H₁₀), 7.59 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H₁₁), 7.39 – 7.32 (m, 3H, H₃ and H₁₅), 2.47 (s, 3H, H₁) (Figure S18).

General procedure for synthesis of heterocyclic Schiff bases (2a-i)

The target molecules (**2a-i**) were easily obtained by refluxing an equimolar ethanolic solution of 4-aminoantipyrine (5 mmol), and the corresponding 4-methylbenzenesulfonyl ester derivatives (**1a-i**) (5 mmol) was refluxed for 1 h. Subsequently, the reaction medium was cooled to RT. The acquired crude product was quickly removed by filtration, rinsed with petroleum ether, and then crystallized from ethanol.

2-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)phenyl 4-methylbenzenesulfonate (2a)

Light yellow solid, yield: 80%, m.p. 216-217 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3060, 3034 (C-H_{arom}), 2963, 2926 (C-H_{aliph}), 1647 (C=O_{antipyrine}), 1589 (C=N_{imino}), 1368 (SO_{2antisym}), 1150 (SO_{2sym}) (Figure S19). ¹H NMR (CDCl₃, δ /ppm): 9.66 (s, 1H, H₁₂), 8.08 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H₁₀), 7.84 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₄), 7.53 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H₂₀), 7.45 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₁₉), 7.38 – 7.31 (m, 5H, H₃, H₈, H₉ and H₂₁), 7.21 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H₇), 3.17 (s, 3H, H₁₇), 2.46 (s, 3H, H₁), 2.34 (s, 3H, H₁₆) (Figure S20). ¹³C NMR (CDCl₃, δ /ppm): 160.38 (C₁₄), 152.50 (C₁₂), 150.72 (C₆), 148.74 (C₁₅), 145.00 (C₂), 134.96 (C₁₈), 132.06 (C₈), 131.28 (C₅), 130.81 (C₁₀), 129.70 (C₄), 129.26 (C₃), 129.02 (C₂₀), 127.01 (C₂₁), 126.95 (C₉), 126.88 (C₁₁), 124.31 (C₁₉), 123.56 (C₇), 118.74 (C₁₃), 35.89 (C₁₇), 21.66 (C₁), 10.06 (C₁₆) (Figure S21).

3-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)phenyl 4-methylbenzenesulfonate (2b) (Chen and Yu, 2006a)

Light yellow solid, yield: 77%, m.p. 155-156 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3069, 3042 (C-H_{arom}), 2997, 2921 (C-H_{aliph}), 1641 (C=O_{antipyrine}), 1575 (C=N_{imino}), 1357 (SO_{2antisym}), 1171 (SO_{2sym}) (Figure S22). ¹H NMR (CDCl₃, δ/ppm): 9.63 (s, 1H, H₁₂), 7.74 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₄), 7.70 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H₉), 7.52 – 7.48 (m, 3H, H₁₁ and H₂₀), 7.42 – 7.31 (m, 6H, H₃, H₈, H₁₉ and H₂₁), 7.03 (dd, $J = 8.0, 8.4$ Hz, 1H, H₇), 3.19 (s, 3H, H₁₇), 2.48 (s, 3H, H₁), 2.46 (s, 3H, H₁₆) (Figure S23). ¹³C NMR (CDCl₃, δ/ppm): 160.59 (C₁₄), 154.81 (C₁₂), 152.24 (C₆), 150.08 (C₁₅), 145.38 (C₂), 140.01 (C₁₈), 134.57 (C₁₀), 132.36 (C₅), 129.81 (C₄), 129.67 (C₈), 129.26 (C₃), 128.54 (C₂₀), 127.13 (C₂₁), 126.59 (C₇), 124.55 (C₁₉), 123.72 (C₉), 120.69 (C₁₁), 118.03 (C₁₃), 35.67 (C₁₆), 21.77 (C₁), 10.03 (C₁₇) (Figure S24).

4-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)phenyl 4-methylbenzenesulfonate (2c)

Light yellow solid, yield: 83%, m.p. 181-182 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3055, 3027 (C-H_{arom}), 2963, 2926 (C-H_{aliph}), 1638 (C=O_{antipyrine}), 1591 (C=N_{imino}), 1344 (SO_{2antisym}), 1194 (SO_{2sym}) (Figure S25). ¹H NMR (CDCl₃, δ/ppm): 9.71 (s, 1H, H₁₀), 7.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₈), 7.72 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₄), 7.50 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H₁₈), 7.41 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H₁₇), 7.36-7.31 (m, 3H, H₃ and H₁₉), 7.03 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₇), 3.18 (s, 3H, H₁₅), 2.49 (s, 3H, H₁), 2.46 (s, 3H, H₁₄) (Figure S26). ¹³C NMR (CDCl₃, δ/ppm): 160.66 (C₁₂), 155.20 (C₁₀), 152.09 (C₆), 150.77 (C₁₃), 145.44 (C₂), 136.87 (C₁₆), 134.67 (C₅), 132.30 (C₉), 129.79 (C₁₉), 129.23 (C₁₈), 128.83 (C₄), 128.55 (C₈), 127.06 (C₃), 124.51 (C₁₇), 122.50 (C₇), 118.28 (C₁₁), 35.72 (C₁₅), 21.71 (C₁), 10.04 (C₁₄) (Figure S27).

2-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)-6-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate (2d)

Light yellow solid, yield: 81%, m.p. 206-207 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3063, 3010 (C-H_{arom}), 2967, 2927 (C-H_{aliph}), 1649 (C=O_{antipyrine}), 1567 (C=N_{imino}), 1367 (SO_{2antisym}), 1143 (SO_{2sym}) (Figure S28). ¹H NMR (CDCl₃, δ/ppm): 9.59 (s, 1H, H₁₃), 7.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₄), 7.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H₁₀), 7.50 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H₂₁), 7.44 – 7.40 (m, 2H, H₂₀), 7.33 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, H₉), 7.27 – 7.23 (m, 3H, H₃ and H₂₂), 6.96 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H₈), 3.73 (s, 3H, H₁₂), 3.16 (s, 3H, H₁₈), 2.47 (s, 3H, H₁), 2.32 (s, 3H, H₁₇) (Figure S29). ¹³C NMR (CDCl₃, δ/ppm): 160.20 (C₁₅), 152.87 (C₁₃), 152.58 (C₇), 151.58 (C₆), 144.58 (C₂), 138.53 (C₁₆), 135.00 (C₁₉), 133.55 (C₅), 133.13 (C₁₀), 129.44 (C₄), 129.14 (C₃), 128.72 (C₂₀), 127.15 (C₂₁), 126.62 (C₉), 124.07 (C₂₂), 118.96 (C₈), 118.43 (C₁₄), 113.79 (C₁₁), 55.97 (C₁₂), 35.95 (C₁₈), 21.57 (C₁), 10.11 (C₁₇) (Figure S30).

2-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)-5-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate (2e)

Shiny yellow solid, yield: 84%, m.p. 186-187 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3043, 3015 (C-H_{arom}), 2986, 2921 (C-H_{aliph}), 1633 (C=O_{antipyrine}), 1592 (C=N_{imino}), 1343 (SO_{2antisym}), 1179 (SO_{2sym}) (Figure S31). ¹H NMR (CDCl₃, δ/ppm): 9.56 (s, 1H, H₁₂), 8.00 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, H₁₀), 7.85 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₄), 7.52 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H₂₁), 7.44 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H₂₀), 7.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, H, H₂₂), 7.21 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H₃), 6.87 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, H₇ and H₉), 3.83 (s, 3H, H₁₂), 3.13 (s, 3H, H₁₈), 2.43 (s, 3H, H₁), 2.32 (s, 3H, H₁₇) (Figure S32). ¹³C NMR (CDCl₃, δ/ppm): 161.68 (C₁₅), 160.52 (C₈), 152.15 (C₁₃), 150.42 (C₆), 149.73 (C₁₆), 145.16 (C₂), 135.06 (C₁₉), 131.85 (C₅), 129.74 (C₄), 129.21 (C₃), 129.03 (C₂₁), 127.76 (C₁₀), 126.71 (C₂₂), 124.17 (C₂₀), 123.96 (C₉), 118.84 (C₁₄), 114.04 (C₁₁), 108.21 (C₇), 55.69 (C₁₂), 36.00 (C₁₈), 21.65 (C₁), 10.04 (C₁₇) (Figure S33).

5-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)-2-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate (2f) (Chen and Yu, 2006b)

Yellow solid, yield: 78%, m.p. 199-200 °C. FT-IR (ATR, cm^{-1}) ν_{max} : 3063, 3012 (C-H_{arom}), 2980, 2930 (C-H_{aliph}), 1647 (C=O_{antipyrine}), 1594 (C=N_{imino}), 1370 (SO_{2antisym}), 1172 (SO_{2sym}) (Figure S34). ¹H NMR (CDCl₃, δ/ppm): 9.62 (s, 1H, H₁₃), 7.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H₄), 7.72 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, H₁₁), 7.61 (dd, $J = 8.4, 1.6$ Hz, 1H, H₉), 7.50 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H₂₁), 7.41 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H₂₀), 7.34 – 7.28 (m, 3H, H₃ and H₂₂), 6.88 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H₈), 3.64 (s, 3H, H₁₂), 3.17 (s, 3H, H₁₈), 2.47 (s, 3H, H₁), 2.46

(s, 3H, H₁₇) (Figure S35). ¹³C NMR (CDCl₃, δ/ppm): 160.83 (C₁₅), 154.94 (C₇), 153.36 (C₁₃), 151.93 (C₆), 144.99 (C₂), 138.85 (C₁₆), 134.75 (C₁₉), 133.31 (C₅), 131.41 (C₁₀), 129.40 (C₄), 129.20 (C₃), 128.64 (C₂₁), 128.46 (C₂₂), 126.92 (C₉), 124.38 (C₂₀), 121.93 (C₁₁), 118.43 (C₁₄), 112.22 (C₈), 55.74 (C₁₂), 35.85 (C₁₈), 21.71 (C₁), 10.05 (C₁₇) (Figure S36).

4-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)-2-methoxyphenyl 4-methylbenzenesulfonate (2g)

Light yellow solid, yield: 82%, m.p. 192-193 °C. FT-IR (ATR, cm⁻¹) ν_{max}: 3069, 3038 (C-H_{arom}), 2963, 2939 (C-H_{aliph}), 1639 (C=O_{antipyrine}), 1562 (C=N_{imino}), 1347 (SO_{2antisym}), 1172 (SO_{2sym}) (Figure S37). ¹H NMR (CDCl₃, δ/ppm): 9.69 (s, 1H, H₁₃), 7.76 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, H₂₁), 7.50 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H, H₄), 7.41 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H₂₀), 7.35-7.26 (m, 5H, H₃, H₈, H₁₀ and H₂₂), 7.20 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H₇), 3.63 (s, 3H, H₁₂), 3.19 (s, 3H, H₁₈), 2.50 (s, 3H, H₁), 2.46 (s, 3H, H₁₇) (Figure S38). ¹³C NMR (CDCl₃, δ/ppm): 160.66 (C₁₅), 155.68 (C₁₃), 151.99 (C₁₁), 151.93 (C₆), 145.05 (C₂), 139.71 (C₁₆), 137.77 (C₁₉), 134.62 (C₅), 133.10 (C₉), 129.36 (C₄), 129.25 (C₃), 128.69 (C₂₁), 127.07 (C₂₂), 124.47 (C₂₀), 124.01 (C₈), 120.86 (C₇), 118.30 (C₁₄), 110.53 (C₁₀), 55.53 (C₁₂), 35.77 (C₁₈), 21.70 (C₁), 10.15 (C₁₇) (Figure S39).

2-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)-5-(Diethylamino)-phenyl 4-methylbenzenesulfonate (2h)

Shiny yellow solid, yield: 80%, m.p. 159-160 °C. FT-IR (ATR, cm⁻¹) ν_{max}: 3086, 3063 (C-H_{arom}), 2964, 2926 (C-H_{aliph}), 1652 (C=O_{antipyrine}), 1585 (C=N_{imino}), 1366 (SO_{2antisym}), 1170 (SO_{2sym}) (Figure S40). ¹H NMR (CDCl₃, δ/ppm): 9.47 (s, 1H, H₁₄), 7.90-7.88 (m, 3H, H₄ and H₁₀), 7.53-7.45 (m, 4H, H₂₁ and H₂₂), 7.33 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, H₂₃), 7.21 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H₃), 6.57 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, H₉), 6.50 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, H₇), 3.37 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H, H₁₂), 3.09 (s, 3H, H₁₉), 2.42 (s, 3H, H₁), 2.32 (s, 3H, H₁₈), 1.18 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H, H₁₃) (Figure S41). ¹³C NMR (CDCl₃, δ/ppm): 160.89 (C₁₆), 151.85 (C₁₄), 151.41 (C₈), 150.66 (C₆), 150.02 (C₁₇), 144.76 (C₂), 135.35 (C₂₀), 132.38 (C₅), 129.63 (C₄), 129.12 (C₃), 129.02 (C₂₂), 127.97 (C₁₀), 126.37 (C₂₃), 123.86 (C₂₁), 119.84 (C₁₁), 117.77 (C₁₅), 110.24 (C₉), 105.23 (C₇), 44.66 (H₁₂), 36.35 (H₁₉), 21.63 (C₁), 12.55 (C₁₃), 10.14 (C₁₈) (Figure S42).

1-(((Antipyrine-4-yl)imino)methyl)naphthalen-2-yl 4-methylbenzenesulfonate (2i)

Light yellow solid, yield: 83%, m.p. 207-208 °C. FT-IR (ATR, cm⁻¹) ν_{max}: 3105, 3061, 3034 (C-H_{arom}), 2972, 2922 (C-H_{aliph}), 1647 (C=O_{antipyrine}), 1582 (C=N_{imino}), 1342 (SO_{2antisym}), 1163 (SO_{2sym}) (Figure S43). ¹H NMR (CDCl₃, δ/ppm): 10.03 (s, 1H, H₁₆), 9.05 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H₁₄), 7.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H₄), 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₂₄), 7.57-7.52 (m, 4H, H₉, H₁₀, H₁₁ and H₁₂), 7.50 – 7.44 (m, 3H, H₂₃ and H₂₅), 7.39 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H₁₅), 7.16 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H₃), 3.22 (s, 3H, H₂₁), 2.51 (s, 3H, H₁), 2.33 (s, 3H, H₂₀) (Figure S44). ¹³C NMR (CDCl₃, δ/ppm): 160.27 (C₁₈), 153.32 (C₁₆), 152.65 (C₆), 147.17 (C₁₉), 145.03 (C₂), 134.94 (C₅), 132.46 (C₁₄), 131.70 (C₈), 131.26 (C₁₃), 129.58 (C₄), 129.29 (C₂₄), 128.90 (C₂₃), 128.27 (C₃), 127.50 (C₁₂), 126.86 (C₁₀), 126.50 (C₂₂), 126.25 (C₁₁), 125.85 (C₉), 124.19 (C₂₅ and C₁₅), 121.92 (C₁₇), 119.22 (C₇), 35.93 (C₂₁), 21.68 (C₁), 10.25 (C₂₀) (Figure S45).

Antioxidant activity assays of all synthesized molecules

In the total antioxidant activity assay, the synthesized compounds were assessed by employing β-carotene-linoleic acid model assay system (Miller, 1971). Additionally, the free radical scavenging activity and cation radical scavenging activity was established by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Blois, 1958), and ABTS⁺ (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (Re et al., 1989) assay, respectively. The cupric-reducing antioxidant capacity was determined according to the method of Apak et al. (2004). DMSO was employed as negative control, while butylated hydroxy toluene (BHT) and butylated hydroxyl anisole (BHA) were utilized as positive controls.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemistry

This study consists of two parts. In the first part of the study, target molecules whose biological importance is examined were synthesized. Also, The corresponding Schiff base derivatives were obtained in good yields (77-84%). The reaction sequence of the formation of all synthesized 4-methylbenzenesulfonyl ester derivatives (**1a-i**) and heterocyclic Schiff base analogs from 4-AAP (**2a-i**) in the scope of this research is outlined in Scheme 1. In the first step, sulfonyl ester derivatives were prepared via the treatment of 4-methylbenzenesulfonyl chloride with some phenolic aldehydes in dichloromethane medium in the presence of trimethylamine (TEA). In the second step of the synthesis process, heterocyclic Schiff base compounds were acquired via condensation reaction of 4-aminoantipyrine with sulfonyl ester derivatives in ethanol medium. As a result, six of the synthesized Schiff bases are new (**2c-e** and **2g-i**), two are known (**2b** and **2f**), and one is commercial (**2a**). All synthesis reactions were refluxed for 1 h with a magnetic stirrer and monitored by thin-layer chromatography. In the second part of the study, the antioxidant activity of target molecules was examined in detail using methods known in the literature (Sıcak et al., 2019; Sıcak 2021). All molecules were characterized by employing spectroscopic techniques such as 1D NMR (^1H and ^{13}C), 2D NMR (COSY and HMQC for only **2c**), and FT-IR.

FT-IR spectra of all synthesized sulfonyl ester derivatives (**1a-i**) showed absorption peaks in the 1670-1704 cm^{-1} range, representing the presence of the C=O group of the aldehyde (-CHO) and aliphatic C-H stretching band signal (two weak) of -CHO group was observed at 2812-2884 cm^{-1} and 2729-2793 cm^{-1} , respectively (Collado et al., 2006; Reddy et al., 2010). Also, 3018-3111 cm^{-1} and 2906-3014 cm^{-1} determined in the range of weak absorption bands correspond aromatic and aliphatic C-H stretching vibrations, respectively. Besides, asymmetrical and symmetrical stretching bands of the SO_2 (S=O) were observed at 1357-1378 cm^{-1} and 1143-1176 cm^{-1} , respectively (Yadav et al., 2006; Piller et al., 2009). ^1H NMR spectra of all arylsulfonyl ester derivatives (**1a-i**) were established in CDCl_3 as solvent. In ^1H NMR spectra of **1a-i**, the proton peak signal of the -HC=O (**1a-b**;H₁₂, **1c**;H₁₀, **1d-g**;H₁₃, **1h**;H₁₄, **1i**;H₁₆) was determined as singlet peaks at 9.80-10.41 ppm (Collado et al., 2006; Yadav 2006; Reddy et al., 2010). The proton peak signals of protons in the aromatic rings were observed between 6.39 and 9.16 ppm (Collado et al., 2006). Furthermore, the tosyl group's methyl protons (-CH₃) (for all compounds-H₁) resonated as singlet peaks at 2.46-2.48 ppm (Collado et al., 2006; Yadav et al., 2006; Piller et al., 2009). These results of the structures of arylsulfonyl ester compounds (**1a-i**) were found to be compatible with the literature.

In FT-IR spectrum results for targeted heterocyclic Schiff base molecules (**2a-i**), the characteristic carbonyl group (C=O) on the antipyrine ring were defined around 1633-1652 cm^{-1} , and the imino group (-C=N-) molecular scaffold showing formation Schiff base of the stretching absorption bands are determined around 1562-1594 cm^{-1} (Shukla et al., 2010). Sulfonate ester moiety displayed S=O asymmetrical and symmetrical stretching vibrations representing the presence of SO_2 functional group in all synthesized compounds were observed around 1342-1370 cm^{-1} and 1143-1194 cm^{-1} , respectively (Selvi et al., 2020). ^1H NMR spectra of **2a-i** indicated a clear singlet for the imino (-N=CH-) proton (**1a-b**;H₁₂, **1c**;H₁₀, **1d-g**;H₁₃, **1h**;H₁₄, **1i**;H₁₆) at 9.62-9.63 ppm (Shukla et al., 2010; Selvi et al., 2020). Methyl protons -N-CH₃ in 1st position (**2a-b**;H₁₇, **2c**;H₁₅, **2d-g**;H₁₈, **2h**;H₁₉, **2i**;H₂₁) and =C-CH₃ in 5th position (**2a-b**;H₁₆, **2c**;H₁₄, **2d-g**;H₁₇, **2h**;H₁₈, **2i**;H₂₀) of the antipyrine ring were observed as singlet around 3.09-3.19 and 2.32-2.46 ppm, respectively, and each equivalent to three protons (Shukla et al., 2010; Tok et al., 2019). The protons of aromatic rings were resonated in the aromatic region between 6.50 and 9.05 ppm (Tok et al., 2019; Selvi et al., 2020). ^{13}C NMR spectra results of **2a-i** were detected to be suitable with the structures of the target molecules. The signals at 10.03-10.25 ppm and 35.67-36.35 ppm for **2a-i** were described to be methyl carbons (=C-CH₃) (**2a-b**;C₁₆, **2c**;C₁₄, **2d-g**;C₁₇, **2h**;C₁₈, **2i**;C₂₀) and (-

N-CH₃) (**2a-b**;C₁₇, **2c**;C₁₅, **2d-g**;C₁₈, **2h**;C₁₉, **2i**;C₂₁) on antipyrine ring, respectively (Shukla et al., 2010; Tok et al., 2019). The signals at 105.23–160.52 ppm for the compounds were identified to carbons of the aromatic rings. The signals at 160.20–161.68 ppm for synthesized target molecules were observed to C=O carbon (**2a-b**;C₁₄, **2c**;C₁₂, **2d-g**;C₁₅, **2h**;C₁₆, **2i**;C₁₈) of the antipyrine ring (Shukla et al., 2010; Tok et al., 2019). The signals at 151.85–155.68 ppm for the final molecules belonged to the imino - N=CH- carbon (**2a-b**;C₁₂, **2c**;C₁₀, **2d-g**;C₁₃, **2h**;C₁₄, **2i**;C₁₆), which supports the formation of the Schiff base (Tok et al., 2019; Selvi et al., 2020). The spectroscopic data obtained to elucidate the structures of heterocyclic Schiff bases (**2a-i**), which are the target compounds, were found to be compatible with the literature, and it was proven that the compounds were synthesized. Also, FT-IR, NMR (¹H, and ¹³C) spectra were given in the Supplementary Materials.

Three spin systems were observed in the COSY spectrum (H₃-H₄ and H₇-H₈) of compound **2c**, which was selected as a model molecule for the 2D NMR spectrum (Figure 1a).

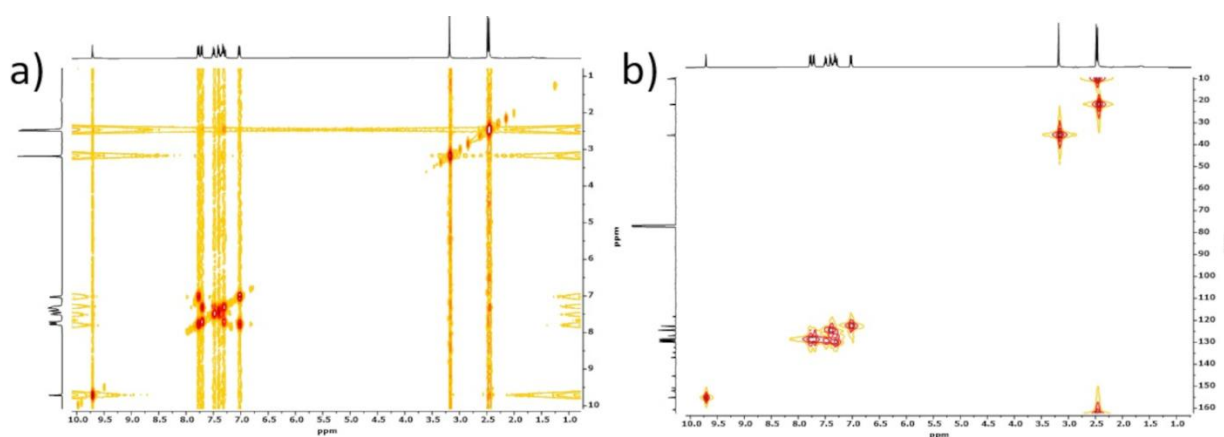


Figure 1. a) COSY spectrum of compound **2c**; b) HMQC spectrum of compound **2c**

The HMQC spectrum of compound **2c** displayed that H₁ was in correlation with C₁, and H₃ with C₃, H₄ with C₄, H₇ with C₇, H₈ with C₈, H₁₀ with C₁₀, H₁₄ with C₁₄, H₁₅ with C₁₅, H₁₇ with C₁₇, H₁₈ with C₁₈ and H₁₉ with C₁₉ (Figure 1b).

Antioxidant activity results

Understanding the relationship between free radicals and diseases has led to a significant increase in researchers' interest in antioxidants. In recent years, it has been seen in literature research that many studies have been conducted on obtaining antioxidants from natural sources or producing them synthetically. In this study, the antioxidant activity of sulfonyl ester (**1a-i**) and Schiff base (**2a-i**) derivatives at 50, 100, 200, and 400 μM concentrations were determined according to DPPH· and ABTS⁺, β-carotene-linoleic acid and CUPRAC assays. The antioxidant activity of synthesized molecules is given in Table 1.

When examined in Table 1, in general, it is seen that Schiff base (**2a-i**) derivatives exhibit better antioxidant activity than sulfonyl ester (**1a-i**) derivatives. In the β-carotene-linoleic acid assay, compound **2e** showed the highest antioxidant activity among the synthesized molecules. In the DPPH assay, all synthesized molecules showed lower antioxidant activity than the molecules used as reference. However, compound **2e** (IC₅₀: 96.23±0.02 μM/mL) demonstrated other molecules' highest antioxidant activity. In the ABTS assay, compounds **2e** (IC₅₀: 41.88±0.21 μM/mL) and **2g** (IC₅₀: 50.75±0.32 μM/mL) from the synthesized compounds were determined to be the molecules with the highest activity compared to others. In the CUPRAC assay, among the synthesized molecules, compounds **2e** (IC₅₀: 73.49±0.00 μM/mL), **1e** (IC₅₀: 82.17±0.01 μM/mL) and **2g** (IC₅₀: 82.69±0.01 μM/mL) indicated the highest antioxidant activity, respectively.

Table 1. Antioxidant activity results of synthesized compounds (1a-i) and (2a-i)^a

Compound	Antioxidant Activity			
	β -carotene-linoleic acid (IC ₅₀ μ M/mL)	DPPH activity (IC ₅₀ μ M/mL)	ABTS ⁺ activity (IC ₅₀ μ M/mL)	CUPRAC capacity (A _{0.5} μ M)
1a	111.31±0.63	162.54±0.71	94.12±0.29	129.44±0.03
1b	99.61±0.86	146.74±0.33	88.01±0.16	117.80±0.00
1c	118.46±0.31	180.17±0.52	100.61±0.27	136.28±0.02
1d	86.27±0.55	128.91±0.30	71.34±0.79	93.75±0.01
1e	77.15±0.80	114.41±0.76	61.26±0.40	82.17±0.01
1f	94.80±0.67	139.66±0.24	78.86±0.26	107.72±0.01
1g	81.56±0.19	119.28±0.42	67.89±0.35	89.34±0.04
1h	90.38±0.51	133.76±0.11	72.09±0.77	104.89±0.00
1i	94.80±0.67	139.66±0.24	78.86±0.26	107.72±0.01
2a	100.46±0.09	153.61±0.82	89.76±0.74	117.21±0.00
2b	96.17±0.69	142.18±0.23	85.68±0.50	112.15±0.03
2c	103.30±0.76	158.42±0.66	94.80±0.61	122.88±0.01
2d	74.17±0.22	124.64±0.31	64.45±0.38	91.37±0.00
2e	58.79±0.58	96.23±0.02	41.88±0.21	73.49±0.00
2f	91.67±0.62	139.91±0.75	80.37±0.84	109.25±0.01
2g	66.06±0.13	105.33±0.19	50.75±0.32	82.69±0.01
2h	81.34±0.06	130.08±0.77	70.36±0.44	99.41±0.03
2i	87.03±0.94	135.35±0.51	74.27±0.55	104.34±0.02
BHA ^b	1.34±0.04	19.40±0.47	4.10±0.06	35.71±0.02
BHT ^b	2.34±0.09	54.97±0.99	2.91±0.55	4.00±0.04

^aValues expressed are means \pm S.E.M. of three parallel measurements. $p < 0.05$, significantly different with student's *t*-test.

^bReference compounds: BHA: butylated hydroxyl anisole, BHT: butylated hydroxy toluene.

CONCLUSION

In this study, 4-aminoantipyrine based Schiff base derivatives have been prepared. The antioxidant activity of the molecules was widely investigated by using four different methods. The structures of molecules were elucidated by utilizing FT-IR, ¹H- and ¹³C- NMR, COSY, and HMQC. When study results were examined, it was determined that the molecules synthesized have antioxidant activity. It is thought that this study will shed light on the ongoing studies on the discovery of new antioxidant agents.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank Prof. Dr. Mehmet Öztürk for his help in determining the antioxidant activity and Lonemed Health Products Ltd. and its Director Erhan Atilla for supplying Laboratory Glassware.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest.

Author's Contributions

I hereby declare that the planning, execution and writing of the article was done by me as the sole author of the article.

REFERENCES

- Al-Rubaye BK, Al-Jeboori MJ, Potgieter H, 2021. Metal complexes of multidentate N₂S₂ heterocyclic Schiff-base ligands; formation, structural characterization and biological activity. In Journal of Physics: Conference Series (Vol. 1879, No. 2, p. 022074). IOP Publishing.
- Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K, 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127: 183-198.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 7970-7981.
- Baytop T, 1984. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi. Istanbul University, Pharmacy Faculty Publication No.40, Virtual Printing, 384.
- Blois MS, 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617): 1199-1200.
- Bozkurt E, Sıcak Y, Oruç-Emre EE, İyidoğan AK, Öztürk M, 2020. Design and bioevaluation of novel hydrazide-hydrazones derived from 4-acetyl-*N*-substituted benzenesulfonamide. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 46(5): 702-714.
- Camadan Y, Çiçek B, Adem Ş, Çalışır Ü, Akkemik E, 2021. Investigation of *in vitro* and *in silico* effects of some novel carbazole Schiff bases on human carbonic anhydrase isoforms I and II. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-10.
- Chen X, Yu M, 2006a. (*E*)-3-[(1,5-Dimethyl-3-oxo-2-phenyl-1*H*-pyrazol-4-ylimino) methylene] phenyl 4-methylbenzenesulfonate. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 62(12): 5525-5526.
- Chen X, Yu M, 2006b. (*E*)-5-(1,5-Dimethyl-3-oxo-2-phenyl-2, 3-dihydro-1*H*-pyrazol-4-yliminomethyl)-2-methoxyphenyl benzenesulfonate. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 62(10): 4592-4593.
- Collado D, Perez-Inestrosa E, Suau, R, Navarrete JTL, 2006. Regioselective hydroxylation of phenols by simultaneous photochemical generation of phenol cation-radical and hydroxyl radical. *Tetrahedron*, 62(12): 2927-2935.
- Freudenberg K, Hess H, 1926. Ein Verfahren zur Kennzeichnung verschiedenartiger Hydroxylgruppen. Seine Anwendung auf das Lignin. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 448(1): 121-133.
- Gutteridge JMC, 1994. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*, 91: 133-140.
- Harmandar K, Sağlam MF, Sengul IF, Ekineker G, Balcik-Ercin P, Göksel M, Atilla D, 2021. Novel triazole containing zinc (II) phthalocyanine Schiff bases: Determination of photophysical and photochemical properties for photodynamic cancer therapy. *Inorganica Chimica Acta*, 519: 120286.
- Hashem HE, Mohamed EA, Farag AA, Negm NA, Azmy EA, 2021. New heterocyclic Schiff base-metal complex: Synthesis, characterization, density functional theory study, and antimicrobial evaluation. *Applied Organometallic Chemistry*, e6322.
- Iacopetta D, Ceramella J, Catalano A, Saturnino C, Bonomo MG, Franchini C, Sinicropi MS, 2021. Schiff bases: interesting scaffolds with promising antitumoral properties. *Applied Sciences*, 11(4): 1877-1897.
- Karaaslan C, Kadri H, Coban T, Suzen S, Westwell AD, 2013. Synthesis and antioxidant properties of substituted 2-phenyl-1*H*-indoles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(9): 2671-2674.
- Kavitha K, 2021. Design, synthesis, characterization of antimicrobial activity of schiff bases of novel quinazolin-4-one derivatives. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14: 466-470.
- Lei X, Jalla A, Abou Shama MA, Stafford JM, Cao B, 2015. Chromatography-free and eco-friendly synthesis of aryl tosylates and mesylates. *Synthesis*, 47(17): 2578-2585.
- Liu B, Zhang C, Zhou X, 2016. Access to phthalazinones via palladium-catalyzed three-component cycloamino-carbonylation of 2-formylaryl tosylates, hydrazines and CO. *Tetrahedron*, 72(50): 8282-8286.

- Lotlikar OA, Dandekar SN, Ramana MMV, Ratho SV, 2021. Synthesis, molecular docking, *in vitro* anti-bacterial, and anti-cancer activities of some novel oxo-spiro chromene Schiff's bases. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 47(1): 199-207.
- Messasma Z, Aggoun D, Houchi S, Ourari A, Ouennoughi Y, Keffous F, Mahdadi R, 2021. Biological activities, DFT calculations and docking of imines tetradentates ligands, derived from salicylaldehydic compounds as metallo-beta-lactamase inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 1228: 129463.
- Miller HE, 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 48(2): 91-91.
- Mohamed M, Abdelakder H, Abdellah B 2021. Microwave assisted synthesis of 4-aminophenol Schiff bases: DFT computations, QSAR/Drug-likeness proprieties and antibacterial screening. *Journal of Molecular Structure*, 130666.
- Morsy NM, Hassan AS, Hafez TS., Mahran MR., Sadawe IA, Gbaj AM, 2021. Synthesis, antitumor activity, enzyme assay, DNA binding and molecular docking of Bis-Schiff bases of pyrazoles. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 18(1): 47-59.
- Motherwell WB, Vázquez S 2000. A concise approach to the preparation of 2-hydroxydiarylketones by an intramolecular acyl radical ipso substitution. *Tetrahedron Letters*, 41: 9667-9671.
- Nadler C, Nadler A, Hansen C, Diederichsen U, 2015. A photocleavable auxiliary for extended native chemical ligation. *European Journal of Organic Chemistry*, 2015: 3095-3102.
- Naureen B, Miana GA, Shahid K, Asghar M, Tanveer S, Sarwar A, 2021. Iron (III) and Zinc (II) monodentate Schiff base metal complexes: Synthesis, characterisation and biological activities. *Journal of Molecular Structure*, 1231: 129946.
- Orlova N, Nikolajeva I, Pučkins A, Belyakov S, Kirilova E, 2021. Heterocyclic Schiff bases of 3-aminobenzanthrone and their reduced analogues: Synthesis, properties and spectroscopy. *Molecules*, 26(9): 2570.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C, 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4: 89-96.
- Piller FM, Metzger A, Schade MA, Haag BA, Gavryushin A, Knochel P, 2009. Preparation of polyfunctional arylmagnesium, arylzinc, and benzylic zinc reagents by using magnesium in the presence of LiCl. *Chemistry—A European Journal*, 15: 192-7202.
- Puskullu MO, Shirinzadeh H, Nenni M, Gurer-Orhan H, Suzen S, 2016. Synthesis and evaluation of antioxidant activity of new quinoline-2-carbaldehyde hydrazone derivatives: bioisosteric melatonin analogues. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31: 121-125.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C, 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Reddy CR, Rao NN, Srikanth B, 2010. Total synthesis of a diarylheptanoid, Rhoiptelol B. *European Journal of Organic Chemistry*, 2010: 345-351.
- Reddy MR, Mallireddigari MR, Cosenza SC, Pallela VR, Iqbal NM, Robell KA, Kang DA, Reddy EP, 2008. Design, synthesis, and biological evaluation of (E)-styrylbenzylsulfones as novel anticancer agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(1): 86-100.
- Selvi G, Özdemir FA, Aykutoglu G, Özdemir N, Şerbetçi , Cetinkaya B, Dayan O, 2020. A neutral arene ruthenium (II) complex with a sulfonated N, O-chelating ligand: Synthesis, characterization, *in vitro* cytotoxicity and antibacterial activity. *Polyhedron*, 176: 114300.
- Şener N, Özkinalı S, Altunoglu YC, Yerlikaya S, Gökçe H, Zurnaci M, Gür M, Cengiz M, Baloglu C, Şener İ, 2021. Antiproliferative properties and structural analysis of newly synthesized Schiff bases bearing pyrazole derivatives and molecular docking studies. *Journal of Molecular Structure*, 1241: 130520.
- Shukla SN, Gaur, P, Prasad M, Agarwal K, Kaur H, Setua DK, Mehmotra R, Prasad M, Srivastava, RS, 2010. Synthesis, spectroscopic characterization and antibacterial activity of some chlorosulphoxide Ruthenium (II) and Ruthenium (III) complexes of 4-(benzylideneamino)-1,2-dimethyl-2-phenyl-1,2-dihydropyrazole-3-one, Schiff base. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 55:159-165.

- Sıcak Y, 2021b. Design and antiproliferative and antioxidant activities of furan-based thiosemicarbazides and 1,2,4-triazoles: their structure-activity relationship and SwissADME predictions. *Medicinal Chemistry Research*, 30(8): 1557-1568.
- Sıcak Y, Büyüksakallı H, Malkoçoğlu S, Özler MA, Öztürk M, 2017. Antioxidant, anticholinesterase inhibitory and tyrosinase inhibitory activities of *Iris xanthospuria* extracts growing in Köyceğiz region. *Journal of Ongoing Chemical Research*, 3(1): 22-31.
- Sıcak Y, Oruç-Emre EE, Öztürk M, Taşkın-Tok T, Karaküçük-Iyidoğan A, 2019. Novel fluorine-containing chiral hydrazide-hydrazones: Design, synthesis, structural elucidation, antioxidant and anticholinesterase activity, and *in silico* studies. *Chirality*, 31(8): 603-615.
- Sıcak Y, Şahin-Yağlıoğlu A, Öztürk M, 2021a. Bioactivities and phenolic constituents relationship of Muğla thyme and pine honey of Turkey with the chemometric approach. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15: 3694-3707.
- Srinivasan V, Khamrang T, Ponraj C, Saravanan D, Yamini R, Bera S, Jhonsi MA, 2021. Pyrene based Schiff bases: Synthesis, crystal structure, antibacterial and BSA binding studies. *Journal of Molecular Structure*, 1225: 129153.
- Sumrra SH, Zafar W, Asghar ML, Mushtaq F, Raza MA, Nazar MF, Nadeem MA, Imran M, Mumtaz S, 2021. Computational investigation of molecular structures, spectroscopic properties, cholinesterase inhibition and antibacterial activities of triazole Schiff bases endowed metal chelates. *Journal of Molecular Structure*, 1238: 130382.
- Suzen S, 2007. *Heterocyclic Chemistry, Bioactive Heterocycles*, Khan MTH, Ed., Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Tok F, Koçyiğit-Kaymakçioğlu B, Sağlık BN, Levent S, Özkay Y, Kaplancıklı ZA, 2019. Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone Schiff bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 84: 41-50.
- Tokalı FS, Taslimi P, Usanmaz H, Karaman M, Şendil K, 2021. Synthesis, characterization, biological activity and molecular docking studies of novel schiff bases derived from thiosemicarbazide: Biochemical and computational approach. *Journal of Molecular Structure*, 1231: 129666.
- Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT, 2009. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology*, 27: 65-74.
- Yadav JS, Pandurangam T, Reddy VB, Reddy BS, 2010. Total Synthesis of Rhoiptelol B. *Synthesis*, 2010: 4300-4306.

Atf İçin: Aytac S, 2021. Schiff Bazı Bileşiklerinin Çevreci Bir Yöntemle Yeniden Sentezi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2979-2991.

To Cite: Aytac S, 2021. Re-synthesis of Schiff Base Compounds by an Environmental Method. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2979-2991.

Schiff Bazı Bileşiklerinin Çevreci Bir Yöntemle Yeniden Sentezi

Sertan AYTAÇ^{1*}

ÖZET: Son zamanlarda mikrodalga yöntemi kimyasal tepkimelerde hızı ve verimi artırmak için etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Mikrodalga yöntemiyle katalizör ve çözücü olmadan da tepkimelerin gerçekleştiği bilinmektedir. Bu çalışmada literatürde daha önceden sentezi gerçekleştirilmiş olan ve biyoaktif potansiyele sahip olduğu düşünülen Schiff bazı bileşiklerinin mikrodalga (MD) yöntemiyle katalizör ve çözücü kullanılmadan çevreci bir yaklaşımla yeniden sentezleri gerçekleştirildi. Çalışmada 4-metil benzaldehit ve farklı aril amin bileşikleri kullanılarak farklı Schiff bazı bileşikleri kısa sürede ve yüksek verimle elde edildi. Bileşiklerinin yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR, FT-IR ve elementel analiz yöntemleri kullanılarak tanımlandı.

Anahtar Kelimeler: Schiff bazı, metanimin, mikrodalga, yeşil kimya, biyoaktivite

Re-synthesis of Schiff Base Compounds by an Environmental Method

ABSTRACT: Recently, microwave method has been used as an effective method to increase the rate and efficiency of chemical reactions. It is known that reactions take place without a catalyst and solvent with the microwave (MW) method. In this study, Schiff base compounds, which were previously synthesized in the literature and thought to have bioactive potential, were re-synthesized by microwave method without using catalysts and solvents, with an environmentally friendly approach. In the study, by using 4-methyl benzaldehyde and different aryl amine compounds, different Schiff base compounds were obtained in a short time and with high yield. The structures of the compounds were identified using ¹H NMR, ¹³C NMR, FT-IR and elemental analysis methods.

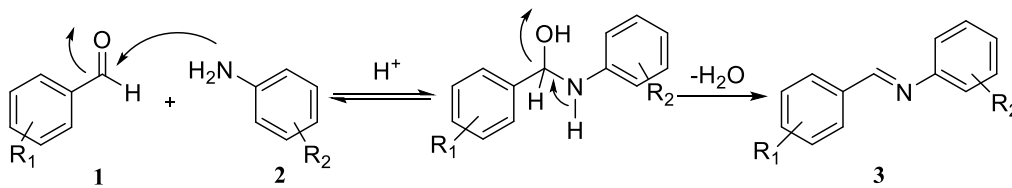
Keywords: Schiff base, methanimine, microwave, green chemistry, bioactivity

¹ Sertan AYTAÇ ([Orcid ID: 0000-0002-3196-4545](https://orcid.org/0000-0002-3196-4545)), Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Kaman MYO, Gıda İşleme Bölümü, Kırşehir, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Sertan AYTAÇ, e-mail: saytac@ahievran.edu.tr

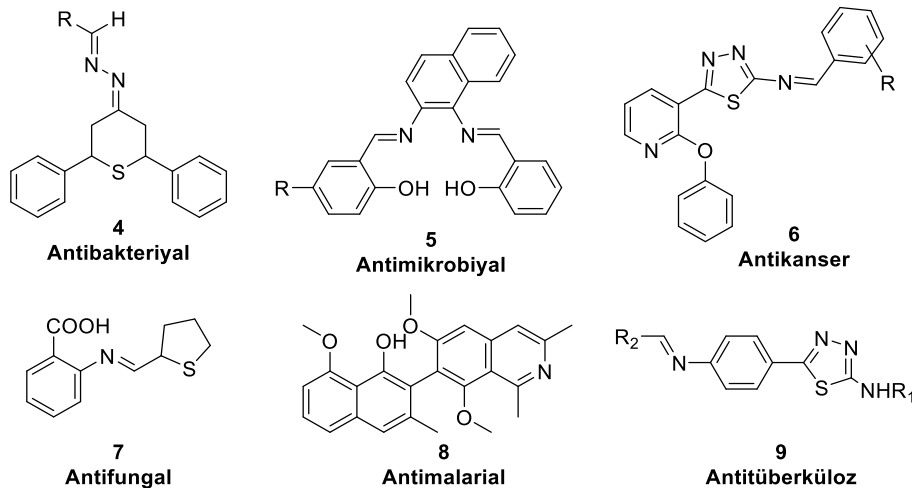
GİRİŞ

Schiff bazları ilk olarak 1864 yılında Hugo Schiff tarafından sentezlenmiş olup (Taşkın ve ark., 2012) bu bileşiklere imin, azometin, aldimin, ketimin gibi isimler de verilmektedir (Duman, 2007). Genel formülü $R_1CH=NR_2$ şeklinde olan Schiff bazları, aldehit veya ketonların birincil aminler ile kondenzasyonu sonucu oluşan çok yönlü bileşiklerin genel ifadesidir (Baran, 2009; Ak, 2016). Çeşitli karbonil (**1**) ve amin (**2**) bileşikleri mevcut olup farklı türevlerde yeni Schiff bazlarının (**3**) sentezi mümkündür (Feriçok ve Koç, 2019). Bu bileşiklerin sentezlerinde farklı tepkime şartları uygulanabilir. Genellikle organik çözücüler (metanol, etanol vb) kullanılarak asidik koşullardaki ısıl işlemlerle elde edilirler (Cozzi, 2004). Tepkimede çıkan suyu uzaklaştırmak için Dean-Stark aparatı veya $MgSO_4$ gibi nem çekici maddeler kullanılarak tepkimenin ileri yönde verimi artırılabilir. Schiff bazlarının asidik ortamda genel sentez mekanizması Şema 1'de verilmiştir (Patil ve ark., 2012).



Şema 1. Schiff bazlarının asit katalizli sentez mekanizması.

Schiff bazları endüstride kullanılan organik ara ürünlerden olup (Macho ve ark., 2004) bunların hazırlanma kolaylığı, yapısal çeşitlilikleri, çok yönlü sentezleri ve iyi çözünmesi gibi avantajları vardır (Zengin Kurt, 2018). Bundan dolayı tekstil boyalarının, polimerik malzemelerin, kozmetik malzemelerin ve ilaçların üretiminde, elektronik endüstrisi ve sıvı kristal teknolojisi gibi birçok alanda uygulama imkanı bulmuştur (Birbiçer, 1998; Bal, 2010). Bunların dışında Schiff bazları antibakteriyel, antifungal, antimalaryal, antitüberküloz, antiviral, antiinflamatuvar ve antipiretik gibi birçok biyoaktif özelliğe sahiptirler (Ömerustaoğlu, 2017). Örneğin, yapısında tiyopiran halkası bulunan **4** numaralı bileşiğin antibakteriyel (Jayabharathi ve ark., 2007), asimetrik bir yapıya sahip olan **5** numaralı bileşiğin antimikrobiyal (Nartop ve Öğütçü, 2020), tiyodiazol halkası içeren **6** numaralı bileşiğin antikanser (Vinayak ve Kumar, 2014), **7** numaralı tetrahidrotiyofen türevi bileşiğin antifungal (Sakthinathan ve ark., 2013), **8** nolu naftalen türevi bileşiğin antimalaryal (Murtaza ve ark., 2014) ve tiyodiazol türevi **9** numaralı bileşiğin ise antitüberküloz (Türk ve ark., 2020) etki gösterdikleri bildirilmiştir (Şema 2).

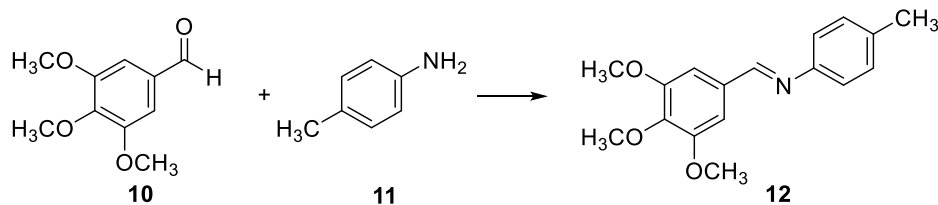


Şema 2. Bazı biyolojik aktiviteye sahip Schiff bazı bileşikleri

Birçok organik sentez yönteminde toksik nitelikli organik çözücüler kullanılmaktadır. Bu tür çözücülerin bilimsel araştırmaların maliyetini artırmasının yanı sıra özellikle insan sağlığı ve çevre kirliliği üzerine olumsuz etkilerinin olduğu da bilinmektedir (Sögüt ve Çelebi, 2020). Bundan dolayı kimyasal tepkimelerde kullanılan çözücü miktarını azaltmak veya çözücü içermeyen tepkimelerin tasarımı son zamanlarda pek çok araştırmacının ilgisini çekmektedir (Zangade ve Patil, 2019). Çözücü içermeyen tepkimeler genellikle daha kolay ve ucuzdur, ayrıca daha temiz bir çevre için de önemli avantajlar sağlamaktadır. Kimyasal sentezlerin bu şekilde yapıldığı işlemlere “yeşil kimya” denir. İnsan sağlığına zararlı maddelerin kullanımını ve üretimini azaltan veya ortadan kaldıran kimyasal ürünlerin ve işlemlerin tasarımını ifade eden “yeşil kimya” terimi dünya çapında kullanılır hale gelmiştir (Grewal ve ark., 2013).

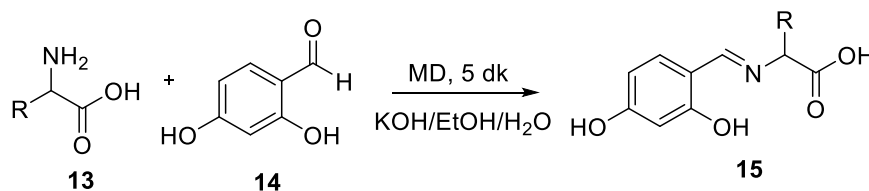
Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde çözücü kullanılmadan gerçekleştirilen tepkime yöntemlerinden biri mikrodalga sentez yöntemidir. Bu yöntem, tepkimeleri hızlandırmasının yanı sıra tepkime verimini de artırarak daha yüksek saflıkta ürün eldesini sağlamaktadır. Ayrıca daha düşük enerji kullanımıyla daha temiz ve çevreci sentez yollarının geliştirilmesine yardımcı olmaktadır (Grewal ve ark, 2013; Yılmaz, 2015). Mikrodalga enerjisi ilk olarak 1986 yılında toprak, tohum, gıda ve yemden organik çözücüler yardımıyla çeşitli bileşikler özütmek için Ganzler ve arkadaşları tarafından uygulanmış ve aynı yıl Gedye ve arkadaşları organik sentezlerde kullanmışlardır. Mikrodalga enerjisinin hızlandırma etkisi kısa sürede fark edilmiş ve başta kimya olmak üzere gıda, çevre ve biyoloji gibi alanlarda çeşitli uygulamalar geliştirilmiştir (Dai, 2006).

2006 yılında Yang ve Sun, Schiff bazlarının sentez metotları ile verimleri arasındaki ilişkiyi incelemek için bir çalışma yapmıştır. Çalışmada 3,4,5-trimetoksibenzaldehit (**10**) ve *p*-toluidin (**11**) kullanılarak (*E*)-4-metil-*N*-(3,4,5-trimetoksibenziliden)benzenamin (**12**) sentezlenmiştir. Sentez işlemi oda koşullarında (4 saatte %75 verim), refluks edilerek (7 saatten daha fazla bir sürede %72 verim) ve mikrodalga tekniği (4 dakikada %85 verim) ile olmak üzere 3 farklı şekilde gerçekleştirilmiştir (Yang ve Sun, 2006) (Şema 3).



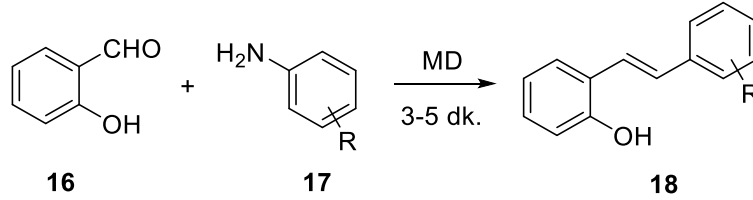
Şema 3. (*E*)-4-metil-*N*-(3,4,5-trimetoksibenziliden)benzenaminin (**12**) sentezi

Zheng ve Ma, farklı amino asitler (**13**) ve 2,4-dihidroksibenzaldehit (**14**) bileşiğini kullanarak Schiff bazı türevlerini (**15**) mikrodalga yöntemiyle %70-90 verimle sentezlemişlerdir (Şema 4). Bu bileşiklerin bir seri gümüş (I) kompleksini, α -glukosidaz inhibisyonu için test etmişler ve bunların güçlü inhibitör etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, amino asit Schiff bazı gümüş komplekslerinin inhibisyon mekanizmasını ve yapı-aktivite ilişkilerini de araştırmışlardır (Zheng ve Ma, 2015).



Şema 4. Amino asit içeren Schiff bazlarının mikrodalga yöntemiyle sentezi

Mikrodalga yönteminin kullanıldığı başka bir çalışmada, başlangıç bileşikleri olarak salisilaldehit (**16**) ve süstitüe anilin türevleri (**17**) kullanılmıştır. Tepkimeler, katalizör ve çözücü kullanılmadan gerçekleştirilmiştir. Schiff bazlarının salisilaldimin (**18**) türevleri çok kısa sürede ve %90-97 arası yüksek verimle sentezlenmiştir (Abirami ve Nadaraj, 2014) (**Şema 5**).



Şema 5. Salisilaldimin türevi Schiff bazı (**18**) bileşiklerinin çözücü ve katalizör kullanılmadan sentezi

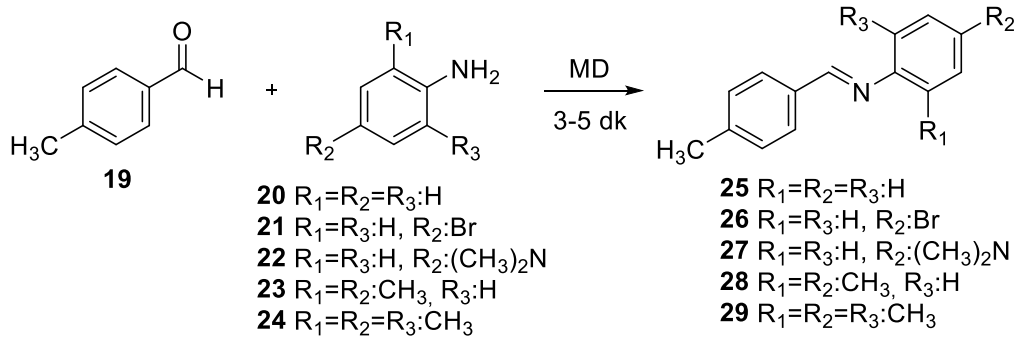
Bu çalışmada, literatürde daha önceden sentezi gerçekleştirilmiş olan **25-29** nolu bileşiklerin mikrodalga yöntemi kullanılarak sentezleri planlandı. Bu bileşiklerin biyolojik aktivite özellikleriyle ilgili herhangi bir çalışma olmamasına rağmen yapıları gereği biyoaktif potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Literatürde bilinen bu bileşiklerin bazılarının sentez çalışmalarında mikrodalga yöntemi uygulanmış ancak sentezler çeşitli katalizör ve çözücüler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun yanı sıra klasik ısı işlemlerin uygulandığı sentez çalışmalar da mevcuttur. Bu bileşikler biyolojik aktivite potansiyelleri olduğu düşünüldüğünden çalışma konusu olarak seçildi. Katalizör ve çözücü kullanılmadan çevreci bir yaklaşımla daha az atık ve toksik madde oluşturarak yeşil kimya kapsamında yeniden sentezlenmeleri amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada 4-metil benzaldehit (**19**) ve farklı aril amin bileşikleri (**20-24**) kullanılarak farklı imin bileşiklerinin (**25-29**) sentezi gerçekleştirildi (**Şema 6**). Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar ticari olarak Merck ve Sigma-Aldrich'ten satın alındı. Tepkimeler, ince tabaka kromatografisi (TLC) ile izlendi. Tepkimeler Vestel MD 20 DB model mikrodalga fırın (230 V-50 Hz, 900 W) ile gerçekleştirildi. ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları, CDCl₃ kullanılarak Varian marka NMR spektrometresi ile 400 ve 100 MHz'de kaydedildi. Erime noktaları kapiler eritme aparatı kullanılarak BUCHI 530 model erime noktası tayin cihazı ile belirlendi. Element analiz sonuçları da Leco CHNS-932 cihazında kaydedildi.

Schiff Bazlarının Genel Sentezi

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklerin (**25-29**) sentez yöntemi **Şema 6**'da verilmiştir. Tüm tepkimeler açık sistem içerisinde olmak üzere 5 mL'lik bir cam şişede, çözücü ve katalizör içermeyen koşullarda 900 W mikrodalga radyasyonunda gerçekleştirildi. 4-metil benzaldehit (**19**) (1 mmol) bileşiği ile farklı aril amin bileşikleri olan anilin (**20**), 4-bromanilin (**21**), *N,N*-dimetilbenzen-1,4-diamin (**22**), 2,4-dimetilanilin (**23**) ve 2,4,6-trimetilanilin (**24**) (1 mmol) ile reaksiyona sokuldu. Tepkimenin ilerlemesi TLC ile izlendi. Tüm aromatik türevler için tepkimelerin 3-5 dakika arasında tamamlandığı görüldü. Elde edilen maddelerin ¹H NMR, ¹³C NMR, FT-IR ve Elementel analizleri gerçekleştirildi. Analiz sonucuna göre her bir tepkimede tek bir bileşik olduğu tespit edildi ve herhangi bir saflaştırma işlemine tabi tutulmadan Schiff bazı bileşikleri (**25-29**) elde edildi.



Şema 6. Farklı aril amin bileşikleri kullanılarak Schiff bazlarının mikrodalga yöntemiyle sentezi

BULGULAR VE TARTIŞMA

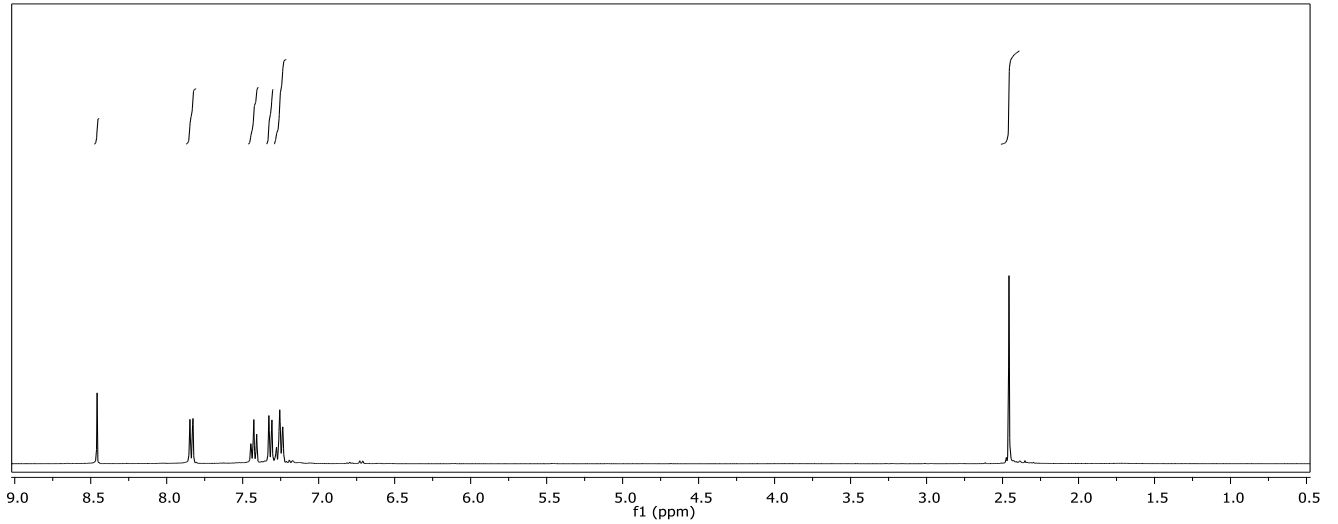
Geleneksel ısıtma yönteminde kullanılan ısı kaynağı tepkime kabını aşırı ısıtırken tepkime ortamının sıcaklığının nispeten daha düşük olmasına ve sisteme enerji transferinin daha yavaş ve bazen de yetersiz olmasına sebebiyet vermektedir. Mikrodalga yöntemi daha etkin ve homojen bir ısıtma sağladığından dolayı, geleneksel sentez yöntemine göre daha verimli bir yöntemdir (Ermiş, 2016). Geleneksel ısıtma yöntemleriyle bazen günlerce dahi sürebilen tepkimeler, mikrodalga radyasyonu kullanılarak çok daha kısa bir sürede gerçekleşebilmektedir. Birçok kimyasal tepkime bu teknik ile yapılmış ve tepkimelerde kısa sürede daha yüksek verimler oluşması sağlanmıştır (Kuşlu ve Bayramoğlu, 2002). Literatürde, bu çalışmanın alanına girecek nitelikte ve mikrodalga enerjisinin özelliğinden kaynaklanan yeni kimyasal sentezler gerçekleştirilmiştir. Bu sentezlerde mikrodalga enerjisinin kullanılmasının zaman, verim ve seçicilik açısından avantajlı yönleri tespit edilmiştir.

Literatürde **25** numaralı bileşiğin sentezi için birkaç yöntem uygulanmıştır. Bunlardan birinde Tamilthendral ve arkadaşları, bu bileşiği 4-metilbenzil alkol ile anilin kondenzasyonundan elde etmiştir. Tepkime, KO^tBu li ortamda Ru-aren katalizör kullanarak toluen içinde $60\text{ }^{\circ}C$ 'de 12 saat refluks edilerek %98 verimle gerçekleştirmiştir (Tamilthendral ve ark., 2020). Yeşil kimya kapsamında gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise limon, portakal, amala ve mango meyvelerinden su ile özütleme sonucu elde edilen doğal asitler katalizör olarak kullanılmıştır. 4-metilbenzaldehit ile anilin tepkimeye sokulmuş ve %60-65 arasında değişen verimler elde edilmiştir (Phadnaik, 2020). $SrTiO_3$ katalizörü kullanılarak toluen içinde $110\text{ }^{\circ}C$ 'de 24 saat refluks edilen 4-metilbenzaldehit ve anilin, %100 verimle **25** numaralı bileşiği vermiştir (Srilakshmi ve ark., 2018). 2007 yılında yapılan başka bir çalışmada ise Landge ve arkadaşları aynı bileşiği, mikrodalga tekniği ile K-10 eşliğinde ve $140\text{ }^{\circ}C$ 'de 4-metilbenzil amin ile anilin tepkimesinden %84 verimle gerçekleştirmiştir (Landge ve ark., 2007). Literatürde **26** numaralı bileşiğin sentezine ilişkin bir çalışma Kshash tarafından rapor edilmiştir. Sentez, asetik asit katalizörlüğünde ve etanol içinde refluks düzeneği ile 3 saatte gerçekleştirilmiştir. 4-metilbenzaldehit ve 4-bromoanilin kullanıldığı tepkimede %75 verim elde edilmiştir (Kshash, 2020). **27** numaralı bileşiğin sentezine dair yapılan bir çalışmada, 4-metilbenzaldehit bileşiğinin *N,N*-dimetilbenzen-1,4-diamin ile oda koşullarında ve etanol içinde 30 dakikada süreyle tepkimeye sokulmuş ve bu bileşik elde edilmiştir. Çalışmada elektriksel iletkenlik özellikleri incelenmiş ancak verimle ilgili bir bilgi paylaşılmamıştır (Chenzhong ve ark., 2015). **28** numaralı bileşiğin ise anilin ile 4-metilbenzaldehitin etanol içinde 3 saat refluks edilerek %81 verimle sentezlendiği literatürden bilinmektedir (Sridharan ve ark., 2007). Bir başka çalışmada ise 2,4-dimetilbenzenamin ve 4-metilbenzil alkol, KO^tBu varlığında ve farklı Ru(II) katalizörleri eşliğinde tepkimeye sokulmuş %5-22 arası verimle yan ürün olarak elde edilmiştir. Tepkimeler refluks düzeneği ile $120\text{ }^{\circ}C$ 'de 24 saatte gerçekleşmiştir (Karaca ve ark., 2021). **29** numaralı bileşiğin sentezlendiği tek çalışmada ise 2,4,6-trimetilbenzenamin ve 4-metilbenzaldehit $CDCl_3$ içinde oda sıcaklığında çözülmüş

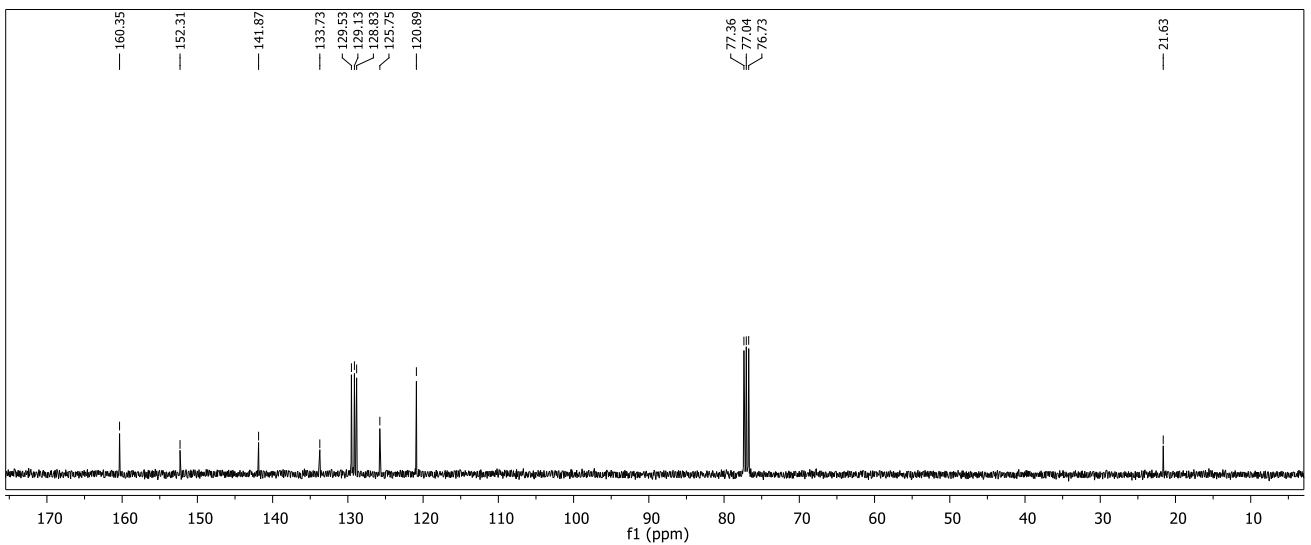
ve Ir metal kompleksleri katalizör olarak kullanılmıştır. Çalışmada tepkimeye ait bir gerçekleşme süresi ve verim bilgisi verilmemiştir (Lee ve ark., 2002).

Geçmiş literatür çalışmaları ve sentez planları da göz önüne alınarak gerçekleştirilen bu çalışmada, 4-metil benzaldehit (**19**) ve farklı aril amin bileşikleri (**20-24**) çıkış bileşikleri olarak kullanıldı ve tepkime ortamına herhangi bir katalizör veya çözücü ilave edilmeden Schiff bazı bileşikleri (**25-29**) yeniden sentezlendi (Şema 6). Sentezlere ait sonuçlar ve spektral veriler aşağıda verilmiştir.

(E)-N-fenil-1-(p-tolil)metanimin (25): Verim: %92; E.N: 46-47 °C (Lit.44-45 °C, Cordes ve Jencks, 1962); sarı renkli katı. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.46 (s, 1H), 7.84 (d, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.43 (t, *J*=7.7 Hz, 2H), 7.32 (d, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.26 (t, *J*=8.4 Hz, 3H), 2.46 (s, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 160.35, 152.31, 141.87, 133.73, 129.53, 129.13, 128.83, 125.75, 120.89, 21.63. IR (KBr) (cm⁻¹): 3027, 1624, 1589, 1484, 1191, 1171. Elementel analiz: C₁₄H₁₃N Hesaplanan: C, 86.12; H, 6.71; N, 7.17; Deneysel: C, 86.17; H, 6.70; N, 7.13.



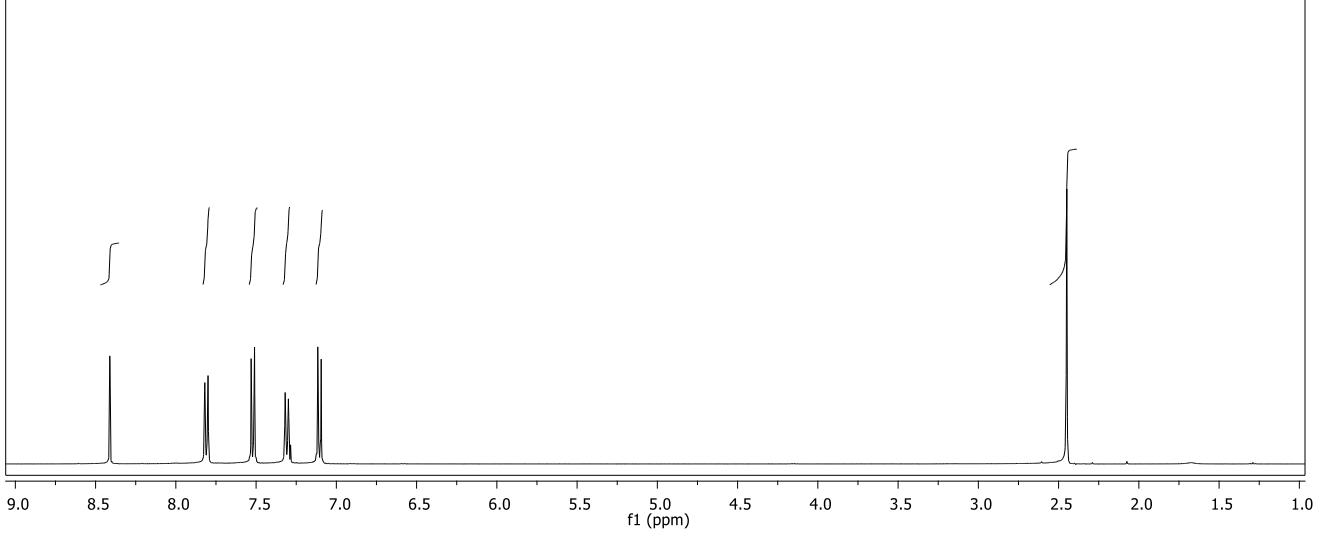
Şekil 1. Bileşik 25'e ait ¹H NMR spektrumu



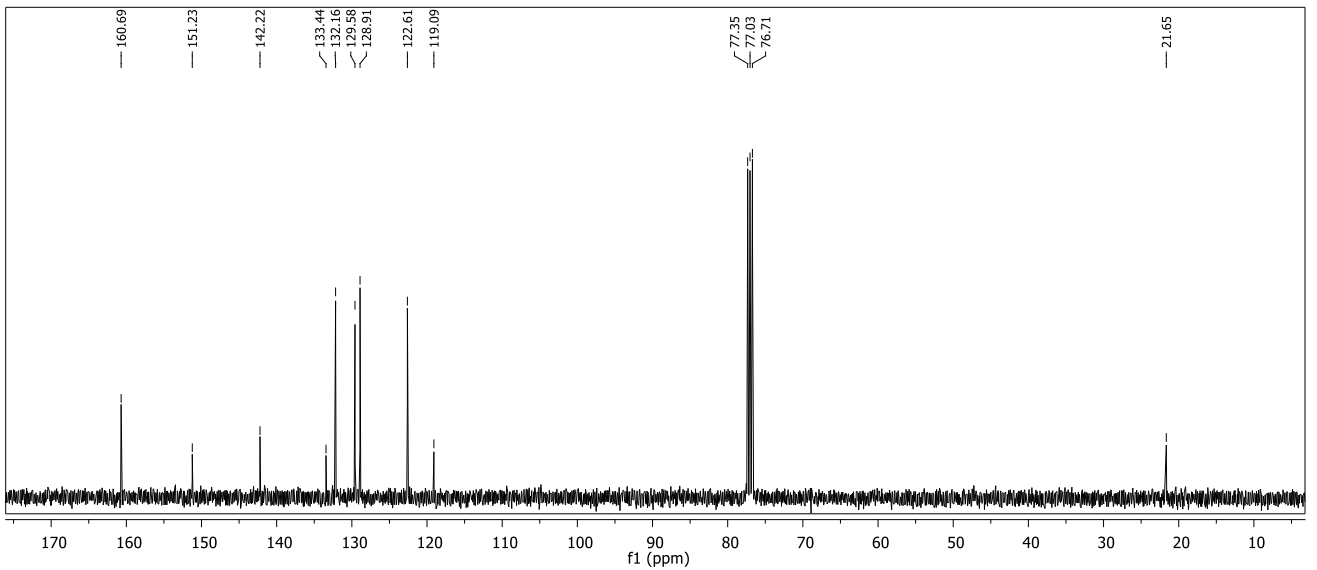
Şekil 2. Bileşik 25'e ait ¹³C NMR spektrumu

(E)-N-(4-bromfenil)-1-(p-tolil)metanimin (26): Verim: %95; E.N: 178-179 °C (Lit.180-181 °C, Gyl'akhmedov ve Akhmedov, 1978); beyaz renkli katı. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.41 (s, 1H), 7.81 (d, *J*=8.1 Hz, 2H), 7.52 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.31 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.11 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 2.45

(s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 160.69, 151.23, 142.22, 133.44, 132.16, 129.58, 128.91, 122.61, 119.09, 21.65. IR (KBr)(cm^{-1}): 2872, 1622, 1606, 1567, 1476, 1352, 1261, 1101, 969. Elementel analiz: $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}$ Hesaplanan: C, 61.33; H, 4.41; N, 5.11; Deneysel: C, 61.29; H, 4.46; N, 5.11.

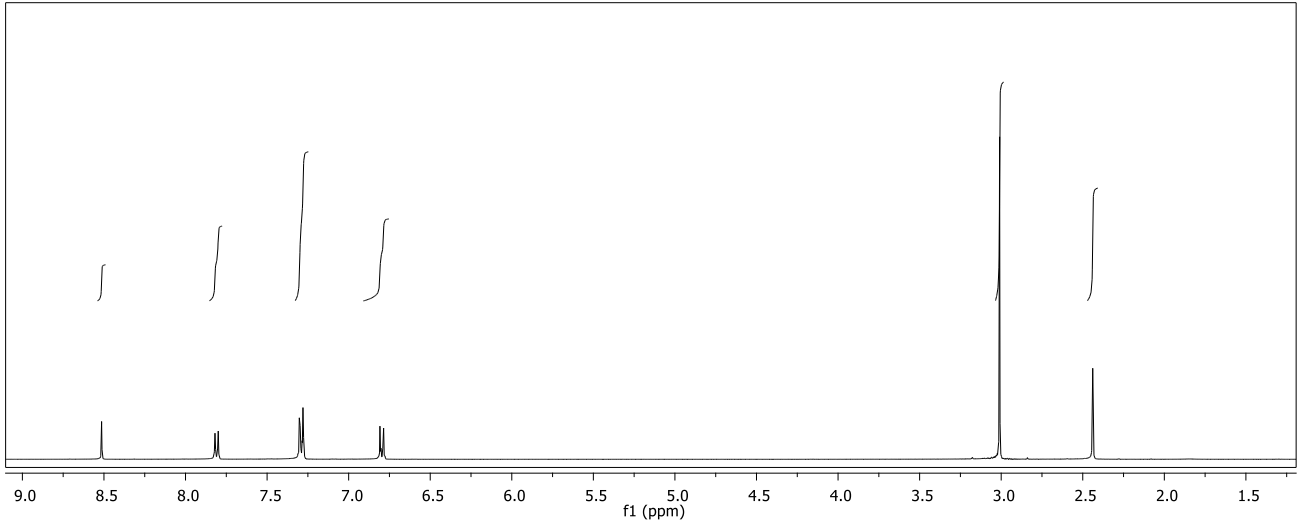
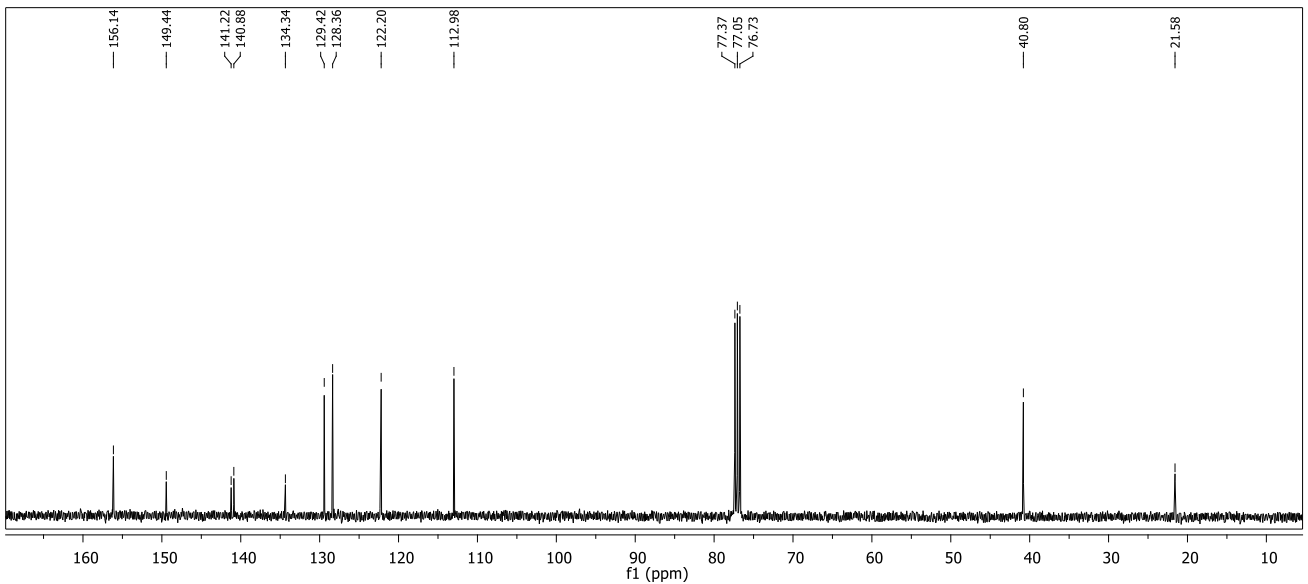


Şekil 3. Bileşik 26'ya ait ^1H NMR spektrumu

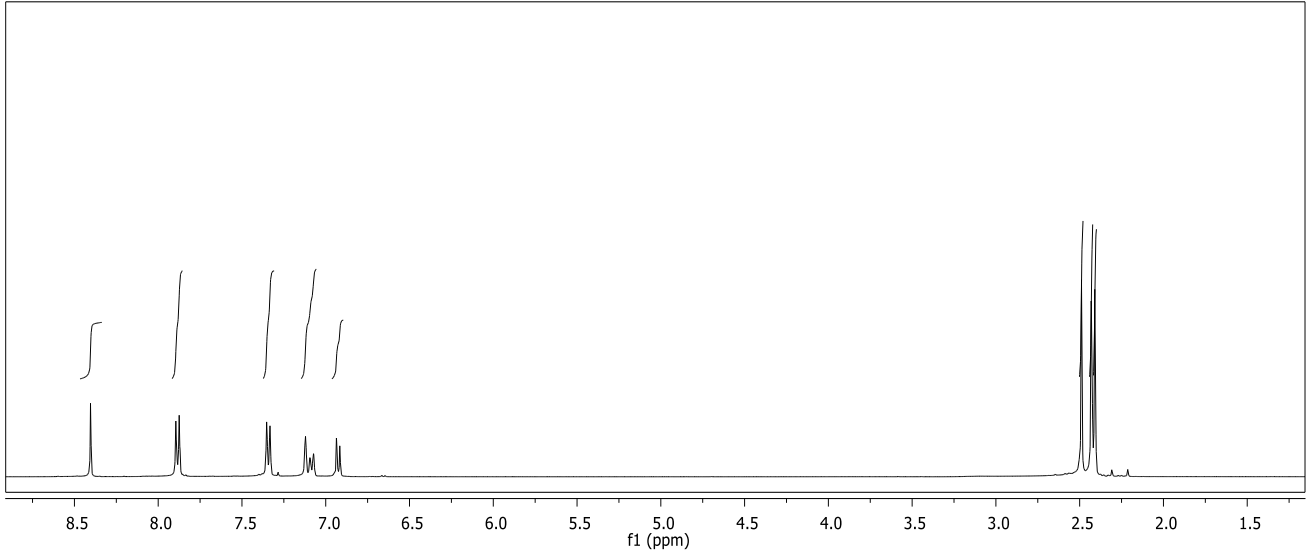
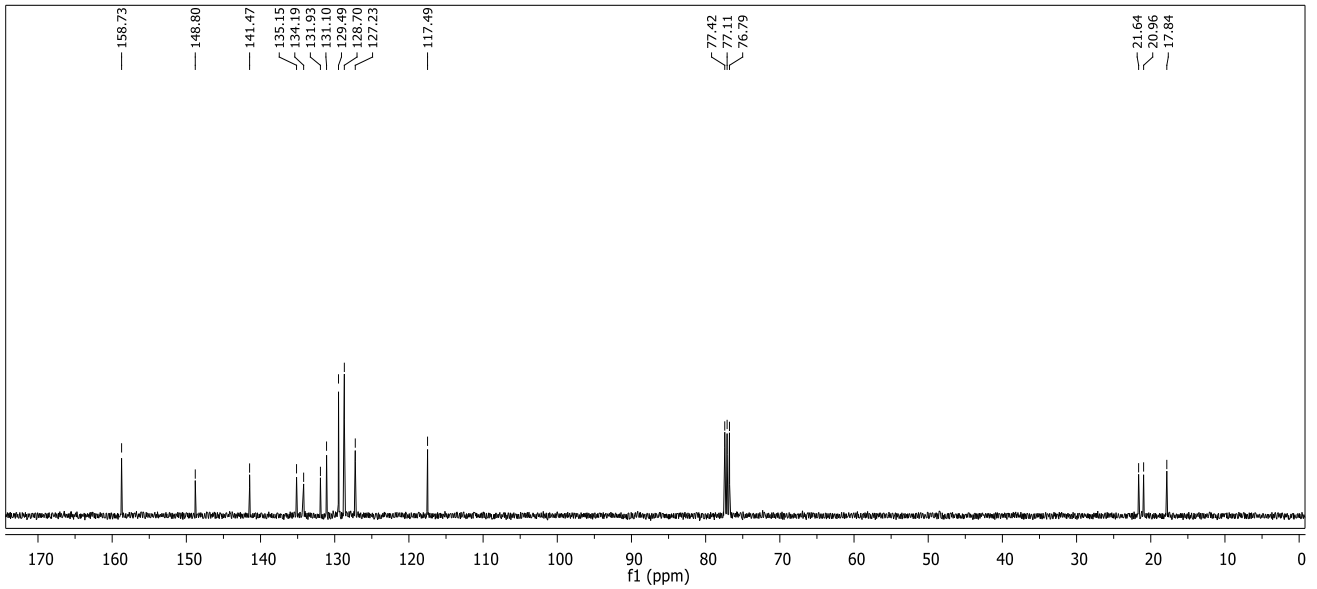


Şekil 4. Bileşik 26'ya ait ^{13}C NMR spektrumu

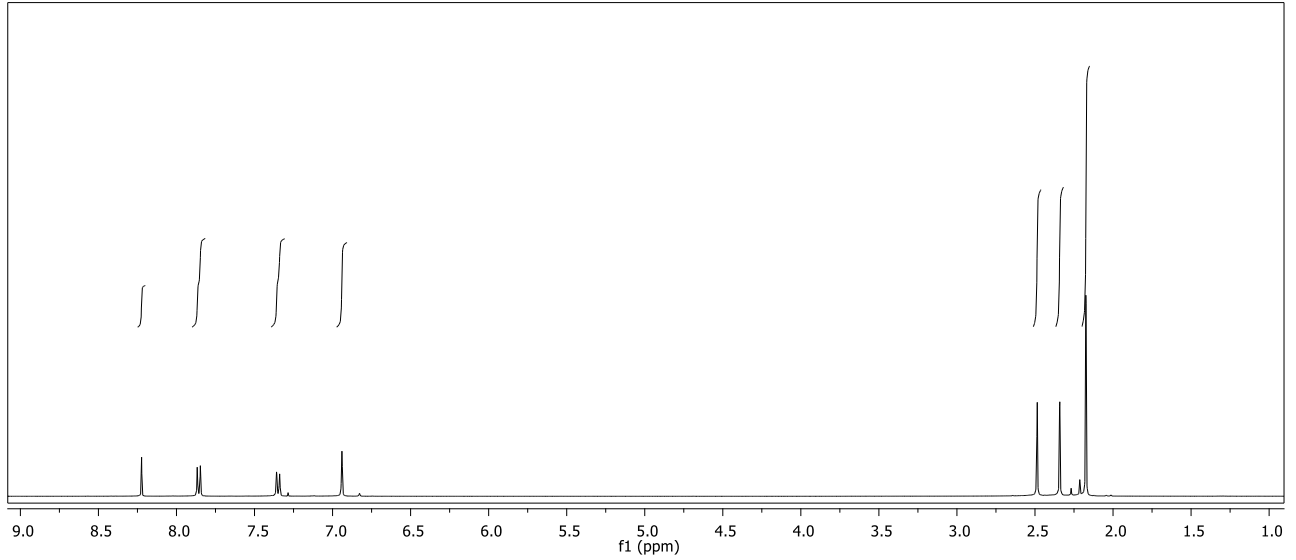
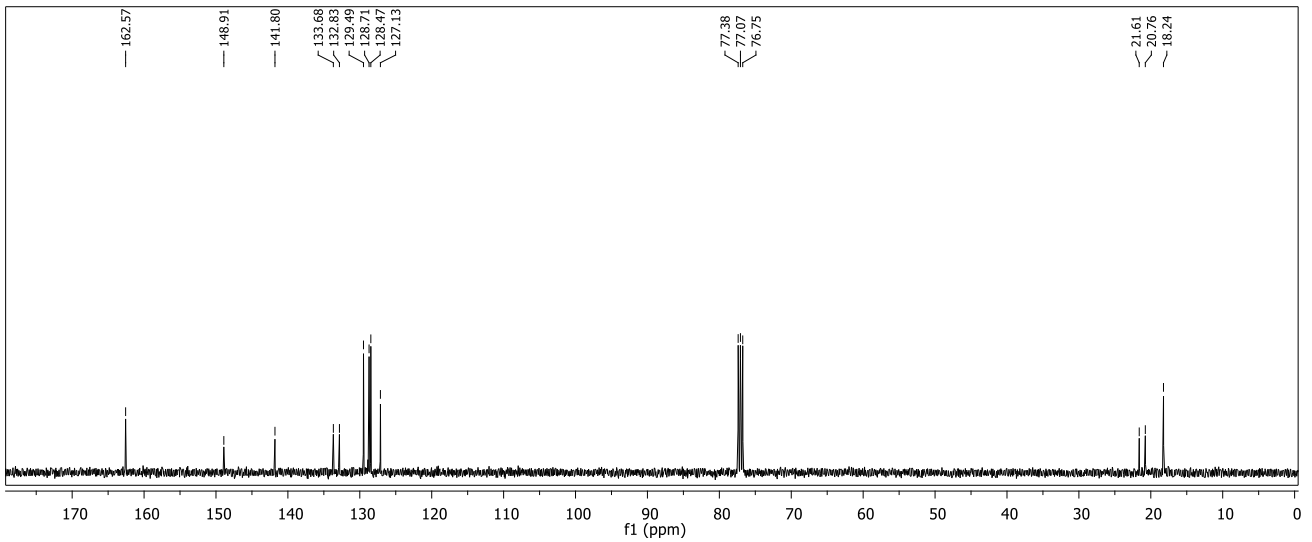
(E)-N,N-dimethyl-4-((4-metilbenziliden)amino)anilin (27): Verim: %94; E.N: 143-144 $^{\circ}\text{C}$ (Lit. 145-146 $^{\circ}\text{C}$. Neuvonen ve ark., 2006); açık sarı renkli katı. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.51 (s, 1H), 7.81 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.29 (dd, $J=7.0, 2.0$ Hz, 4H), 6.80 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 3.01 (s, 6H), 2.44 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 156.14, 149.44, 141.22, 140.88, 134.34, 129.42, 128.36, 122.20, 112.98, 40.80, 21.58. IR (KBr) (cm^{-1}): 2881, 1619, 1519, 1361, 1228, 1062, 822. Elementel analiz: $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2$ Hesaplanan: C, 80.63; H, 7.61; N, 11.75 Deneysel: C, 80.66; H, 7.59; N, 11.78.

Şekil 5. Bileşik 27'ye ait ¹H NMR spektrumuŞekil 6. Bileşik 27'ye ait ¹³C NMR spektrumu

(E)-N-(2,4-dimetilfenil)-1-(p-tolil)metanimin (28): Verim: %96; sarı renkli yağimsı madde. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.40 (s, 1H), 7.88 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.34 (d, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.15-7.05 (m, 2H), 6.93 (d, *J*=7.9 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.41 (s, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 158.73, 148.80, 141.47, 135.15, 134.19, 131.93, 131.10, 129.49, 128.70, 127.23, 117.49, 21.64, 20.96, 17.84. IR (KBr) (cm⁻¹): 2919, 1629, 1607, 1511, 1491, 1452, 1196, 1172. Elementel analiz: C₁₆H₁₇N Hesaplanan: C, 86.05; H, 7.67; N, 6.27; Deneysel: C, 86.08; H, 7.64; N, 6.31.

Şekil 7. Bileşik 28'e ait ¹H NMR spektrumuŞekil 8. Bileşik 28'e ait ¹³C NMR spektrumu

(E)-N-(2,4,6-trimetilfenil)-1-(p-tolil)metanimin (29): %93-94; E.N:55-56 °C; sarı renkli katı. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.22 (s, 1H), 7.86 (d, *J*=8.1 Hz, 2H), 7.35 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 6.94 (s, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 162.57, 148.91, 141.80, 133.68, 132.83, 129.49, 128.71, 128.47, 127.13, 21.61, 20.76, 18.24. IR (KBr) (cm⁻¹): 2916, 1638, 1607, 1479, 1195, 1172, 1144. Elementel analiz: C₁₇H₁₉N Hesaplanan: C, 86.03; H, 8.07; N, 5.90; Deneysel: C, 86.00; H, 8.03; N, 5.96.

Şekil 9. Bileşik 29'a ait ¹H NMR spektrumuŞekil 10. Bileşik 29'a ait ¹³C NMR spektrumu

SONUÇ

Schiff bazı oluşum tepkimeleri organik kimya ve tıbbi kimya açısından ele alındığında en önemli tepkimelerden biridir. Schiff bazları α -aminonitrillerin asimetrik sentezinde, ikincil aminlerin hazırlanmasında ve siklokatalizasyon tepkimelerinde çok yönlü bileşenler olarak kullanılmasının yanı sıra çok çeşitli biyoaktiviteye de sahip bileşiklerdir. Bu çalışmada, daha önceden sentezi yapılmış olan bazı Schiff bazı bileşiklerinin sentezleri çevreci bir yöntem olan mikrodalga yöntemiyle yan ürün oluşumu gözlenmeden hızlı şekilde ve yüksek verimle başarıyla gerçekleştirildi. Çözücüsüz ve katalizörsüz ortamda tek kap içinde gerçekleştirilen kondenzasyon tepkimeleri, klasik ısı tepkimelerine göre daha ekonomik olmasına ilaveten daha düşük enerji kullanımı da sağlamıştır. Seçilen yöntemin uygulanmasının kolay olması ve elde edilen nihai ürünler için ek bir saflaştırma işlemine gerek duyulmaması da çalışmaya büyük avantaj sağlamış ve yeşil kimya hedefleri doğrultusunda çalışmanın özgün değerini artırmıştır. İlerleyen dönemlerde, literatürde farklı yöntemlerle sentezlenmiş olan ve biyolojik potansiyele sahip olan Schiff bazı bileşiklerinin daha ucuz ve çevreci bir yaklaşımla yeniden sentezleri ve aynı yöntemle literatürde mevcut olmayan yeni Schiff bazlarının sentezlerinin gerçekleştirilmesi de planlanmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) KMY.A4.21.002 nolu proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması sırasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim.

Yazar Katkısı

Makalenin planlanması, yürütülmesi ve yazılması yazarın kendisine aittir.

KAYNAKLAR

- Abirami M, Nadaraj V, 2014. Synthesis of Schiff Base under Solvent-free Condition: As a Green Approach. *International Journal of ChemTech Research*, 6(4): 2534-2538.
- Ak T, 2016. 2-Hidroksi-1-Naftaldehitten Türetilen Triazin İçeren Yeni Schiff Bazlarının Metal Sensör Özelliklerinin İncelenmesi ve Hg(II) İyonunun Tayini İçin Spektroflorimetrik Bir Metodun Geliştirilmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Bal M, 2010. Yeni azo-Schiff Bazı Türü Ligand ve Metal Komplekslerinin Sentezi, Spektroskopik ve Genotoksik Özelliklerinin İncelenmesi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Baran T, 2009. Heterosiklik ve Amino Asit Türevi İki Yeni Schiff Bazı Ligandı ve Geçiş Metal Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu. Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Birbiçer N, 1998. Suda Çözünebilir Boyar Maddelerin Metal Komplekslerinin Sentezi ve Boyar Madde Özelliklerinin İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Chenzhong C, Yakun B, Chaotun C, 2015. Effect of Substituents on Reduction Potential of para-disubstituted *N*-Benzylidenebenzenamine Derivatives. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 35(6): 1302-1309.
- Cordes EH, Jencks WP, 1962. Nucleophilic Catalysis of Semicarbazone Formation by Anilines. *Journal of the American Chemical Society*, (84):5, 826–831.
- Cozzi PG, 2004. Metal-Salen Schiff Base Complexes in Catalysis: Practical Aspects. *Chemical Society Reviews*. 33 (7): 410-421.
- Dai J, 2006. Microwave-Assisted Extraction and Synthesis Studies and the Scale-Up Study with the Aid of FDTD Simulation., McGill University Department of Bioresource Engineering PhD thesis (Printed).
- Duman H, 2007. 1,10-Fenantrolin Türevi Bir Schiff Bazı ve Geçiş Metal Komplekslerinin Sentezi Spektroskopik ve Termal Analizi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Ermış E, 2016. 6,6'-{oksisbis(*p*-fenilen)iminometil}}bis-(2-tert-bütilfenol) Schiff Bazının Mikrodalga Işınlama Yoluyla Sentezi, Yapı Karakterizasyonu, Tautomerik ve Solvatokromik Özelliklerinin Deneysel ve Teorik Olarak İncelenmesi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi A-Uygulamalı Bilimler ve Mühendislik*, 17 (1):79-95.

- Feriçok G, Koç ZE, 2019. Schiff Bazı Ligand Kompleks Bileşiğinin Sentezi ve Multinükleer Fe(III)/Fe(II)/Fe(III) Geçiş Metal Kompleksinin İncelenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi, 45(2):116-125.
- Grewal AS, Kumar K, Redhu S, Bhardwaj S, 2013. Microwave Assisted Synthesis: A Green Chemistry Approach. International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences, 3(5):278-285.
- Gyul'akhmedov LM, Akhmedov Sh. T, 1978. Synthesis of Some Azomethines by the Reaction of Aromatic Aldehydes with Arylamines. Uch. Zap. Azerb. Un-t. Ser. Khim. N, (4): 46-9.
- Jayabharathi J, Thanikachalam V, Thangamani A, Padmavathy M, 2007. Synthesis, AM1 Calculation, and Biological Studies of Thiopyran-4-one and Their Azine Derivatives. Medicinal Chemistry Research, (16):266-279.
- Karaca EÖ, Dehimat ZI, Yaşar S, Gürbüz N, Tebbani D, Çetinkaya B, Özdemir İ, 2021. Ru(II)-NHC Catalysed *N*-Alkylation of Amines with Alcohols Under Solvent-free Conditions. Inorganica Chimica Acta, 520, 120294.
- Kshash AH, 2020. Synthesis and Characterization of Tetrachloro-1,3-Oxazepine Derivatives and Evaluation of their Biological Activities. Acta Chimica Slovenica, (6): 113-118.
- Kuşlu S, Bayramoğlu M, 2002. Mikrodalgalar ile Materyaller Arasındaki Termal Olan ve Olmayan Etkileşimlerin İncelenmesi ve Mikrodalga Kimyası. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 8(3):395-405.
- Landge SM, Atanassova V, Thimmaiah M, Török B, 2007. Microwave-assisted oxidative coupling of amines to imines on solid acid catalysts. Tetrahedron Letters, (48): 5161–5164.
- Lee D-H, Crabtree RH, Park S-K, 2002. Imination Catalysis via Two-point Binding of Substrate Aldehyde via a Metal and a Pendant Hydrogen-Bonding Group. Bulletin of the Korean Chemical Society, (23):8, 1157-1159.
- Macho V, Králik M, Hudec J, Cingelova J, 2004. One stage preparation of Schiff's Bases From Nitroarenes, Aldehydes and Carbon monoxide at Presence of Water. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 209 (1-2): 69-73.
- Murtaza G, Mumtaz A, Khan FA, Ahmad S, Azhar S, Najam-Ul-Haq M, Atif M, Khan SA, Maalik A, Alam F, Hussain I, 2014. Recent Pharmacological Advancements In Schiff Bases: A Review. Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research, 71(4):531-535.
- Nartop D, Ögütçü H, 2020. Synthesis of New Unsymmetrical Schiff Bases as Potential Antimicrobial Agents. Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 5 (1): 13-25.
- Neuvonen H, Neuvonen K, Fülöp F, 2006. Substituent Cross-Interaction Effects on the Electronic Character of the C=N Bridging Group in Substituted Benzylidene Anilines – Models for Molecular Cores of Mesogenic Compounds. A ¹³C NMR Study and Comparison with Theoretical Results. Journal of Organic Chemistry, 71 (8):3141-3148.
- Ömerustaoğlu H, 2017. 5-Pirazolon-Üre Türevli Schiff Bazlarının Sentezi ve Karakterizasyonu. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Patil S, Jadhav SD, Patil UD, 2012. Natural Acid Catalyzed Synthesis of Schiff Base under Solvent-free Condition: As a Green Approach. Archives of Applied Science Research, 4 (2):1074-1078.
- Phadnaik G, 2020. Green Synthesis of Azomethines in natural solvents. Research Journal of Chemical Sciences, 10(3):44-47.
- Sakthinathan SP, Suresh R, Mala V, Sathiyamoorthi K, Kamalakkannan D, Ranganathan K, Joseph SJ, Vanangamudi G, Thirunarayanan G, 2013. Synthesis, Spectral Correlations and Biological Evaluation of Some Aryl (*E*)-*N*-Benzylidene-3-nitrobenzenamines. International Journal of Scientific Research in Knowledge, 1(11): 472-483.

- Söğüt Ö, Çelebi B, 2020. Daha Temiz Analizler: Yeşil Kimya. Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, (8): 160-175.
- Sridharan V, Perumal PT, Avendano C, Menendez JC, 2007. The first aza Diels-Alder Reaction Involving an α,β -unsaturated Hydrazone as the Dienophile: Stereoselective Synthesis of C-4 Functionalized 1,2,3,4-tetrahydroquinolines Containing a Quaternary Stereocenter. Organic & Biomolecular Chemistry, (5):1351-1353.
- Srilakshmi C, Saraf R, Shivakumara C, 2018. Structural Studies of Multifunctional SrTiO₃ Nanocatalyst Synthesized by Microwave and Oxalate Methods: Its Catalytic Application for Condensation, Hydrogenation, and Amination Reactions. American Chemical Society, (3):10503-10512.
- Tamilthendral V, Ramesh R, Jan Grzegorz Malecki JG, 2020. Arene diruthenium(II)-mediated Synthesis of Imines from Alcohols and Amines Under Aerobic Condition. Applied Organometallic Chemistry, 35(3):e6122.
- Taşkın OK, Öztürk ÖF, Canpolat E, 2012. Yeni Bir Schiff Bazı ve Geçiş Metalleri ile Oluşturdukları Komplekslerin Sentezi ve Karakterizasyonu. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 1(1):34-39.
- Türk S, Karakuş S, Maryam A, Oruç-Emre EE, 2020. Synthesis, Characterization, Antituberculosis Activity and Computational Studies on Novel Schiff Bases of 1,3,4-thiadiazole Derivatives. Journal of Research in Pharmacy, 24(6): 793-800.
- Vinayak S, Kumar LS, 2014. Synthesis, Characterisation and Anticancer Activity of Schiff Base Derivatives of 5-(2-phenoxypropyl)-1, 3, 4-thiadiazol-2-amine. International Research Journal of Pharmacy, (4): 62-66.
- Yang Z, Sun P, 2006. Compare of Three Ways of Synthesis of Simple Schiff Base. Molbank, M514.
- Yılmaz Ö, 2015. 1,3-Dialkil-2-Arilbenzimidazolyum Tuzlarının Mikrodalga ve Klasik Isıtma Yöntemleri Kullanılarak Sentezi ve Özelliklerinin İncelenmesi. Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Zangade S, Patil P, 2019. A Review on Solvent-free Methods in Organic Synthesis. Current Organic Chemistry, 23: 2295-2318.
- Zengin Kurt B, 2018. Sinalmaldehitin Yeni Schiff Bazlarının Sentezi ve Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 22 (3):1024-1032.
- Zheng JW, Ma L, 2015. Silver(I) complexes of 2,4-dihydroxybenzaldehyde-amino Acid Schiff bases- Novel noncompetitive alpha-glucosidase Inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 25(10): 2156- 2161.

Atf İçin: Hayta B, Gülaboğlu M, Kutlu Z, 2021. *Hippophae Rhamnoides* L. (Yabani İğde) Bitkisinin Meyve Ekstraktlarının *In Vitro* Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2992-3002.

To Cite: Hayta B, Gülaboğlu M, Kutlu Z, 2021. Investigation of *In Vitro* Antioxidant Properties of Fruit Extracts of *Hippophae Rhamnoides* L.. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2992-3002.

***Hippophae Rhamnoides* L. (Yabani İğde) Bitkisinin Meyve Ekstraktlarının *In Vitro* Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması**

Bilal HAYTA¹, Mine GULABOĞLU¹, Zerrin KUTLU^{1*}

ÖZET: *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan aktivite, indirgeyici güç ve aktivite testlerinin yapılması çalışmamızın amacını oluşturmaktadır. Bu çalışmada *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan aktivite, Fe⁺³- Fe⁺² indirgeme kapasitesi ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi yöntemi, ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) radikal giderme aktivitesi, FRAP metoduna göre Fe⁺³TPTZ indirgenme kapasitesi ve CUPRAC metoduna göre Cu⁺²-Cu⁺¹ indirgeme kapasitesi ile tespit edildi. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki total antioksidan kapasiteleri, fenolik bileşik miktarları ve indirgeyici güç analizleri sonucunda diğer ekstraktlara göre en yüksek etki etanol ekstresinde olduğu tespit edildi. DPPH radikali süpürme kapasitesi ve ABTS katyon radikali süpürücü kapasite % inhibisyon değerleri diğer ekstraktlara göre etanol ekstresinde oldukça yüksek olduğu tespit edildi. Ayrıca FRAP radikali süpürme kapasitesi ve CUPRAC katyon radikali süpürücü kapasite değerleri de diğer ekstraktlara etanol ekstresinde daha yüksek olduğu tespit edildi. Bu çalışmada analiz edilen *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen daha çok etanol ekstresinde olmak kaydıyla metanol, su ve n-hekzan ekstraktlarında yüksek antioksidan aktivite, yüksek indirgeyici güç ve toplam fenolik bileşik bakımından zengin olduğu tespit edildi. Mevcut çalışmanın tek amacı, kitleler tarafından kabul edilebilirliğini artırmak için modern bulgularla desteklenen halk hekimliğinde kullanılan potansiyelini ortaya çıkarmaya destek olmaktır.

Anahtar Kelimeler: ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP, *Hippophae rhamnoides* L.

Investigation of *In Vitro* Antioxidant Properties of Fruit Extracts of *Hippophae Rhamnoides* L.

ABSTRACT: The aim of our study is to perform the total phenolic compound, total antioxidant activity, reducing power and activity tests of the extracts of the fruits of the *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Spinach) plant with different polarities. In this study, total phenolic compounds, total antioxidant activity, Fe⁺³- Fe⁺² reducing capacity and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) radical scavenging activity method of the extracts of the fruits of *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Spinach), ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical scavenging activity, Fe⁺³TPTZ reduction capacity according to FRAP method and Cu⁺²-Cu⁺¹ reduction capacity according to CUPRAC method. As a result of the analysis of total antioxidant capacities, phenolic compound amounts and reducing power in different extracts of the fruits of the *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Seahorse) plant, it was determined that the highest effect was found in the ethanol extract compared to other extracts. DPPH radical scavenging capacity and ABTS cation radical scavenging capacity % inhibition values were found to be quite high in ethanol extract compared to other extracts. In addition, FRAP radical scavenging capacity and CUPRAC cation radical scavenging capacity values were found to be higher in ethanol extract than in other extracts. In this study, it was determined that the analyzed *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Seed) plant was rich in high activity, high reducing power and total phenolic compounds in methanol, water and n-hexane extracts, mostly in the ethanol extract obtained from the fruits of the plant. The sole purpose of the present study is to support revealing its potential used in folk medicine supported by modern findings to increase its acceptability by the masses

Keywords: ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP, *Hippophae rhamnoides* L.

¹Bilal HAYTA (Orcid ID: 0000-0002-2020-6765), Mine GÜLABOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-3248-1502), Zerrin KUTLU (Orcid ID: 0000-0002-6279-9810), Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Biyokimya Bölümü, Erzurum, Türkiye.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Zerrin KUTLU, e-mail: kutluzerrin@atauni.edu.tr

Bu çalışma Bilal HAYTA'nın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: "Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yerel Etik Kurulu'nun Tarih: 26.11.2019 Toplantı No 2015-18, Dosya No: 2019-48 ve Karar No:20369917-050.2.4.E sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

GİRİŞ

Ülkemiz tıbbi ve aromatik bitkiler bakımında oldukça zengin bir floraya sahiptir. Ülkemizin zengin flora sahip olmasından ve halk hekimliğinde uzun tecrübeler sonrası ortaya çıkan Anadolu'da halk ilaçları günümüze kadar gelmiştir. Ayrıca son dönemlerde gelişen teknoloji beraberinde doğaya ve doğala dönüş eğilimini artırmaktadır (Erdem ve Eren, 2009; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Antioksidanlar, canlılardaki metabolik faaliyetler sonucu ortaya çıkan, kısa ömürlü olmalarına karşı olumsuz etkisi fazla olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek pek çok hastalığa sebep olabilecek zincir reaksiyonlarını engelleyen ve bunun yanı sıra gıdalardaki oksidasyondan kaynaklanan tat bozulmalarını geciktirme ve önleme yeteneğine sahip olan maddeler olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda gıda sanayinde kullanılan sentetik antioksidanların toksik etkisinin olduğu anlaşıldıktan sonra, bilim insanları sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanları araştırmaya başlamışlardır (Kutlu ve ark., 2020). Araştırmacılar, serbest radikal kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve bunlara karşı oluşan savunma mekanizmalarının aydınlatılması üzerine birçok araştırma yapmaktadırlar. Serbest radikallerin aşırı üretilmesi ve antioksidan sistemin yetersiz kalması durumunda organizmada oksidatif stres meydana gelmektedir. Antioksidanlar, biyolojik sistemlerde oluşan radikalleri yakalamak bu molekülleri zararsız hale getirmek ve başlayan zincir reaksiyonlarını durdurarak oluşan hasarı ortadan kaldırmaya çalışırlar (Kutlu ve ark., 2020).

Bilim insanları birçok bitki türü üzerinde çeşitli araştırmalar yapmasına rağmen halen daha üzerine araştırma yapılmamış birçok bitki türü bulunmaktadır. Ülkemizde yabani iğde olarak bilinen *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisi, Cıvıllık, Çıçırğan, Çışkan (Erzurum bölgesi), Sincan çalısı (İlgaz, Sivas) olarak ta bilinmektedir. Halk arasında anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, ağrı kesici, doku rejenerasyonun teşviki, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, kanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı korunma sağladığı (Li ve Beveridge, 2003), gastrik ülser, deri hastalıkları, diyabet (Malinowska ve Olas, 2016) oksidatif stres ve yaşlanmaya karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Rösch ve ark., 2003).

Bu çalışma da, Erzurum ili Tortum yöresinden toplanan *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisi meyvelerinin su, etil alkol, metanol ve n-hekzan gibi farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan aktivite, Fe⁺³- Fe⁺² indirgeme kapasitesi ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi, ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) radikal giderme aktivitesi, FRAP metoduna göre Fe⁺³TPTZ indirgenme kapasitesi ve CUPRAC metoduna göre Cu⁺²-Cu⁺ indirgeme kapasitesi ile tespit etmektir. Çalışmamız, kullanılan bitki materyalinin Erzurum Tortum ilçesinden toplanmış olması, test edilen konsantrasyon aralığının genişliği ve farklı polaritedeki ekstre sayısı bakımından diğer çalışmalardan ayrılmaktadır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın etik kurul onayı, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yerel Etik Kurulu'nun Tarih: 26.11.2019 Toplantı No 2015-18, Dosya No: 2019-48 ve Karar No:20369917-050.2.4.E sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

Bitki Materyali

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve örnekleri 2019 yılında Erzurum ilinin Tortum bölgesinden toplandı. Bitki materyalleri Atatürk Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Meryem Şengül KÖSEOĞLU'nun yardımıyla uluslararası teşhis yöntemleri kullanılarak teşhis edilmiştir.

Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyveleri kurutulduktan sonra bir havanda sıvı azot ile muamele edilerek toz haline getirildi. Her birinden 100 g örnek tartılarak bir Soxhlet cihazı balonuna yerleştirildi. Çalkalayıcı su banyosunda iki gün süreyle ekstrakte edildi. Meyvenin su, etanol, metanol ve n-hekzan olmak üzere 4 farklı çözücü sistemi (50°C, 250 ml x 4) kullanıldı. Ekstraktlar süzülükten sonra ve çözücü içeriği döner buharlaştırıcı (evaporatör) da düşük basınç ve düşük sıcaklıkta uzaklaştırıldı. Ekstraktlar 5 µm-Hg basınç altında liyofilize edildi (Kutlu ve ark., 2020).

Bitki ekstraktlarının total antioksidan aktivitesinin belirlenmesi

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi Mitsuda ve arkadaşları tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi. Bu metoda göre, tiyosiyanat yöntemi kullanılarak ölçüldü (Mitsuda, 1966). 1 mg ekstrakt 1 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 4 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 7.0) ve 5 mL linoleik asit çözeltisi ilave edildi ve daha sonra 37°C 'da inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun başlatılmasını müteakip her 10 saatte bir %75 etanol ve %30 amonyum tiyosiyanat çözeltilerine 0.1 mL inkübasyon karışımı ilave edilerek vortekslendi. Karışıma %35 HCl içerisinde 0.02 M FeCl₂ çözeltisi ilave edilerek absorbanslar 500 nm' de köre karşı ölçüldü. Kontrol için aynı işlemler yalnızca linoleik asitli karışımda, kör için ise 0.1 mL saf su ilave edilerek tekrarlandı. İnkübasyona kontrolün maksimum absorbansa ulaşması neticesinde son verildi. İnkübasyon karışımından her seferinde 6 tekrür ile sonuçlar verildi.

Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşiklerin miktarlarının belirlenmesi

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşiklerin miktarları, Slinkard ve Singleton tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi (Slinkard ve Singleton, 1977). 0.5 mg liyofilizat 0.5 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 2.5 mL Folin-Coicalteu çözeltisi ilave edildi ve 30 °C ' de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra bu karışımın üzerine 2 mL Na₂CO₃ ilave edilerek 30 °C'de 90 dakika süreyle yeniden inkübasyona bırakıldı. 90. dakikanın sonunda 765 nm'de absorbanslar ölçüldü. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafikten de yararlanılarak sonuçlar, mg Gallik Asit ekvivalenti (GAE)/g liyofilizat şeklinde verildi.

Bitki ekstraktlarının Fe⁺³- Fe⁺² indirgeme kapasitesi belirlenmesi

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve ekstraktlarının indirgeyici güçleri Yen ve Chen tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi (Yen ve Chen, 1995). 0.5 mg ekstrakt 0.5 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 mL %1 potasyum ferrisiyanür çözeltisi eklendikten sonra 50°C 'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. %10 TCA çözeltisinden 2.5 mL ilave edilip 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Bu karışımın üzerine 2.5 mL süpernatant alınarak üzerine 2.5 mL %0,1 FeCl₃ ve 2.5 mL saf su ilave edildikten sonra 700 nm' de absorbans ölçüldü. Yüksek absorbans, yüksek indirgeyici gücü temsil etmektedir.

Antioksidan Kapasite Deneyleri

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi tayini

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve elde edilen ekstraktların DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi Blois metoduna göre tespit edildi (Blois, 1958). 1 mM DPPH çözeltisi serbest radikal çözeltisi olarak kullanılarak bitki ekstraktlarına ait 10-60 µg/mL arasında değişen stok çözeltiler hazırlandı. Ardından her bir kuyucuğa 210 µL stok çözelti ve 70 µL

DPPH çözeltisi pipetlendi. Örnekler 1 dakika süresince vorteks yardımıyla çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Kontrol numunesi için 210 µL etanol ve 70 µL DPPH çözeltisi, standart antioksidan olarak ise α -tokoferol kullanıldı. Tüm örnekler etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedildi ve sonuçlar yüzde inhibisyon olarak hesaplandı.

ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) radikal giderme aktivitesi tayini

Re ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan çalışmaya göre ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) radikal giderme aktivitesi belirlendi. Bu yöntemle göre ilk önce 2 mM ABTS çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiye 1:1 oranında, 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi eklenerek ABTS.+ elde edildi. Ekstrelerin 1-40 µg/mL arasında hazırlanan stok çözeltilerinden 140 µL ve ABTS.+ çözeltisinden ise 100 µL fosfat tamponu (0.1 M, pH = 7.4) kullanıldı. 30 dk inkübasyondan sonra tampondan oluşan köre karşı 734 nm'de absorbanslar kaydedildi. Standart bileşik olarak ise troloks kullanıldı (Zulueta ve ark., 2009).

FRAP metoduna göre Fe⁺³TPTZ indirgenme kapasitesi

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların, elektron transferine dayanan antioksidan kapasite/aktivite tayin yöntemi Huang ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. İlk önce 0.3 M asetat tamponu (pH= 3.6) hazırlandı. 100 mL balon jöje içerisinde 10 mM TPTZ, 40 mM HCl asit konulacak ve son hacim 100 mL tamamlandı. Daha sonra 20 mM FeCl₃ çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerden 2.5 mL TPTZ, 2.5 mL FeCl₃ ve 25 mL asetat tamponundan olacak şekilde 30 mL'lik FRAP çözeltisi elde edildi. Elde edilen FRAP çözeltisi 37°C 'de 30 dakika inkübasyon süresinden sonra 593 nm'de kör numunesi olarak ölçüldü. Standart bileşik olarak ise troloks kullanıldı (Huang ve ark., 2005).

CUPRAC metoduna göre Cu⁺²-Cu⁺ indirgeme kapasitesi

Apak ve arkadaşları (2006) metoduna göre *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların ve bileşiklerin antioksidan kapasite tayinleri belirlendi. Bu yöntemle göre ilk önce 10 mM 250 mL CuCl₂H₂O çözeltisi hazırlandı. Tampon çözeltisi olarak da 250 mL NH₄Ac (1 M, pH= 7.0) kullanıldı. Daha sonra 25 mL'lik balon jöjelerde %96'lık etanol ile 7.5 mM Neocuproin (Nc) çözeltisi hazırlandı. 60 µL CuCl₂, 60 µL asetat tamponu, 60 µL Neocuproin ve 60 µL numuneden oluşan çözelti karıştırıldı. 30 dk inkübasyon süresinden sonra, Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin metanolden oluşan köre karşı absorbans artışları 450 nm'de okundu. Standart bileşik olarak 1-60 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda troloks çözeltisi kullanıldı (Apak ve ark., 2005; Apak ve ark., 2006; Sözgen ve ark., 2006).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Total Antioksidan Aktivitelere Ait Bulgular

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen total antioksidan sonuçları ortalama absorbans olarak hesaplandı (Çizelge 1).

Çizelge 1. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstraktların total antioksidan aktiviteleri

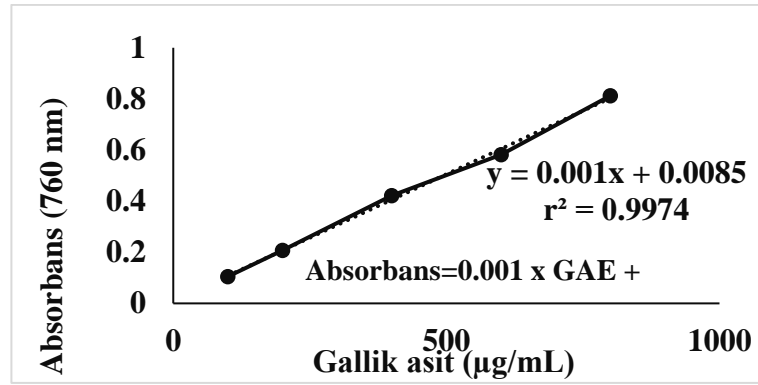
Ekstreler	Doz (mg/mL)	Total antioksidan aktivite
		Ortalama absorbans (50. saat, 500 nm)
Etanol	1	0.256±0.001
	5	0.484±0.005
	10	0.679±0.003
Metanol	1	0.216±0.004
	5	0.281±0.002
	10	0.323±0.007
Su	1	0.175±0.003
	5	0.226±0.005
	10	0.319±0.007
n-hekzan	1	0.178±0.003
	5	0.236±0.002
	10	0.312±0.003
Troloks	1	0.278±0.003
	5	0.636±0.004
	10	0.742±0.003

nm: nanometre, mg: miligram, mL: mililitre

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri çeşitli parametrelere bağlı olduğundan, bir bileşiğin antioksidan aktivitesini tayin etmek için tek bir standart yöntem yoktur. Bundan dolayı antioksidan aktivite tayin etmek için birçok yöntem kullanılmaktadır (Mitsuda, 1966; Slinkard ve Singleton, 1977; Blois, 1958; Yen ve Chen, 1995; Apak ve ark., 2005; Huang ve ark., 2005; Odabasoglu ve ark., 2006; Apak ve ark., 2006; Sözgen ve ark., 2006; Zulueta ve ark., 2009; Kutlu ve ark., 2020). Deneysel çalışmalarda, total antioksidan kapasitesinin belirlenmesi, antioksidanların tek tek analiz edilmesinden daha değerli kabul edilmektedir. Yaptığımız bu çalışmada, *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki total antioksidan kapasiteleri analiz edildi. Çalışmanın sonuçlarına göre su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve aktivitenin doz artışına bağlı olduğu belirlenmiştir. Ekstreler (su, etanol, metanol ve n-hekzan) arasındaki en yüksek antioksidan aktivite ise etanol ekstresinde tespit edilmiştir.

Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Bulguları

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) ile belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı ve hesaplamalarda yararlanılacak olan standart grafik hazırlandı (Şekil 1).



Şekil 1. Gallik asit standart grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplandı (Çizelge 2).

Çizelge 2. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarları

Ekstreler	Toplam Fenolik Bileşik (µg GAE/mg ekstre)
Etanol	77.75±0.05
Metanol	50.28±0.01
Su	58.75±0.04
n-hekzan	45.32±0.03

µg: mikrogram, mg: miligram

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşik miktarları sonuçlarına göre etanol ekstresinde diğer ekstraktlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Doğal bileşikler olarak bilinen fenolik bileşikler antioksidan özelliklerini, serbest radikalleri yakalayarak ve zincir reaksiyonlarını durdurarak yapabilmektedirler (Hamid ve ark., 2010). Bundan dolayı toplam fenolik bileşik miktarı yüksek olan ekstraktlar antioksidan deney sistemlerinde etkili bulunmuştur.

İndirgeyici Güçlerine Ait Bulgular

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının indirgeyici güçlerine ait sonuçlar ortalama absorbans olarak hesaplandı (Çizelge 3).

Total indirgeyici güç, antioksidan kapasite tayininde kullanılan yöntemlerden biridir. Bu analizde yüksek absorbans yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir (Mathew ve Abraham, 2006). Yaptığımız çalışmada, *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki total indirgeyici güç analizi yapıldı. Çalışmanın sonuçlarına göre su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının hepsinde indirgeyici güçlerinin doza bağlı olarak arttığı ve en yüksek indirgeyici güç etanol ekstresinde olduğu tespit edilmiştir.

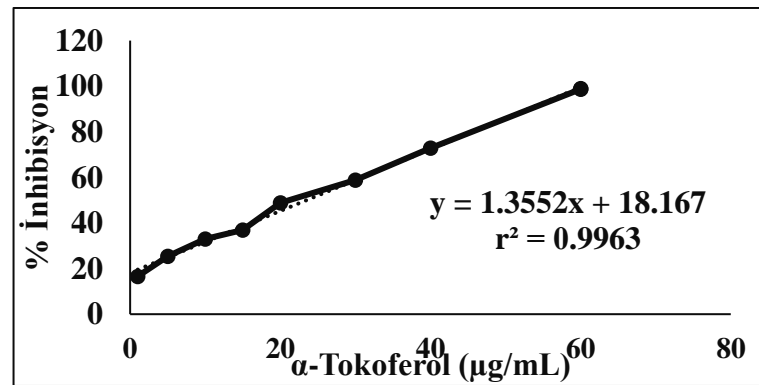
Çizelge 3. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstraktların indirgeme güçleri

Ekstreler	Doz (mg/mL)	İndirgevi gücü Ortalama absorbanans (700 nm)
Etanol	1	0.341±0.001
	5	0.565±0.003
	10	0.735±0.001
Metanol	1	0.131±0.005
	5	0.291±0.007
	10	0.330±0.002
Su	1	0.158±0.005
	5	0.222±0.004
	10	0.321±0.003
n-hekzan	1	0.356±0.006
	5	0.442±0.004
	10	0.540±0.002

nm: nanometre

Antioksidan Kapasite Bulguları**DPPH radikali süpürme çalışmalarına ait bulgular**

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin DPPH radikali süpürme aktivite tayinleri Blois metoduna göre yapıldı. Analiz edilen konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak α-tokoferolün DPPH radikali süpürme aktivitesi 60 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraktların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi.

**Şekil 2.** α-Tokoferolün konsantrasyon- % İnhibisyon grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda gerçekleştirdikleri DPPH radikali süpürücü kapasiteleri % inhibisyon şeklinde Çizelge 4'de gösterilmiştir.

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarından en yüksek DPPH serbest radikali süpürücü kapasiteye sahip ekstraktın etanol ekstresi olduğu tespit edilmiştir.

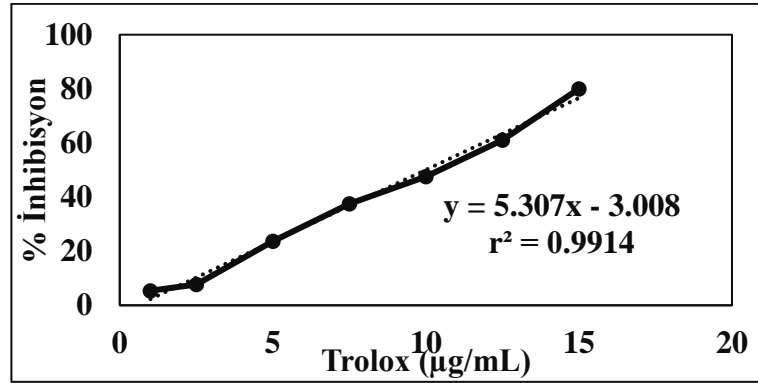
Çizelge 4 Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda DPPH serbest radikali süpürücü kapasitelerinin karşılaştırılması

Ekstreler	% İnhibisyon (50 µg/mL)
Etanol	42.27
Metanol	38.03
Su	24.17
n-hekzan	20.21
α-Tokoferol	91.8

µg: mikrogram, mL: mililitre

ABTS⁺ radikali süpürme kapasite çalışmalarına ait bulgular

ABTS⁺ katyon radikali süpürücü kapasite tayinleri Re ve ark. tarafından geliştirilen yöntemle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak troloks kullanıldı. Analiz edilecek konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks ABTS⁺ katyon radikali süpürme aktivitesi 50 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraktların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi.



Şekil 3. Troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda ABTS⁺ katyon radikali süpürme kapasiteleri % inhibisyon olarak Çizelge 5'te gösterildi.

Çizelge 5. Ekstrelerin 50 µg/ml konsantrasyonda ABTS⁺ katyon radikali süpürme kapasitelerinin karşılaştırılması

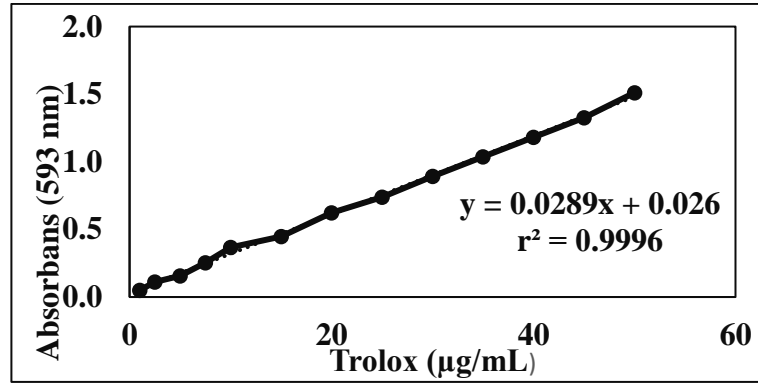
Ekstreler	% İnhibisyon (50 µg/mL)
Etanol	47.02
Metanol	31.37
Su	27.06
n-hekzan	18.07
Troloks	88.38

µg: mikrogram, mL: mililitre

ABTS katyon radikali süpürücü kapasite çalışmaları Re ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemle yapılmıştır (Zulueta ve ark., 2009). 734 nm dalga boyunda yapılan ölçümlere yardımıyla % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen bulgulara göre *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen farklı ekstraktlar arasında etanol ekstresindeki % inhibisyon diğer ekstraktlara göre oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP) ait bulgular

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 595 nm'de demir (III) indirgeme/antioksidan gücüne karşılık gelen absorbans değerleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Analiz edilen konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks, demir (III) indirgeme/antioksidan gücü aktivitesi 40 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraktların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi.



Şekil 4. Troloks standart grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda spektrofotometrik yöntemle 593 nm'de demir (III) indirgeme/antioksidan güçlerinin µg Troloks eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) cinsinden karşılaştırılması Çizelge 6'da gösterildi.

Çizelge 6. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda demir (III) indirgeme/antioksidan güçlerinin µgTEAC cinsinden karşılaştırılması

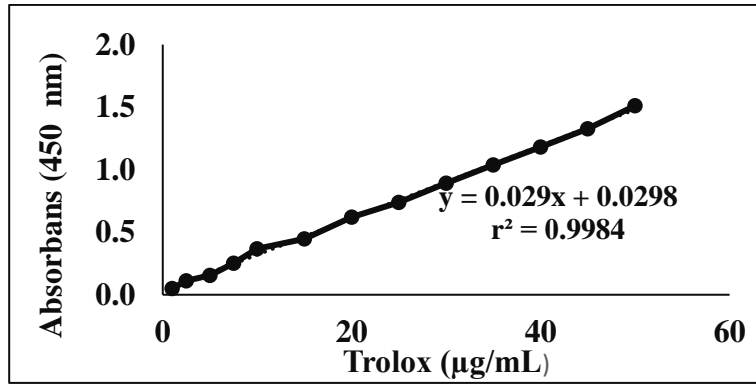
Ekstreler	Troloks (Eq µg/ml)
Etanol	48.05
Metanol	28.07
Su	36.17
n-hekzan	23.09

Eq: ekivalan, µg: mikrogram, mL: mililitre

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarından en yüksek demir iyonu indirgeyici antioksidan güç kapasitesine sahip ekstraktın etanol ekstresi olduğu tespit edildi.

Bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini yöntemi (CUPRAC)

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 450 nm'de Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin metanolden oluşan köre karşı absorbans artışları 450 nm'de okuma yapıldı. Analiz edilecek konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks, Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşme aktivitesi 50 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraktların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi.



Şekil 5. Troloks standart grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda spektrofotometrik yöntemle 450 nm'de Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin µg Troloks eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) cinsinden karşılaştırılması Çizelge 7'de gösterildi.

Çizelge 7. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda Cu (II) neocuproin kompleksinin Cu (I) neocuproine dönüşmesinin µg TEAC cinsinden karşılaştırılması

Ekstreler	Troloks (Eq µg/ml)
Etanol	42.15
Metanol	23.41
Su	33.33
n-hekzan	21.05

Eq: ekivalan, µg: mikrogram, mL: mililitre

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarından en yüksek bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesine sahip ekstrenin etanol ekstresi olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin analizi sonucunda daha çok etanol ekstresinde olmak kaydıyla metanol, su ve n-hekzan ekstraktlarında yüksek antioksidan aktivite, yüksek indirgeyici güç ve total fenolik bileşik bakımından zengin olduğu tespit edildi. Bu özelliği *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin içerdiği bileşiklerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu bilgiler ışığında, sağlığını belirlemek, menşeyini kontrol etmek, kalite kontrolünü gerçekleştirmek ve ayrıca endüstriyel ürünlerin seçimini hedeflemek için bilgi sağlayabilir. Bileşik izolasyonu için bitkinin en aktif fraksiyonu seçilebilir, diğer tüm fraksiyonlar karıştırılabilir, sinerjizm açısından test edilebilir ve ayrıca kabul edilebilir dozaj formlarında formüle edilebilir. Etnomedikal ve farmakolojik kanıtlar ve bitkinin kozmetik gibi çeşitli alanlarda kullanılmasından dolayı, bitki terapötik faydası için araştırılabilir ve daha fazla çalışılabilir. Mevcut çalışmanın tek amacı, kitleler tarafından kabul edilebilirliğini artırmak için modern bulgularla desteklenen halk hekimliğinde kullanılan formülasyonların gizli potansiyelini ortaya çıkarmaya destek olmaktır. Bu çalışma sonuçlarının son zamanlarda artan çalışmalara katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Çelik S. 2006. A novel total antioxidant capacity measurement for food and plasma antioxidants: CUPRAC method OP-104. *The Febs Journal*, 273.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, Altun M. 2005. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free radical research*, 39: 949-961
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- Erdem S, Eren AP. 2009. Tedavi amaçlı kullanılan bitkiler ve bitkisel ürünlerin yan etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66(3): 133-141.
- Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS. 2011. Geçmisten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(19): 52-67.
- Hamid A, Aiyelaagbe O, Usman L, Ameen O, Lawal A. 2010. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of pure and applied chemistry*, 4: 142-151.
- Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53: 1841-1856.
- Kutlu Z, Celik M, Bilen A, Halıcı Z, Yıldırım S, Karabulut S, Karakaya S, Delimustafaoğlu F, Aydın P. 2020. Effects of umbelliferone isolated from the *Ferulago pauciradiata* Boiss. & Heldr. Plant on cecal ligation and puncture-induced sepsis model in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110206.
- Kutlu Z, Dumlu F, Berktaş AO, Odabasoglu F. 2020. Investigation of In Vitro Antioxidant Activity of *Glycyrrhiza glabra* and *Syzygium aromaticum* Extracts. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(1):55-58
- Li TS, Beveridge TH. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) production and utilization. Baskı. NRC Research Press, 2003.
- Malinowska P, Olas B. 2016. Sea buckthorn—valuable plant for health. *Kosmos*, 2: 285-292.
- Mathew S, Abraham TE. 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, 94: 520-528.
- Mitsuda H. 1966. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to shokuryo*, 19: 210-221
- Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. 2006. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 103: 59-65.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannale A, Yang, M, Rice C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Rösch D, Bergmann M, Knorr D, Kroh LW. 2003. Structure— antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51: 4233-4239.
- Slinkard K, Singleton VL. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28: 49-55.
- Sözgen K, Cekic SD, Tütem E, Apak R. 2006. Spectrophotometric total protein assay with copper (II)—neocuproine reagent in alkaline medium. *Talanta*, 68: 1601-1609
- Yen GC, Chen HY. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 43: 27-32.
- Zulueta A, Esteve MJ, Frigola A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114: 310-316.

Atf İçin: Kuntoğlu M, 2021. Strenx 1100 Çeliğinin MMY Yardımıyla Sert Frezelenmesinde Enerji Tüketimi Üzerine Çalışma. İğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3003-3013.

To Cite: Kuntoğlu M, 2021. Study on Consumed Energy of Strenx 1100 Steel During MQL Assisted Hard Milling. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3003-3013.

Strenx 1100 Çeliğinin MMY Yardımıyla Sert Frezelenmesinde Enerji Tüketimi Üzerine Çalışma

Mustafa KUNTOĞLU

ÖZET: Strenx 1100, yüksek çekme ve akma dayanımı özellikleri sayesinde denizcilik, vinç ve nakliye gibi kritik mühendislik uygulamalarında kullanılan bir yapısal çeliktir. Mekanik özelliklerinden gelen avantajlarına rağmen, yine bu özellikler malzemeden talaş kaldırmayı güçleştirmektedir. Bu sebeple yüksek kesme kuvvetlerine ihtiyaç duyulması nedeniyle yüksek miktarda enerji tüketimi ortaya çıkar. Bu sorunun üstesinden gelmek için, son zamanlarda, birçok yazar minimum miktarda yağlama (MMY) destekli işleme öne sürülmüştür. Bu bağlamda, bu çalışma Strenx 1100 çeliğinin MMY destekli yüzey frezelemesinde tüketilen enerjiyi ölçerek analiz etmeyi amaçlamaktadır. Bu amaçla elde edilen deneysel sonuçlar 3 şekilde değerlendirilmiştir: grafikler üzerinden analiz, ANOVA tabanlı istatistiksel değerlendirme ve sinyal / gürültü (S / N) oranına dayalı optimizasyon. Deneysel, Taguchi yardımıyla L9 ortogonal dizi tasarımı, üç seviyede kesme hızı, ilerleme ve talaş derinliği kullanılarak uygulanmıştır. Elde edilen bulgulara göre kesme hızı, katkı oranı (% 46.28) ve P değerine (0.048 < 0.05) göre enerji tüketiminde en etkili parametredir, bu arada ilerleme hızı (% 23.6) ve kesme derinliğinin (% 27.8) tüketilen enerji üzerinde önemli katkıları vardır. Görünüşe göre, 3D grafikler incelendiğinde, tüketilen enerji için genel eğilimin, daha yüksek kesme hızı ve talaş derinliği değerleri ve daha düşük ilerleme değerleri için arttığı gözlenmiştir. Bu durum, S / N oranlarıyla elde edilen $v_c=75$ m/dak, $f=0.25$ mm, $a_p=0.225$ mm/dev optimal çözümlerle doğrulanmıştır. Gerçekleştirilen deneyler ve daha ileri analizler, sert malzemelerin MMY ile destekli işleminde endüstriyel uygulamalar için önemli bir rehberlik sağlar.

Anahtar Kelimeler: Strenx 1100, Enerji, MMY, Sert Frezeleme

Study on Consumed Energy of Strenx 1100 Steel During MQL Assisted Hard Milling

ABSTRACT: Strenx 1100 is a structural steel utilized in the critical engineering applications such as marine, crane and transportation thanks to its high tensile and yield strength properties. Despite its advantages coming from mechanical properties, hard-to-cut structure of this material makes difficult the metal removing. Therefore, high amount of energy consumption reveals due to the requirement of high cutting forces. In order to overcome this problem, recently, minimum quantity lubrication (MQL) supported machining have been introduced from many authors. In this context, this study aims to measure and analyze the consumed energy in MQL assisted surface milling of Strenx 1100 steel. For this purpose, experimental results were evaluated by three methods: analysis on graphs, ANOVA based statistical evaluation and signal to noise (S/N) ratio based optimization. In the experiments, with the help of Taguchi, L9 orthogonal array design was adopted using three levels of cutting speed, feed rate and depth of cut. According to the obtained findings, cutting speed is the most effective parameter according to contribution rate (46.28%) and P value (0.048<0.05), meanwhile feed rate (23.6%) and depth of cut (27.8%) have important contributors on the consumed energy during milling. Seemingly, general trend for the consumed energy is about to increase with higher values of cutting speed and depth of cut and lower values of feed rate according to 3D plots. This situation is confirmed with optimal solutions as $v_c=75$ m/min, $f=0.25$ mm, $a_p=0.225$ mm/rev achieved by S/N ratios. Conducted experiments and further analysis provide an important guidance for the industrial applications in MQL reinforced machining of hard materials.

Keywords: Strenx 1100, Energy, MQL, Hard Milling

¹Mustafa KUNTOĞLU ([Orcid ID: 0000-0002-7291-9468](https://orcid.org/0000-0002-7291-9468)), Selçuk Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Makina Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Mustafa KUNTOĞLU, e-mail: mkuntoglu@selcuk.edu.tr

INTRODUCTION

With the consumption of natural sources, resource saving has been considered more importantly in nowadays. Eco-friendly and sustainable methods gained popularity with strict government prosecutions all over the world. Manufacturing industries are responsible for a great deal of part of the consumed energy according to the previous reports (Duflou et al., 2012; Park et al., 2009). Machining industries cover large part of this energy which also shows their potential for that purpose (Bilga, et al., 2016; Shokrani et al., 2018). The mechanical energy required for the machine tools is converted from the electrical energy which can be produced by renewable or non-renewable resources in principle (Omer, 2008). The second group leads to carbon emission which has extremely harmful effects on ecology of the planet (Mulyadi et al., 2015). Therefore, reducing energy demand will not only provide commercial income but also help to solve a global crisis (Liu et al., 2015). In addition, 99% of the environmental problems of machining processes originate from the electrical energy consumption (Qun and Weimin, 2012). In this context, many initiatives have been found in the past, especially for the new generation materials and methods as per the requirements of the industries. MQL is an increasing trend in the way of resource saving, eco-friendly and sustainable machining. As it will be explained in the later paragraphs, general outlook of the machinability studies of hard materials is demonstrated in Figure 1.

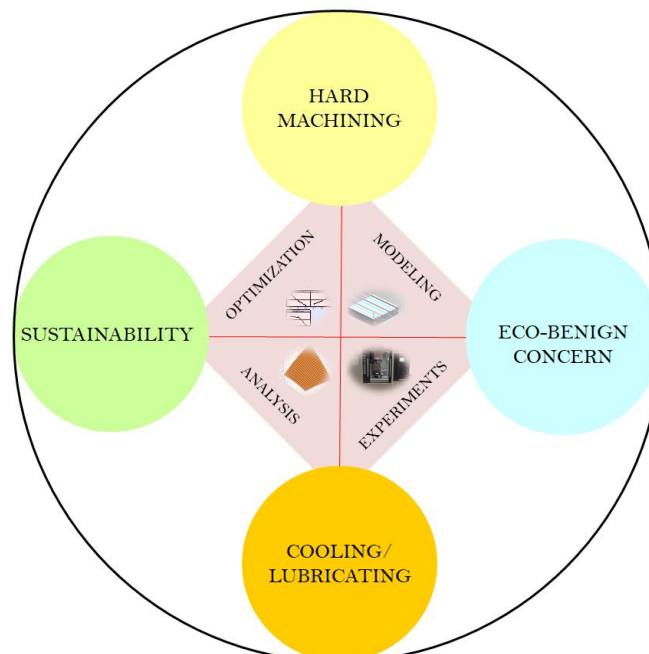


Figure.1. General outlook of the machinability studies of hard materials

A special type of the structural steel, Strenx 1100 is highly preferred for the constructions require light and strong mechanical properties. For example, load-bearing implementations viz. heavy vehicles, excavators, cranes and loaders are the well-established representatives (Lisiecka et al., 2017; SSAB, 2021). These large dimensional structures are created by welding of cut-to-length samples of Strenx 1100 steel due to its yield and tensile strength properties. For the well-manufactured joining of these structures, high precision welding grooves need further machining operations. Therefore, milling operation need to be applied for these sheet metal parts. However, hard-to-cut featured characteristic of Strenx 1100 make the machining operations difficult which necessitates detailed investigation. Similarly as mentioned on the last paragraph, in here, MQL is a good alternative in order to improve the machining quality of hard materials.

Hard materials are employed in industry due to high quality mechanical properties such as strength, resilience to corrosion and oxidation and long service conditions. However, compared to conventional materials, their special composition do not allow for the expected results which can be characterized with low surface integrity and tool life (Das et al., 2019; Kene and Choudhury, 2019; Sun et al., 2010). Main cause in here is excessive cutting forces and temperatures and their remarkably adverse effect on machinability (Hosseini et al., 2014). In order to surpass these challenges, cooling/lubrication systems have been developed especially for the last decade (Abbas et al., 2019; Benedicto et al., 2017; Gupta et al., 2018; Gupta et al., 2021). MQL is an eco-friendly and self-optimized technique which aims to send minimum amount of coolant/lubricant to the cutting zone with the help pressured air. A nozzle placed to the close point of the contact area between tool and workpiece and sprays the pulverized oil. Primary advantage of this method compared to traditional flood cooling is not only economical usage of the fluid but also being capable of providing tremendous improvement in machinability.

Due to the energy consumption is an important issue in engineering applications, optimization approaches have been introduced in CNC milling. Some researchers (Xu et al., 2016) concerned about the tool path strategy optimization for obtaining minimum energy consumption during milling of Ti6Al4V. Wang et al. utilized artificial bee colony algorithm for determining the milling parameters in order to reduce the energy consumption and milling time as well (Wang et al., 2020). On a comprehensive work, researchers performed classification of prediction study and informed that cooling/lubrication systems cover the 31% part of the all energies (Zhao et al., 2017). Zhang et al. focused on the effect of several milling parameters considering milling power for AISI 1045 steel (Zhang et al., 2020). A group of researchers investigated different models of machine tools on vertical milling of aluminum (Draganescu et al., 2003). They modeled electric motor for estimating the coefficients in order to determine consumed energy. AISI H13 hardened steel machining was investigated by milling also considering the tool wear situation in a study performed before (Liu et al., 2016). Sealy et al. correlated energy consumption and surface integrity during hard milling of AISI H13 (Sealy et al., 2016). Several studies in milling based on optimization, modeling and experimentally tested have been performed (Aramcharoen and Mativenga, 2014; Asrai et al., 2018; Li et al., 2013; Sealy et al., 2016; Yan and Li, 2013; Yoon et al., 2014) which need to be noted in here in order to show the effort in the area.

Energy consumption has been a significant issue in MQL assisted milling of a several type of hardened materials in the past. According to Mulyadi et al. MQL environment provide better energy efficiency and eco-benign opportunity in milling of H13 steel (Mulyadi et al., 2015). Referring to the response surface methodology and Taguchi methods, Mia modeled the milling operation for AISI 4140 steel under MQL environment (Mia, 2018). The author optimized the amount of lubrication using main effects plot and also determined minimum cutting energy conditions. According to the paper from Jamil et al. when comparing the energy efficiency of different cooling/lubricating conditions, MQL showed its superiority both down and up milling of Ti6Al4V (Jamil et al., 2021). Several parameters considered were tried by a researcher team (Vu et al., 2020) who performed experiments under MQL conditions for AISI H13 steel using cutting parameters and workpiece hardness. Khan et al. optimized energy consumption during small quantity cooling condition of milling process for AISI 1045 steel (Khan et al., 2019). In another work, Ti6Al4V milling was investigated using nanofluids in order to identify parameter effects (Jamil et al., 2020). Abbas et al. compared different cooling methods for power consumption in milling of stainless steel (Abbas et al., 2021). Despite a handful of papers

intervened for the energy consumption issue in hard milling, none of them performed a work on Strenx 1100 steel to date.

With reference to the open literature, many initiatives have been done for solving the energy consumption issue of milling in a certain extent. Less work have been revealed for MQL assisted hard milling which needs further research in order to improve the machinability and understand the underlying mechanism. For this aim, this paper includes the milling of Strenx 1100 steel under MQL conditions in order to measure the effect of cutting parameters on consumed energy. It is believed that the study performed will be useful for the industrial applications in the way of sustainable manufacturing.

MATERIALS AND METHODS

Cutting Tool and Workpiece Materials Specifications

A special cutting inserts have been used in the experiments (KORLOY-APXT 1604 PDSR-MM TIN) for milling tests. Each cutting insert was utilized for one experiment. As cutting tool holder (MAS-403 BT 40 ER32 x 70) was used.

Unique properties of Strenx 1100 steel was selected as the workpiece material for surface milling experiments. The test samples have 32 HRC with the dimensions of 100 x 100 x 40 mm. The provided samples have chemical composition and mechanical properties as listed in Table 1 and Table 2 (Kuntoğlu, 2021a, 2021b; SSAB, 2021).

Table 1. Chemical composition of the Strenx 1100 steel (SSAB, 2021)

Element	Fe	C	Si	Mn	P	S	Cr	Cu	Ni	Mo	B
Composition	Bal.	0.21%	0.5%	1.4%	0.02%	0.005%	0.8%	0.3%	3%	0.7%	0.005%

Table 2. Mechanical properties of the material (SSAB, 2021)

Yield Strenght (min. MPa)	Tensile Strenght (MPa)	Elongation (min. %)
1100	1250-1550	10

Machine Tool and Experiments

Milling experiments were performed on a machine tool (DAHLIL). Three milling speeds, feed per tooth and milling depth values were operated for the experiments. The machine tool was rigidly structured for keeping the consistency of the experiments. In addition, extensive preliminary test were carried out for selection of plausible parameters. Regarding the chip formation and chatter vibrations, some parameter groups were eliminated. Finally, nine experiments were performed with the help of Taguchi design. Utilized method, machine tool, energy measurement, MQL assisted milling and evaluation of the data are summarized as graphical abstract in Figure 2.

MQL system utilized in the experiments is separate units, one for the spraying to the cutting zone, nozzle, second for the supply unit for storage the liquid. KT 2000 coded oil was utilized and Werte supplying system for injection of the lubricant. The system has 0.0012 ml amount of lubrication with 0.1 s lubrication time. Spraying nozzle was mounted as close as possible (approximately 100 mm) to the cutting area. In Figure 2 MQL assistance and CNC machine tool can be observed.

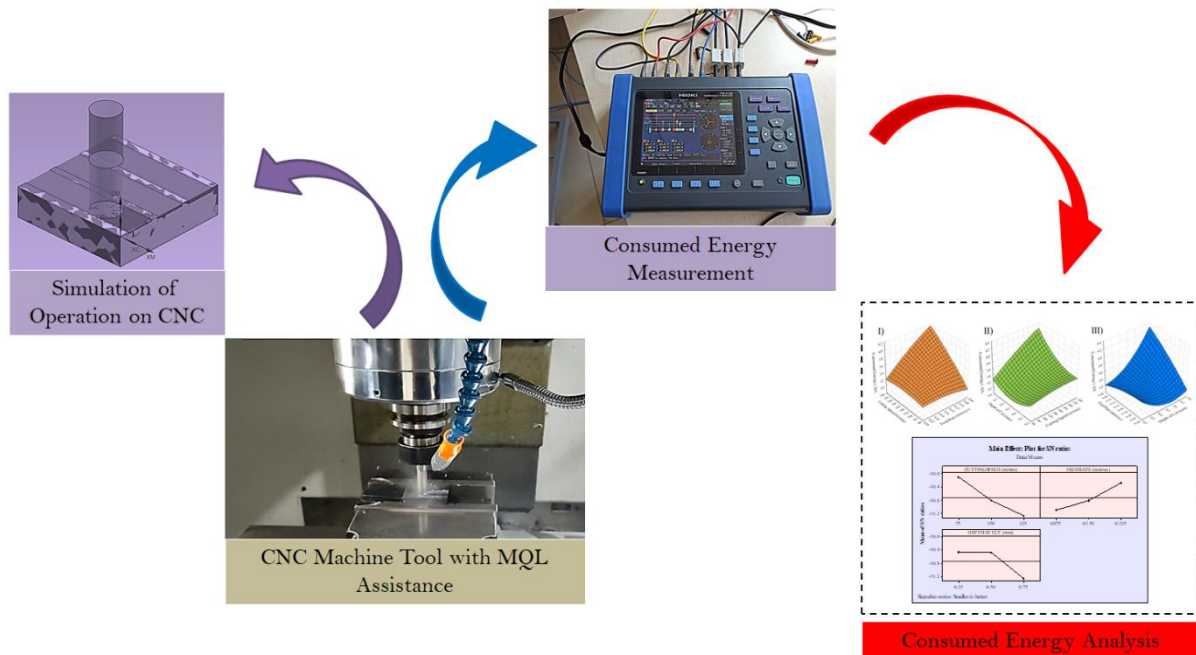


Figure.2. Experimental setup, measurement and graphical abstract

Taguchi Based Experimental Design

Taguchi method was proposed from Genichi Taguchi with the aim of minimum labor and experimental burden for a long time ago. The method also includes modeling and optimization opportunities for a wide range of engineering applications. Taguchi provides self-guaranteed design approach for the experimental tests by using its orthogonal arrays. With minimizing the noise factors, optimum solutions can be obtained with high accuracy. This method was applied in the past especially in manufacturing papers with compatible results. Table 3 summarizes the parameter levels for cutting speed, feed rate and depth of cut according to L₉ experimental design.

Table 3. Taguchi based experimental design

EXPERIMENT NUMBER	Cutting Speed v_c (m/min) A	Feed Rate f (mm/rev) B	Depth of Cut a_p (mm) C
1	1	1	1
2	1	2	2
3	1	3	3
4	2	1	2
5	2	2	3
6	2	3	1
7	3	1	3
8	3	2	1
9	3	3	2

Consumed Energy Measurement

Consumed energy was measured by a power analyzer (HIOKI PW 3198) having high quality standards (IEC 61000-4-30 Class A) (HIOKI, 2021). Obtained data can be easily transferred to Microsoft Excel software for data analysis. The device can measure current, power, voltage and power at the same time. A display enables to monitor the streaming data and waveforms during the cutting operation. The device can be easily connected to the any machine tool for primary DC and secondary AC measurement. Figure 2 illustrates the photo of the device.

RESULTS AND DISCUSSION

Conducted nine experiments, cutting conditions and obtained results of consumed energy are listed in Table 4 in detail. From this point of view, graphical analysis with 3D surface plots, optimization with S/N ratios based on Taguchi method and statistical analysis based on ANOVA are highlighted separately in the following sub-topics.

Table 4. Cutting parameters used in the experiments and obtained surface roughness values (Kuntoğlu, 2021a, 2021b)

EXPERIMENT NUMBER	v_c (m/min)	f (mm/rev)	a_p (mm)	Consumed Energy (kJ)
1	75	0.075	0.25	3.218
2	75	0.15	0.5	3.196
3	75	0.225	0.75	3.2
4	150	0.075	0.5	3.486
5	150	0.15	0.75	3.696
6	150	0.225	0.25	3.258
7	225	0.075	0.75	4.12
8	225	0.15	0.25	3.55
9	225	0.225	0.5	3.346

Graphical Analysis

It is known that the consumed energy for the metal cutting process is related with the required power. This depends on the compulsion of the cutting tool which can be attributed to material removal rate. It was observed that during milling of AISI 1045 steel, with increasing material removal rate, the required energy is increases (Yan and Li, 2013). As represented in Figure 3-a and 3-b, increasing cutting speed increases the consumed energy. During milling of hard material under MQL environment, cutting speed plays a role on energy consumption (Jamil et al., 2020). This can be explained by the effectiveness of cutting speed on material removal rate. It should be noted that at higher milling depth and lower feed rate values, this effect intensifies.

In Figure 3-a and 3-c, the increasing effect of lower feed rate values can be seen. It is attributed that higher values of feed rate reduces the milling time, having more influence of the contribution on material removal rate. In finish hard milling of AISI H13 steel, increasing cutting speed and lower levels of feed per tooth increases the cutting energy (Liu et al., 2018). At some values of depth of cut and cutting speed, feed rate shows fluctuating behavior however, it can be ignored.

General trend of the depth of cut effect is similar with cutting speed. as it can be seen in Figure 3-b and 3-c. It shows increasing effect on the consumed energy with higher values. This effect can be explained with the increasing material removal rate. Higher depth of cut and cutting speed values produces more cutting power, thereby higher cutting energy consumed (Vu et al., 2020). Also, the effect of depth of cut and cutting speed on energy consumption can be observed in hard milling of the Ti6Al4V alloy under MQL conditions (Jamil et al., 2021).

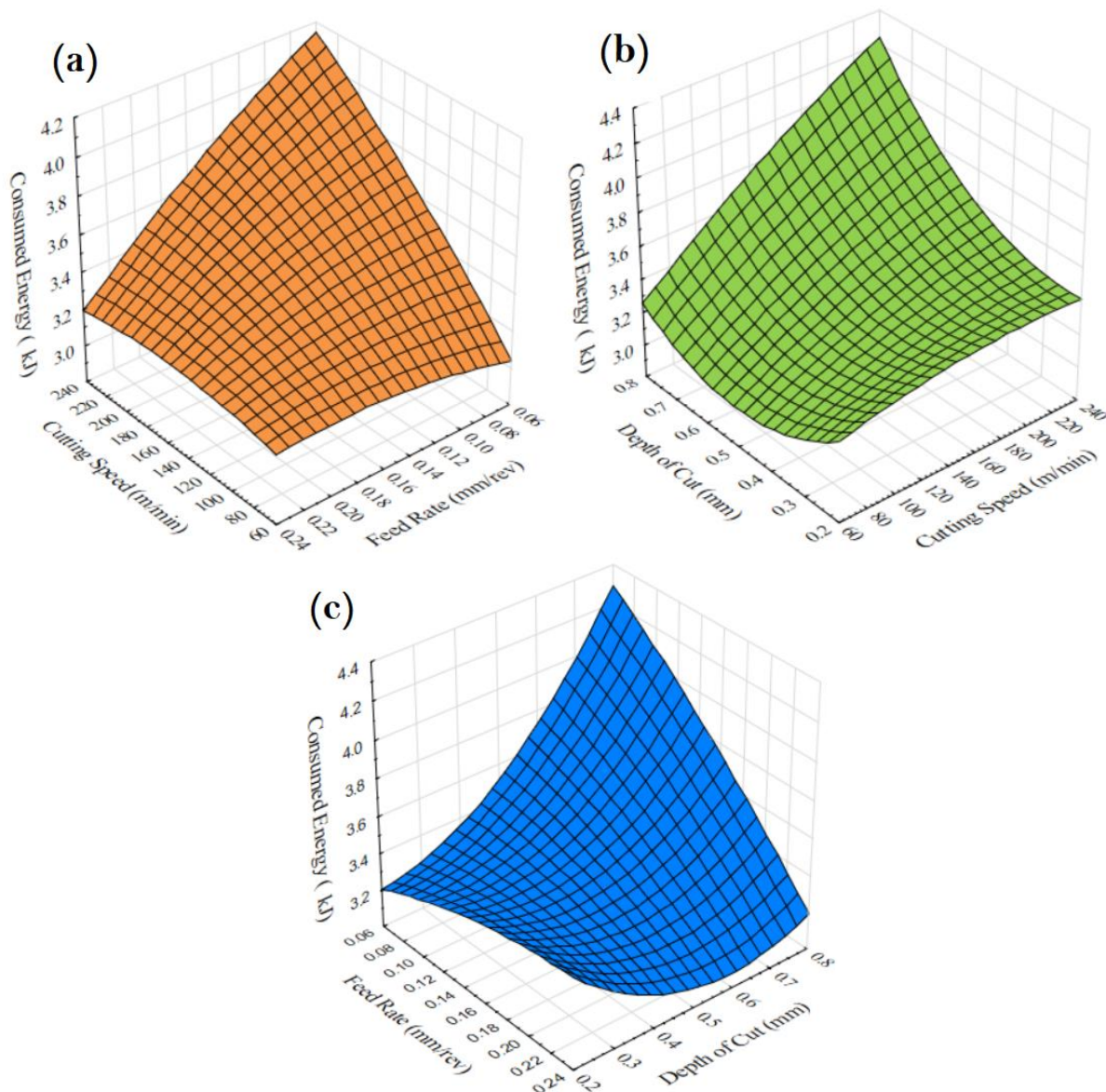


Figure.3. 3D plots for the combined effect of cutting parameters on energy consumption

Optimization of Parameters for Energy Consumption

Optimization of process parameters provides substantial information for the practical applications (Kuntoğlu et al., 2020; Kuntoğlu et al., 2020). A clear change is observable when comparing the effects produced by each parameter level. Figure 4 describes the optimum cutting parameters for energy consumption with applying the S/N ratios of Taguchi method. Actually, in here, individual effects of each input can be observed different from the 3D plots. However, considering these illustrations, similar effects can be clearly seen. Accordingly, lower cutting speed (75 m/min) and depth of cut (0.25 mm) and higher feed rate (0.225 mm/rev) values produces minimum energy. In addition, parametric influences can be discussed by these images and the dominant effect of cutting speed can be clearly seen. The findings are compatible with the 3D surface graphs.

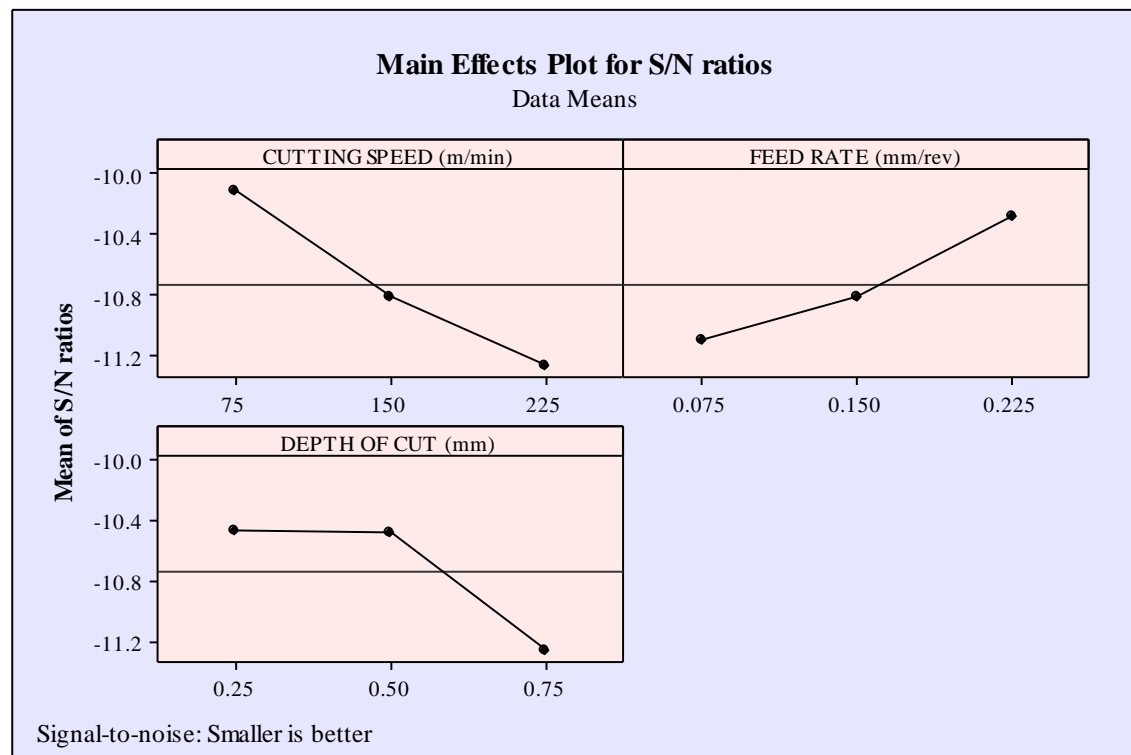


Figure.4. Optimum cutting parameters for minimum energy consumption

Analysis of Variance Results

Table 5 highlights the ANOVA results summarizing the effect of different statistical values. Basically, calculated sum of squares (SS) are converted to percent contribution (PC%) with dividing each parameter value to total value. Also, F value is calculated by dividing the each SS value to the residual error value. According to the PC%, cutting speed (46.28%) is the most influential factor on energy. After that, depth of cut (27.8%) and feed rate (23.6%) has significant contributions respectively. P value of the cutting speed ($0.048 < 0.05$) confirms its importance considering the 95% confidence interval (Kuntoğlu and Sağlam, 2019). And according to F value cutting speed comes first with the value of 19.91, followed by feed depth of cut (11.96) and feed rate (10.15). The main aim with ANOVA results is to quantify the former findings namely 3D surface plots and S/N ratios. Numerical results enlighten the parameter influences which will be useful in the future for determining their priority.

Table 5. Analysis of variance results for energy consumption

Source	DF	Seq. SS	Adj. MS	F value	P value	PC (%)
v_c	2	2.0132	1.0066	19.91	0.048	46.28
f	2	1.0268	0.51342	10.15	0.09	23.6
a_p	2	1.2099	0.60495	11.96	0.077	27.8
Residual Error	2	0.1011	0.05057	-	-	2.32
Total	8	4.3511	-	-	-	100

CONCLUSION

The obtained findings from this paper are listed below:

1. Statistical evaluation exhibited the major impact of cutting speed (46.28% with percent contribution, $0.048 < 0.05$ with P value and 19.91 with F value) over feed rate (23.6% with percent contribution, $0.05 < 0.09$ with P value and 10.15 with F value) and depth of cut (27.8 with percent

contribution, $0.05 < 0.077$ with P value and 11.96 with F value). This implies that cutting speed optimization take significant part in milling's energy consumption reduction.

2. Minimum depth of cut (0.25 mm), cutting speed (75 m/min) and higher feed rate values (0.225 mm/rev) are recommended for obtaining low energy consumption at first. Respectively, each parameter play an important role on energy consumption such as: lower depth of cut reduces material removal rate, higher cutting speed produces lower cutting forces and higher feed rate reduces the machining time.
3. With respect to 3D surface plots, from 75 m/min to 225 m/min, from 0.225 mm/rev to 0.075 mm/rev and 0.25 mm to 0.75 mm, the curve of consumed energy shows mostly increasing trends. In this context, 3D graphs support the findings belong to statistical analysis and S/N ratios which shows the results are compatible and justifiable.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest.

Author's Contributions

The author declares that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Abbas AT, Anwar S, Abdelnasser E, Luqman M, Qudeiri JEA, Elkaseer A, 2021. Effect of Different Cooling Strategies on Surface Quality and Power Consumption in Finishing End Milling of Stainless Steel 316. *Materials*, 14(4): 903.
- Abbas AT, Benyahia F, El Rayes MM, Pruncu C, Taha MA, Hegab H, 2019. Towards optimization of machining performance and sustainability aspects when turning AISI 1045 steel under different cooling and lubrication strategies. *Materials*, 12(18): 3023.
- Aramcharoen A, Mativenga PT 2014. Critical factors in energy demand modelling for CNC milling and impact of toolpath strategy. *Journal of cleaner production*, 78: 63-74.
- Benedicto E, Carou D, Rubio E, 2017. Technical, economic and environmental review of the lubrication/cooling systems used in machining processes. *Procedia engineering*, 184: 99-116.
- Bilga PS, Singh S, Kumar R, 2016. Optimization of energy consumption response parameters for turning operation using Taguchi method. *Journal of cleaner production*, 137: 1406-1417.
- Das A, Pradhan O, Patel SK, Das SR, Biswal BB, 2019. Performance appraisal of various nanofluids during hard machining of AISI 4340 steel. *Journal of Manufacturing Processes*, 46: 248-270.
- Draganescu F, Gheorghe M, Doicin C, 2003. Models of machine tool efficiency and specific consumed energy. *Journal of Materials Processing Technology*, 141(1): 9-15.
- Dufloy JR, Sutherland JW, Dornfeld D, Herrmann C, Jeswiet J, Kara S, Kellens K, 2012. Towards energy and resource efficient manufacturing: A processes and systems approach. *CIRP annals*, 61(2): 587-609.
- Gupta MK, Pruncu CI, Mia M, Singh G, Singh S, Prakash C, Gill HS, 2018. Machinability investigations of Inconel-800 super alloy under sustainable cooling conditions. *Materials*, 11(11): 2088.
- Gupta MK, Song Q, Liu Z, Sarikaya M, Mia M, Jamil M, Kuntoğlu M, 2021. Tribological Performance Based Machinability Investigations in Cryogenic Cooling Assisted Turning of α - β Titanium Alloy. *Tribology International*, 107032.
- HIOKI, 2021. <https://assets.testequity.com/te1/Documents/pdf/hioki/PW3198.pdf>.

- Hosseini S, Beno T, Klement U, Kaminski J, Rytberg K, 2014. Cutting temperatures during hard turning—Measurements and effects on white layer formation in AISI 52100. *Journal of Materials Processing Technology*, 214(6): 1293-1300.
- Imani Asrai R, Newman ST, Nassehi A, 2018. A mechanistic model of energy consumption in milling. *International Journal of Production Research*, 56(1-2): 642-659.
- Jamil M, Khan AM, Hegab H, Gupta MK, Mia M, He N, Liu Z, 2020. Milling of Ti–6Al–4V under hybrid Al₂O₃-MWCNT nanofluids considering energy consumption, surface quality, and tool wear: a sustainable machining. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 107(9): 4141-4157.
- Jamil M, Zhao W, He N, Gupta MK, Sarikaya M, Khan AM, Pimenov DY, 2021. Sustainable milling of Ti–6Al–4V: A trade-off between energy efficiency, carbon emissions and machining characteristics under MQL and cryogenic environment. *Journal of cleaner production*, 281: 125374.
- Kene AP, Choudhury SK, 2019. Analytical modeling of tool health monitoring system using multiple sensor data fusion approach in hard machining. *Measurement*, 145: 118-129.
- Khan AM, Jamil M, Salonitis K, Sarfraz S, Zhao W, He N, Zhao G, 2019. Multi-objective optimization of energy consumption and surface quality in nanofluid SQCL assisted face milling. *Energies*, 12(4): 710.
- Kuntoğlu M, 2021a. Surface Roughness Evaluation in Milling of Strenx 1100 Steel under MQL Conditions. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (25): 509-516.
- Kuntoğlu M, 2021b. Tool Flank Wear Analysis for MQL Assisted Milling of Strenx 1100 Structural Steel. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*.
- Kuntoğlu M, Aslan A, Pimenov DY, Giasin K, Mikolajczyk T, Sharma S, 2020. Modeling of cutting parameters and tool geometry for multi-criteria optimization of surface roughness and vibration via response surface methodology in turning of AISI 5140 steel. *Materials*, 13(19): 4242.
- Kuntoğlu M, Aslan A, Sağlam H, Pimenov DY, Giasin K, Mikolajczyk T, 2020. Optimization and Analysis of Surface Roughness, Flank Wear and 5 Different Sensorial Data via Tool Condition Monitoring System in Turning of AISI 5140. *Sensors*, 20(16): 4377.
- Kuntoğlu M, Sağlam H, 2019. Investigation of progressive tool wear for determining of optimized machining parameters in turning. *Measurement*, 140: 427-436.
- Kurc-Lisiecka A, Piwnik J, Lisiecki A, 2017. Laser welding of new grade of advanced high strength steel STREX 1100 MC. *Archives of Metallurgy and Materials*, 62.
- Li L, Yan J, Xing Z, 2013. Energy requirements evaluation of milling machines based on thermal equilibrium and empirical modelling. *Journal of cleaner production*, 52: 113-121.
- Liu N, Zhang Y, Lu W, 2015. A hybrid approach to energy consumption modelling based on cutting power: a milling case. *Journal of cleaner production*, 104: 264-272.
- Liu Z, Guo Y, Sealy M, Liu Z, 2016. Energy consumption and process sustainability of hard milling with tool wear progression. *Journal of Materials Processing Technology*, 229: 305-312.
- Liu Z, Sealy MP, Li W, Zhang D, Fang X, Guo Y, Liu Z, 2018. Energy consumption characteristics in finish hard milling. *Journal of Manufacturing Processes*, 35: 500-507.
- Mia M, 2018. Mathematical modeling and optimization of MQL assisted end milling characteristics based on RSM and Taguchi method. *Measurement*, 121: 249-260.
- Mulyadi IH, Balogun VA, Mativenga PT, 2015. Environmental performance evaluation of different cutting environments when milling H13 tool steel. *Journal of cleaner production*, 108: 110-120.

- Omer AM, 2008. Energy, environment and sustainable development. *Renewable and sustainable energy reviews*, 12(9): 2265-2300.
- Park CW, Kwon KS, Kim WB, Min BK, Park SJ, Sung IH, Seok J, 2009. Energy consumption reduction technology in manufacturing—A selective review of policies, standards, and research. *International journal of precision engineering and manufacturing*, 10(5): 151-173.
- Qun S, Weimin Z, 2012. Carbon footprint analysis in metal cutting process. Paper presented at the Proceedings of the 1st International Conference on Mechanical Engineering and Material Science.
- Sealy MP, Liu Z, Guo Y, Liu Z, 2016. Energy based process signature for surface integrity in hard milling. *Journal of Materials Processing Technology*, 238: 284-289.
- Sealy MP, Liu Z, Zhang D, Guo Y, Liu Z, 2016. Energy consumption and modeling in precision hard milling. *Journal of cleaner production*, 135: 1591-1601.
- Shokrani A, Dhokia V, Newman ST, 2018. Energy conscious cryogenic machining of Ti-6Al-4V titanium alloy. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B: Journal of Engineering Manufacture*, 232(10): 1690-1706.
- SSAB, (2021). <https://www.ssab.com.tr/api/sitecore/Datasheet/GetDocument?productId=6A0A9E9AF58C4AA2A29FC15CA0CE2590&language=en>.
- Sun S, Brandt M, Dargusch M, 2010. Thermally enhanced machining of hard-to-machine materials—a review. *International Journal of Machine Tools and Manufacture*, 50(8): 663-680.
- Vu NC, Dang XP, Huang SC, 2020. Multi-objective optimization of hard milling process of AISI H13 in terms of productivity, quality, and cutting energy under nanofluid minimum quantity lubrication condition. *Measurement and Control*, 0020294020919457.
- Wang W, Tian G, Chen M, Tao F, Zhang C, Abdulrahman AA, Jiang Z, 2020. Dual-objective program and improved artificial bee colony for the optimization of energy-conscious milling parameters subject to multiple constraints. *Journal of cleaner production*, 245: 118714.
- Xu K, Luo M, Tang K, 2016. Machine based energy-saving tool path generation for five-axis end milling of freeform surfaces. *Journal of cleaner production*, 139: 1207-1223.
- Yan J, Li L, 2013. Multi-objective optimization of milling parameters—the trade-offs between energy, production rate and cutting quality. *Journal of cleaner production*, 52: 462-471.
- Yoon HS, Lee JY, Kim MS, Ahn SH, 2014. Empirical power-consumption model for material removal in three-axis milling. *Journal of cleaner production*. *Journal of Cleaner Production*, 78: 54-62.
- Zhang T, Liu Z, Sun X, Xu J, Dong L, Zhu G, 2020. Investigation on specific milling energy and energy efficiency in high-speed milling based on energy flow theory. *Energy*, 192: 116596.
- Zhao G, Liu Z, He Y, Cao H, Guo Y, 2017. Energy consumption in machining: Classification, prediction, and reduction strategy. *Energy*, 133: 142-157.

Transient structural analysis of a Turbula mixer

Hüseyin BEYTÜT¹, Mahir UZUN², Şemsettin TEMİZ²

ABSTRACT: Powder mixing is a significant step in the manufacturing process of many industrial products such as pharmaceuticals, foodstuffs, plastics, fertilizers, and ceramics. Especially in recent years, with the development of material technology, the importance of powder mixers has increased. But dynamic characteristics of powder mixer is very complex problem. In this paper, a Turbula type mixer has been modeled with the Solidworks® and its nonlinear transient response was investigated by the Finite Element Method (FEM). Finite element analysis (FEA) was used to determine the transient response of the vessel and stirrups under different load conditions. The transient analysis is carried out for different rotation speeds (30, 45, and 60 rev/min) of powder mixer and equivalent stresses on vessel and stirrup were obtained. In addition, 1, 3 and 5 kg mass added to the vessel homogeneously in order to obtain the influence of added mass (represent the powder mass). Results revealed that with increasing rotation speed and added mass, the equivalent stress in the vessel and stirrups increased. Maximum stress occurred in the joint of stirrup and vessel. Commercial software ANSYS Workbench (version 19.2) and nonlinear ANSYS® Mechanical APDL solver have utilized for transient response of powder mixer

Keywords: Powder Mixer Design, Transient Structural Analysis, Finite Element Method, Machine Design

¹Hüseyin BEYTÜT ([Orcid ID: 0000-0001-8751-2225](https://orcid.org/0000-0001-8751-2225)) Bitlis Eren University, Department of Mechanical Engineering, Bitlis, 13000, Turkey, hbeytut@beu.edu.tr,

²Mahir UZUN ([Orcid ID: 0000-0002-0907-6875](https://orcid.org/0000-0002-0907-6875)), mahir.uzun@inonu.edu.tr, Şemsettin TEMİZ ([Orcid ID: 0000-0002-6737-3720](https://orcid.org/0000-0002-6737-3720)), semsettin.temiz@inonu.edu.tr, Malatya İnönü University, Department of Mechanical Engineering, Malatya, 44050, Turkey,

* **Corresponding Author:** Hüseyin BEYTÜT, e-mail: hbeytut@beu.edu.tr

Makale 16-18 Ekim 2020 tarihlerinde Nahçıvan'da düzenlenen "UMTEB INTERNATIONAL CONGRESS ON VOCATIONAL & TECHNICAL SCIENCES-X"da özet bildiri olarak sunulmuştur.

INTRODUCTION

Powder mixers have been widely used in the field of engineering especially in composite material production in recent years and it is an important process for industrial products such as plastics, pharmaceuticals, fertilizers, foodstuffs, cement, and ceramics (Huang and Kuo, 2014; Muzzio et al., 1997; Poux et al., 1991; Rhodes, 1990; Thakur et al., 2003) and it is very important for desired final product quality. The simple description of a powder mixer is that the container is rotated around an axis with the help of a shaft to move around the materials and mix them.

The quality of composites produced from a powder metallurgy process depends on the mixing homogeneity of the powders during the mixing process. Since mixing quality is highly depends on the selection of powders mixer, the choice of mixer type is very important in terms of quality of the mixture (Bridgwater, 2012). To understand characteristic of powder mixer and improve the quality of the mixture; mixing characteristics (Jadhav and Jadhav, 2013), particle size analysis (Obadele et al., 2012) and mixing dynamics (Ammarcha et al., 2013; C Mayer-Laigle et al., 2015) have studied in the literature by many researchers. Also The mechanisms and performance of different type of powder mixer have been studied, including V-blenders (Brone et al., 1997), bin-blenders (Arratia et al., 2006) double-cone blenders (Brone and Muzzio, 2000) and ribbon blenders (Masiuk, 1987). In this Study, Turbula type of powder mixer was chosen because it is one of the most used powder mixer types in the industry.

For a Turbula type powder mixer, the diameter and length of the vessel and radius of the Stirrup are the main dimensions that influence the motion of the powders in the vessel and thus quality of the mixture (C Mayer-Laigle et al., 2015). Therefore, the design of the vessel and stirrups is very important to obtain the desired product.

A recent study (Claire Mayer-Laigle et al., 2019) was investigated the geometric, kinematic and dynamic analysis of 3 different powder mixers by changing the engine speed and compared the results in terms of the quality of mixture. In addition, flow regime is one of the most important factors affecting mixture quality (Henein et al., 1983).

Froude number (equation 1) should be considered in the design of powder mixers for characteristic of powders and mixture quality (Marigo et al., 2012). It is found by the ratio of centrifugal force to gravity (Mellmann, 2001).

$$Fr = \frac{\omega^2 r}{g} \quad (1)$$

Where ω is the angular velocity, r is the radius of vessel and g is the gravity. Studies show that for slow rotation, the effect of the Froude number is insignificant.

Mixing speed is one of the factors that affect the individual particle dynamics and quality of the mixture (Alexander et al., 2002). Thus engine speed is an important parameter for homogeneity. But high engine speed may cause damage to the material of the vessel and stirrups. Therefore, the transient response of the powder mixer should be investigated.

Structural analysis is a study which explains the attitude of a part or a combination of those, under a set of conditions. To carry out a structural analysis, one must define information such as geometry, structural loads, boundary conditions, and material properties. The results of such an analysis typically contain displacements, stresses, and strains (Gupta et al., 2019). Nowadays, thanks to the development of finite element methods and computing technology, analysis of dynamic parts becoming more appropriate, time saved and economical.

In the literature, transient structural analysis of moving parts such as piston and connecting rods (Pham et al., 2017), crankshaft, (Payer et al., 1995) and rotor disc of disc brake (Thilak et al., 2011) have been made using the finite element method. However, the transient structural analysis of powder mixer

is still not completely searched and the studies of this field are limited. When the mass of powder desired to be mixed rises above a certain weight or the increasing rotation speeds for desired quality, equivalent stresses may above the yield limit.

The main objective of this study is structural analysis of a turbula mixer and attempts to obtain the equivalent stress on vessel and stirrups under different load conditions. In this study, the effect of powder mass and rotation speed of turbula mixer was investigated.

MATERIALS AND METHODS

Geometry and Material

Powder mixer was modeled with SolidWorks Software (Fig. 1). The shaft driven by the motor rotates the vessel with the help of stirrups. The other shaft rotates freely and in the opposite direction of the drive shaft. The distance between the shafts is 433 mm. It is very important for the motion of powder mixer.

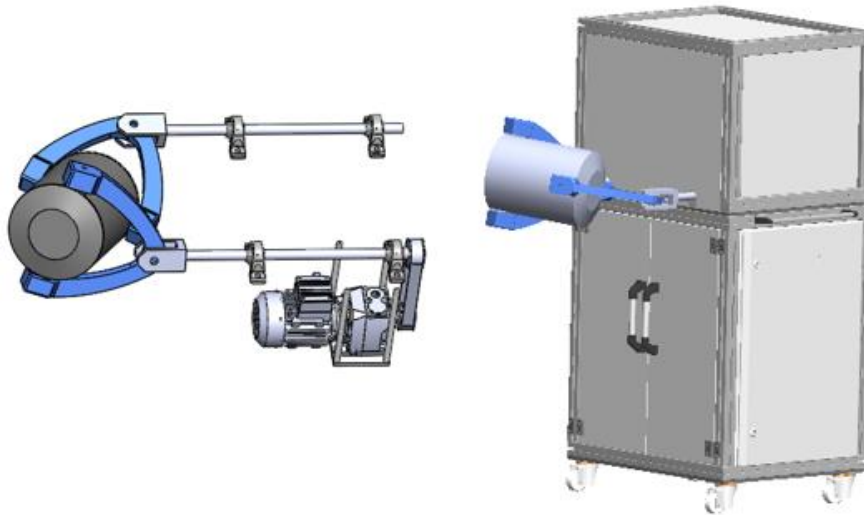


Figure 1. CAD model of powder mixer

The movement of the powder mixer is possible if the center distance between the two stirrups is equal to the radius of the stirrup (Wohlhart, 1981). This criterion was considered in the design of mixer (Fig 2). The dimensions of powder mixer summarized in Table 1.

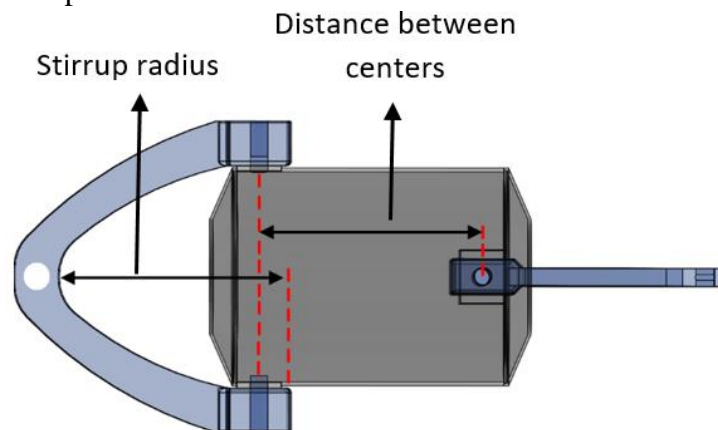


Figure 2. Design of stirrups and Vessel.

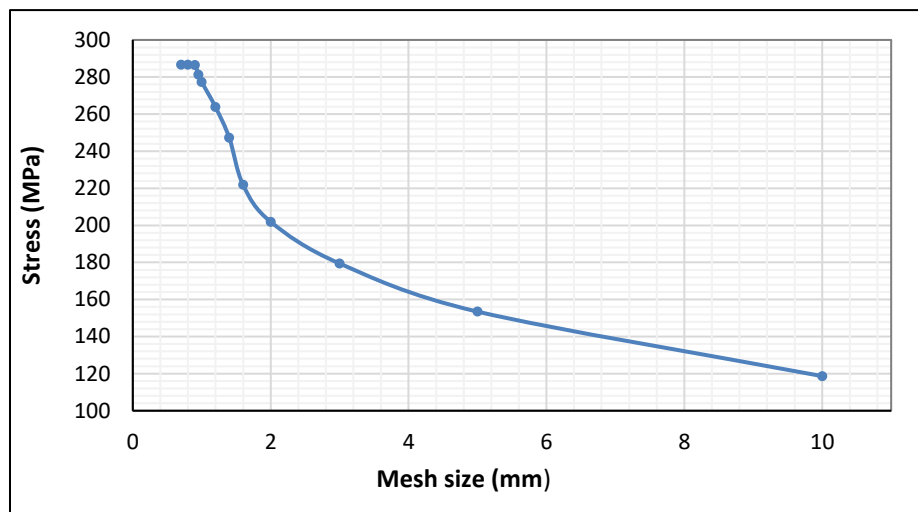
Material of all the parts is aluminum with Young's modulus of 69 GPa, yield strength of 280 MPa and density of 2.7 gr cm^{-3} . Froude number is $1.23 \cdot 10^{-1}$, $2.76 \cdot 10^{-1}$, $4.9 \cdot 10^{-1}$ for 30, 45 and 60 rpm, respectively.

Table 1. Dimensions of the powder mixer

Diameter of the vessel	245 mm
Length of the vessel	300 mm
Radius of the stirrup	255 mm
Distance between the shafts	433 mm
Distance between the stirrups centers	255 mm

Finite Element Model

Since the loads change over the location of the vessel and are a function of time, and we have inertia and damping effects, transient structural analysis was used. For nonlinear controls Newton-Raphson type is utilized. For the time saving and accurate results, it is essential to have fine mesh density mostly in the areas of high-stress and coarser mesh density in areas of low-stress gradients or where the significance of the stresses is not of much concern (Mani et al., 2020). The meshes have been converged in order to get precise results (Fig 3). The element size of 0.9 mm has been used for joint between the vessel and stirrup, while element size of 8 mm has been used for remaining parts. Number of total nodes is 135200 and number of total elements is 81145. The number of solid elements is 67945 and the remaining is the shell elements. Time step is $1 \text{ e}^{-7} \text{ s}$ for all cases. Gravity force ($g=9.8 \text{ m s}^{-2}$) has been taken into account since the effect of gravity cannot be ignored for such analysis.

**Figure 3.** Mesh convergence study

Bearings are restricted from all degrees of freedom. While rotational speed is given to the drive shaft as shown in Figure 4, the other shaft is free and rotates the opposite direction of the drive shaft. Applied displacement may result in geometry nonlinearity and hence large deflection was provided during analysis. Revolute and fixed Joints are used for connection components. Also body to body contact are used with pure penalty formulation.

Transient structural analyses were conducted under different cycles (30, 45 and 60 RPM). In addition, 1, 3 and 5 kg mass added to the vessel homogeneously in order to obtain the influence of powder mass (represent the powder mass). Analysis time 1, 0.75 and 0.5 s for 30, 45 and 60 rpm respectively. Thus, it is ensured that the powder mixer rotates one full turn in all cases. The change in the position of the vessel over time for 30 rpm and 1 kg added mass is given in Figure 5.

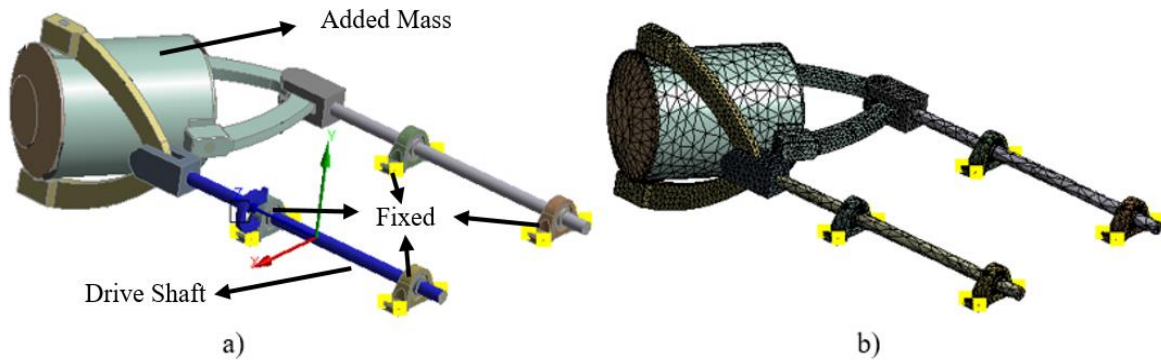


Figure 4. 3D and meshing model in Ansys Workbench. a) 3D model b) Mesh generation.

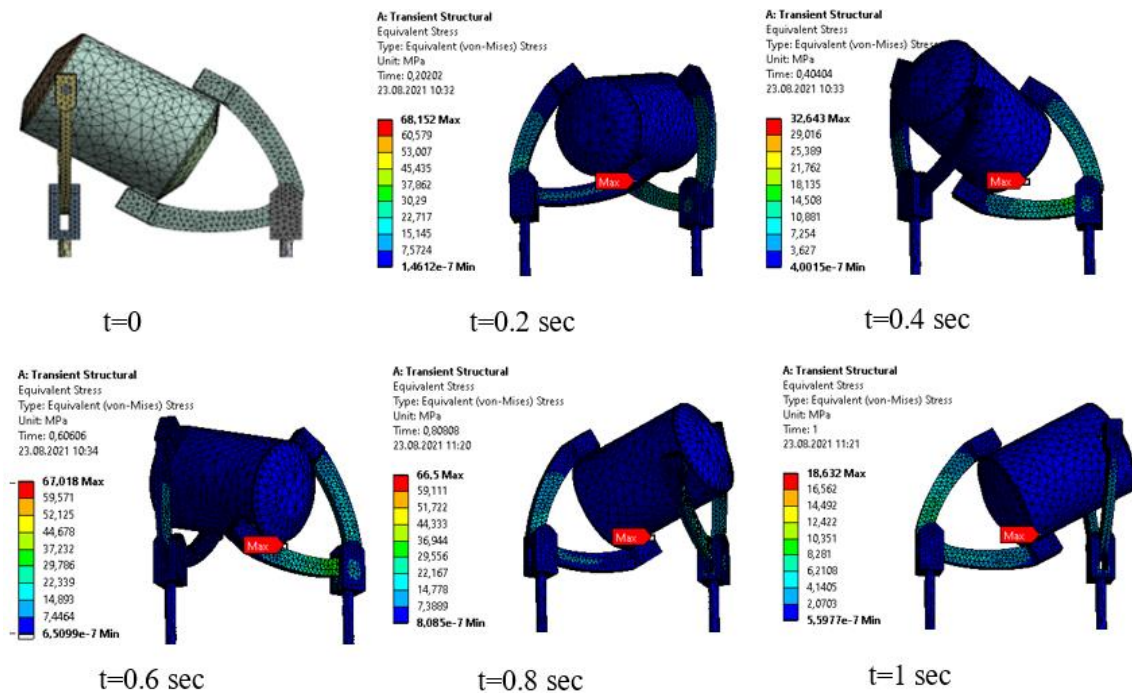


Figure 5. Position of the vessel over time for the case of 30 rpm and 1 kg added mass.

RESULTS AND DISCUSSION

From the comparison of results, the powder mixer does not show a linear relationship between stress and speeds. The highest amount of equivalent stress was obtained at 60 rpm and 5 kg added mass case as expected.

Equivalent stresses occurring in the vessel and stirrup for cases where no mass is added are given in Figures 6 and 7, respectively. As seen in the figures, equivalent stresses occurred in waves, as the forces generated in the vessel varied according to the degree of rotation of the shaft. Stresses on vessel peaked at 10.2° (104.61 MPa) for 30 rpm, 27.4° (170.62 MPa) for 45 rpm, and 25° (230.94 MPa) for 60 rpm. But this situation occurred when the engine was started when one of the stirrups was in the vertical position and the other was in the horizontal position. Peak degrees may vary for different situations. There was also a decrease in equivalent stresses in all cases around 90° . In addition, it can be seen in figure 6 and 7 that the stress distributions occurring between 0-90 degrees and between 90-180 degrees are similar and the wavelength (the distance between the peak points) is higher around 90 degrees and becomes shorter as it moves away from 90 degrees. This is due to the fact that the stirrup, which is perpendicular to the vessel, moves to the parallel position and the stirrup that is parallel to the vessel moves to is perpendicular position. But the stress distributions occurring between 0-90 degrees are

higher. This is probably due to the influence of inertia forces and the difference of static and dynamic friction coefficients.

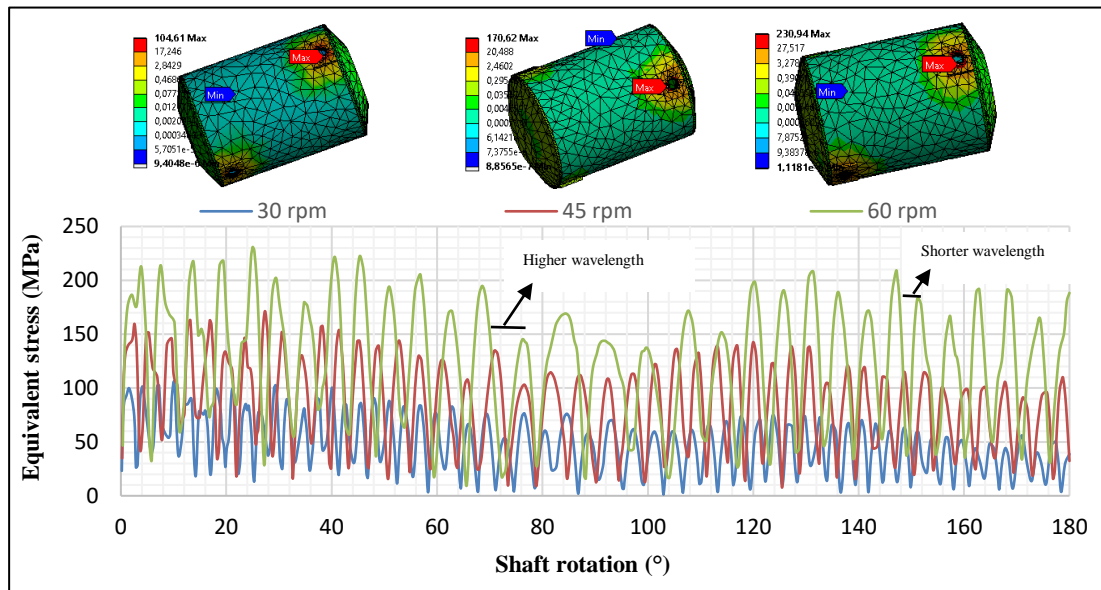


Figure 6. Equivalent stresses on the vessel

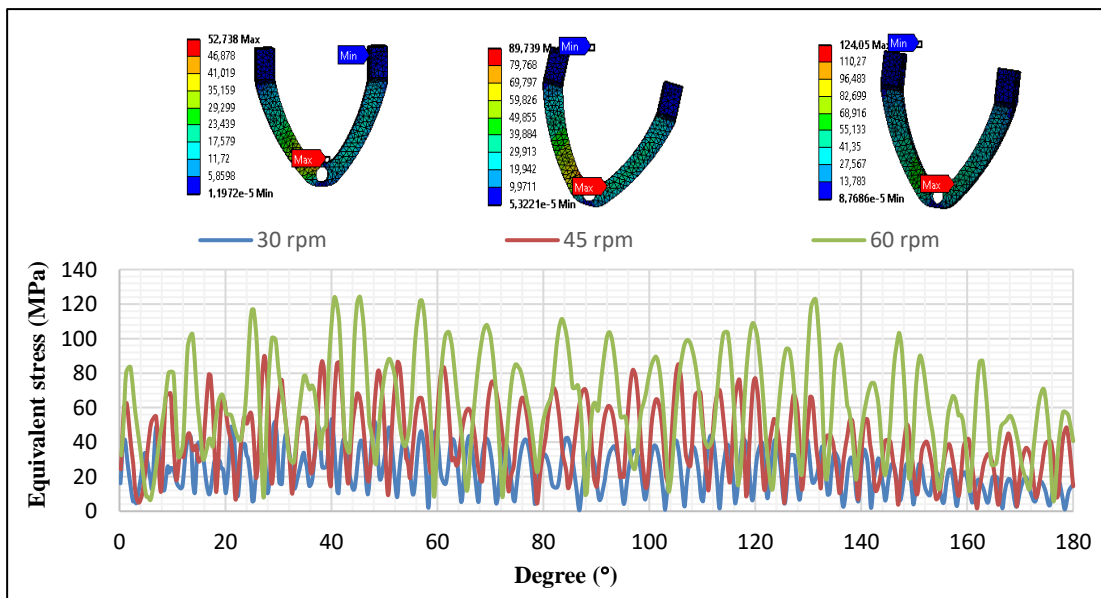


Figure 7. Equivalent stresses on the stirrup

To investigate the effect of the powder mass on the stresses, 1, 3 and 5 kg mass was added homogeneously to the vessel. Equivalent stresses in the vessel and stirrup with the 1 kg added mass are given in Figures 8 and 9, respectively. In order to make the figures more understandable, only peak points of stress fluctuations that occur in mass added situations are given. When the figures are examined, it is seen that there is a decrease in the stresses around 90 degrees. In addition, there were sharper decreases in the stresses formed in the stirrup towards the end.

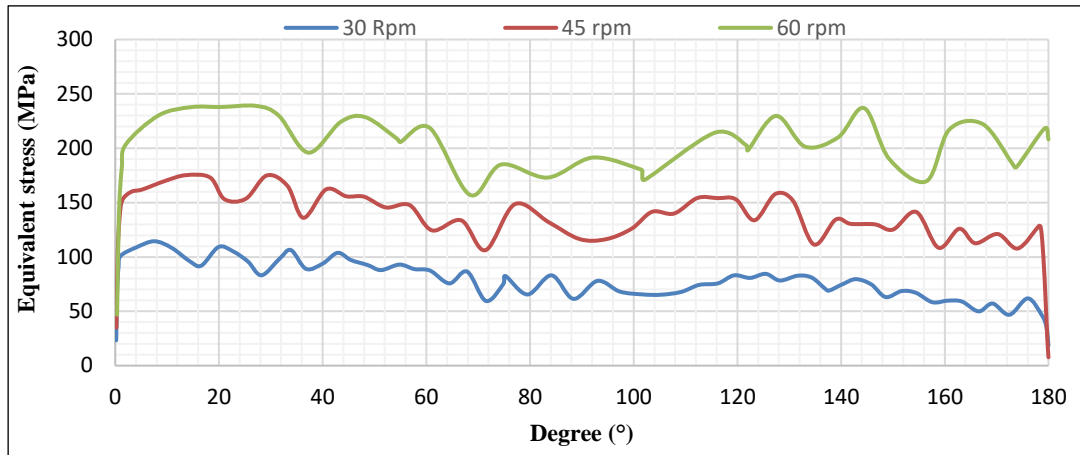


Figure 8. Equivalent stresses on the vessel for 1 kg added mass case

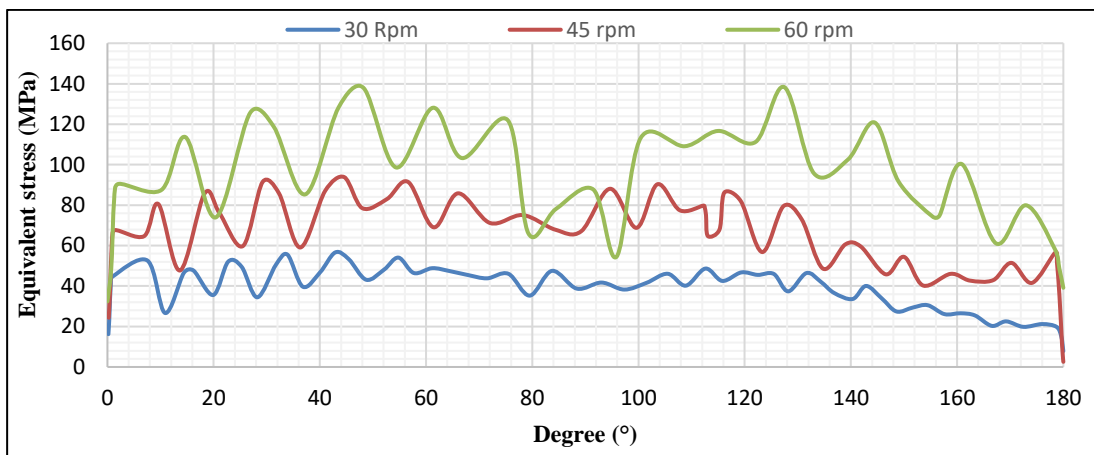


Figure 9. Equivalent stresses on the stirrup for 1 kg added mass case

In the case of 3 kg added mass, the maximum equivalent stress on vessel was 130.45 MPa at 2.09° for 30 rpm, 202.49 MPa at 36.8° for 45 rpm and 270.84 MPa at 30.1° for 60 rpm (Fig.10). Considering that the yield stress of the aluminum material used is 280 MPa and the material is exposed to continuously variable loads, 60 rpm with 5 kg added mass is not suitable for our design. Maximum equivalent stress on stirrup was 67.86 MPa at 37.7° for 30 rpm, 112.44 MPa at 32.5° for 45 rpm and 160.28 MPa at 127° for 60 rpm (Fig.11).

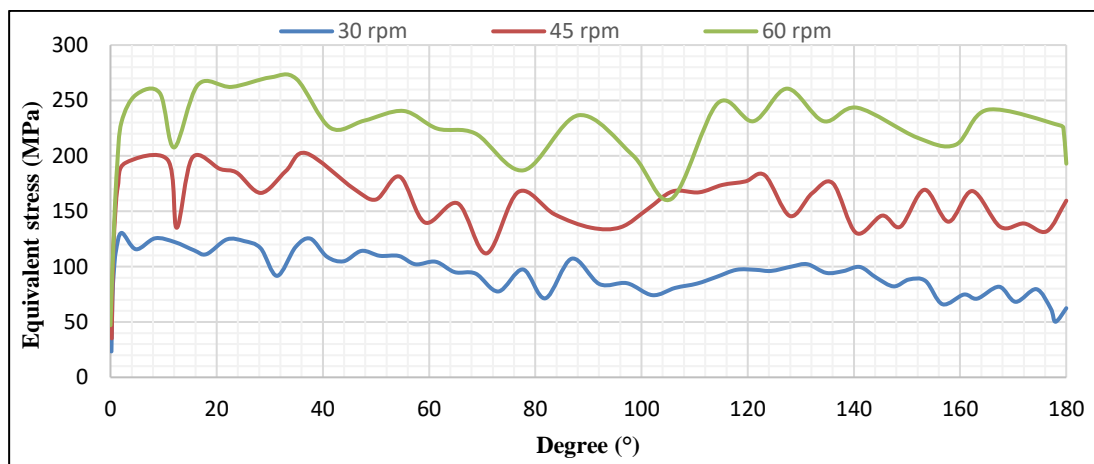


Figure 10. Equivalent stresses on the vessel for 3 kg added mass case

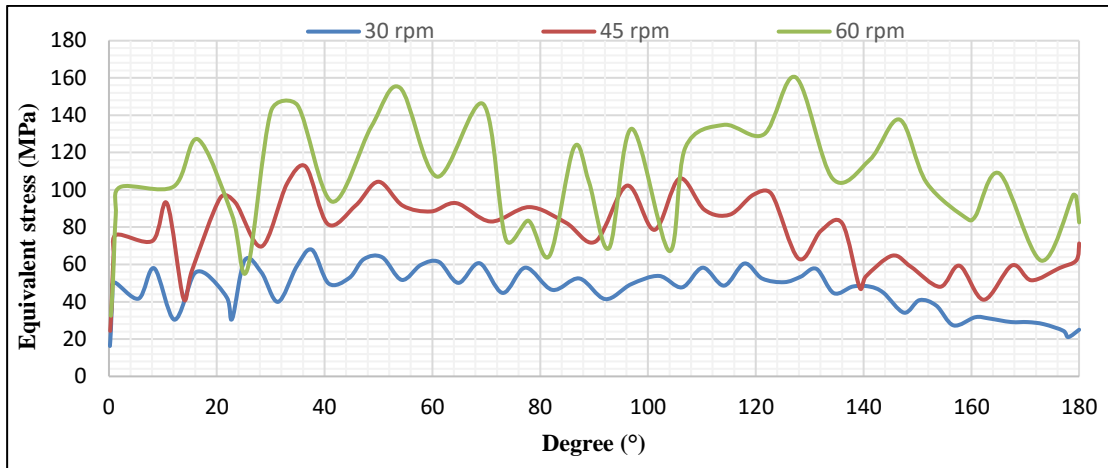


Figure 11. Equivalent stresses on the stirrup for 3 kg added mass case

The equivalent stresses were the highest as expected in cases of 5 kg added mass. Maximum equivalent stress on vessel was 145.54 MPa at 2.54° for 30 rpm, 214.34 MPa at 22.3° for 45 rpm and 301.25 MPa at 38.5° for 60 rpm (Fig. 12). Our design is not suitable for 60 rpm and 5 kg added mass case because the equivalent stress above the yield limit of the material. Maximum equivalent stress on stirrup was 77.29 MPa at 41° for 30 rpm, 127.48 MPa at 39.8° for 45 rpm and 170.86 MPa at 59.9 ° for 60 rpm (Fig. 13).

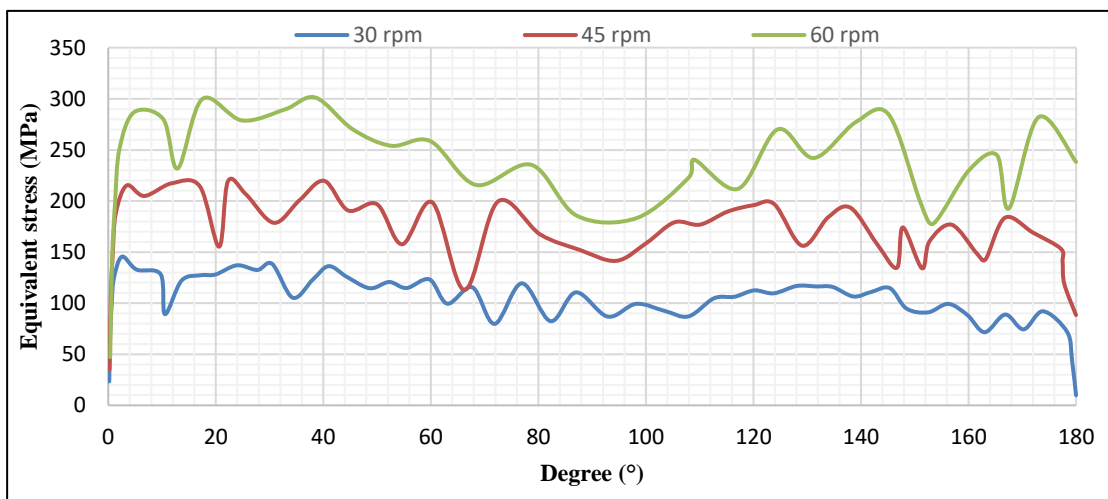


Figure 12. Equivalent stresses on the vessel for 5 kg added mass case

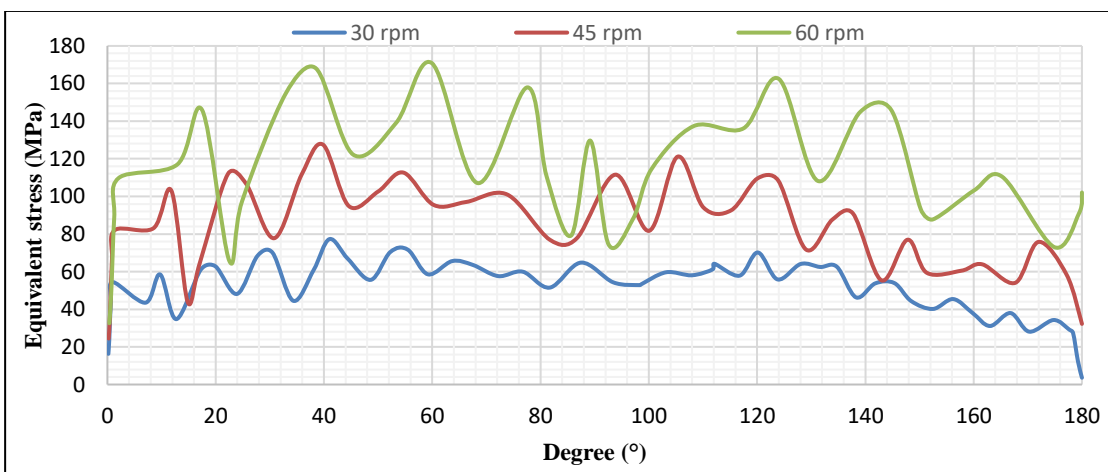


Figure 13. Equivalent stresses on the stirrup for 5 kg added mass case.

CONCLUSION

The present work is a basic comparison of the effect of axis of rotation and added mass on the equivalent stress of a powder mixer undergoing different load conditions in a nonlinear transient structural analysis. According to the structure and characteristics of the material, the equivalent stresses were obtained. An increase in equivalent stresses in the parts of the powder mixer was observed as expected, with increased rotational speed and additional mass. The maximum equivalent stress on vessel and stirrups was obtained for cases of 5 kg added mass and speed of 60 rpm. Maximum equivalent stress on vessel was 301.25 MPa at 38.5° for 60 rpm and Maximum equivalent stress on stirrup was 170.86 MPa at 59.9 ° for 60 rpm.

The results show that a decrease in equivalent stresses in all cases around 90°. In addition, stress distributions occurring between 0°-90° and between 90°-180° are similar and the wavelength (the distance between the peak points) is higher around 90° and becomes shorter as it moves away from 90°. This is due to the fact that the stirrup, which is perpendicular to the vessel, moves to the parallel position and the stirrup that is parallel to the vessel moves to is perpendicular position. But the stress distributions occurring between 0-90° are higher. This is probably due to the influence of inertia forces and the difference of static and dynamic friction coefficients.

When the mass of powder desired to be mixed rises above a certain weight or increasing the rotation speeds for desired quality, equivalent stresses above the yield limit have been observed in the material. Thus, design should be made by taking into consideration the powder mass and rotation speed.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Alexander A, Shinbrot T, Muzzio FJ, 2002. Scaling surface velocities in rotating cylinders as a function of vessel radius, rotation rate, and particle size. *Powder Technology*, 126(2): 174-190.
- Ammarcha C, Gatumel C, Dirion J-L, Cabassud M, Mizonov V, Berthiaux H, 2013. Transitory powder flow dynamics during emptying of a continuous mixer. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 65: 68-75.
- Arratia P, Duong N-h, Muzzio F, Godbole P, Lange A, Reynolds S, 2006. Characterizing mixing and lubrication in the Bohle Bin blender. *Powder Technology*, 161(3): 202-208.
- Bridgwater J, 2012. Mixing of powders and granular materials by mechanical means—a perspective. *Particuology*, 10(4): 397-427.
- Brone D, Muzzio F, 2000. Enhanced mixing in double-cone blenders. *Powder Technology*, 110(3): 179-189.
- Brone D, Wightman C, Connor K, Alexander A, Muzzio F, Robinson P, 1997. Using flow perturbations to enhance mixing of dry powders in V-blenders. *Powder Technology*, 91(3): 165-172.
- Gupta M, Sarkar K, Hodges DH, (2019). *3-D Stress-Strain Histories for Composite Beams in Nonlinear Transient Structural Analysis*. Paper presented at the AIAA Scitech 2019 Forum.
- Henein H, Brimacombe J, Watkinson A, 1983. The modeling of transverse solids motion in rotary kilns. *Metallurgical Transactions B*, 14(2): 207-220.
- Huang A-N, Kuo H-P, 2014. Developments in the tools for the investigation of mixing in particulate systems—A review. *Advanced Powder Technology*, 25(1): 163-173.

- Jadhav P, Jadhav B, 2013. A study on mixing of composite solids in the three dimensional turbula mixer. *International Journal of Advanced Engineering Chieh Kung Research*, 2: 138-141.
- Mani C, Balasubramani S, Karthikeyan R, 2020. Finite element simulation on effect of bevel angle and filler material on tensile strength of 316L stainless steel/Monel 400 dissimilar metal welded joints. *Materials Today: Proceedings*.
- Marigo M, Cairns D, Davies M, Ingram A, Stitt E, 2012. A numerical comparison of mixing efficiencies of solids in a cylindrical vessel subject to a range of motions. *Powder technology*, 217: 540-547.
- Masiuk S, 1987. Power consumption, mixing time and attrition action for solid mixing in a ribbon mixer. *Powder technology*, 51(3): 217-229.
- Mayer-Laigle C, Gatumel C, Berthiaux H, 2015. Mixing dynamics for easy flowing powders in a lab scale Turbula® mixer. *Chemical Engineering Research and Design*, 95: 248-261.
- Mayer-Laigle C, Gatumel C, Berthiaux H, 2019. Scale-up in Turbula® mixers based on the principle of similarities. *Particulate Science and Technology*, 1-12.
- Mellmann J, 2001. The transverse motion of solids in rotating cylinders—forms of motion and transition behavior. *Powder technology*, 118(3): 251-270.
- Muzzio FJ, Robinson P, Wightman C, Brone D, 1997. Sampling practices in powder blending. *International journal of pharmaceuticals*, 155(2): 153-178.
- Obadele B, Masuku Z, Olubambi P, 2012. Turbula mixing characteristics of carbide powders and its influence on laser processing of stainless steel composite coatings. *Powder technology*, 230: 169-182.
- Payer E, Kainz A, Fiedler GA, 1995. Fatigue Analysis of Crankshafts Using Nonlinear Transient Simulation Techniques. *SAE transactions*, 628-634.
- Pham M-N, Yang C-J, Kim J-H, Kim B-G, 2017. Transient Structural Analysis of Piston and Connecting Rods of Reciprocating Air Compressor Using FEM. *Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety*, 23(4): 393-399.
- Poux M, Fayolle P, Bertrand J, Bridoux D, Bousquet J, 1991. Powder mixing: some practical rules applied to agitated systems. *Powder Technology*, 68(3): 213-234.
- Rhodes MJ, 1990. Principles of powder technology.
- Thakur R, Vial C, Nigam K, Nauman E, Djelveh G, 2003. Static mixers in the process industries—a review. *Chemical Engineering Research and Design*, 81(7): 787-826.
- Thilak V, Krishnaraj R, Sakthivel M, Kanthavel K, Marudachalam M, Gual R, 2011. Transient thermal and structural analysis of the rotor disc of disc brake. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 2(8): 1-4.
- Wohllhart K, (1981). *Dynamic analysis of the turbula*. Paper presented at the International symposium on gearing and power transmission, Tokyo.

Atf İçin: Behçet R, Yakın A, 2021. Benzinli Bir Motorda Kullanılan Alkol Katkılı Yakıtların Motor Performans Egzoz Emisyonlarına Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3024-3034.

To Cite: Behçet R, Yakın A, 2021. Effect of Alcohol Additive Fuels Used in a Gasoline Engine on Engine Performance and Exhaust Emissions. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3024-3034.

Benzinli Bir Motorda Kullanılan Alkol Katkılı Yakıtların Motor Performans ve Egzoz Emisyonlarına Etkisi

Rasim BEHÇET¹, Ahmet YAKIN^{2*}

ÖZET: Ülkelerin gelişmişlik düzeyinin artmasına paralel olarak motorlu taşıt sayısında her gün artış meydana gelmektedir. Fosil yakıt ile çalışan taşıtlardan kaynaklanan egzoz emisyonları havayı kirletip çevre ve insan sağlığını tehdit etmektedir. Temiz ve sağlıklı bir yaşam solunan havanın kalitesi ile doğrudan ilişkilidir. Hava kirliliğinin en önemli unsurları fosil kaynaklı yakıtlardır. Hava kirliliğini önlemenin yollarından biride kirliliğe sebep olan fosil kaynaklı yakıtlara alternatif yakıtlar kullanmaktır. Günümüzde taşıtlarda kullanılan fosil kökenli yakıtlara alternatif olabilecek temiz ve yerel yakıtlar, bitkisel ve hayvansal kaynaklı biyoyakıtlardır. Benzinli motorlarda en çok kullanılan alternatif yakıtlar ise alkol tabanlı yakıtlardır. Bu çalışmada, saf benzin içerisine hacimsel olarak %25 oranında metanol ilave edilmesi ile MB25 olarak isimlendirilen karışım yakıt ve yine saf benzin içerisine hacimsel olarak %25 oranında etanol ilave edilmesi ile EB25 olarak isimlendirilen karışım yakıtlar oluşturulmuştur. Bu yakıtlar, içten yanmalı benzinli bir motorda test edilmiş ve yakıtların motor performans ve egzoz emisyonlarına etkisi benzin ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. MB25 ve EB25 karışım yakıtlarının benzinli motorda test edilmesi ile elde edilen sonuçlar saf benzin ile kıyaslandığında sırasıyla, CO emisyonlarında %41.61; %16.97 azalma, HC emisyonlarında %14.60; %8.79 azalma meydana gelirken NO_x emisyonlarında %35.43; % 4.53 artma, CO₂ emisyonlarında %12.19; % 5.71 artma meydana gelmiştir. Motor performans değerleri olan motor gücünde %1.32 artma; %0.04 azalma, motor momentinde %2.10; %1.23 artma ve özgül yakıt tüketimlerinde de %5.20; %1.58 artma meydana gelmiştir.

Anahtar Kelimeler: Metanol, etanol, motor performansı, egzoz emisyonu

Effect of Alcohol Additive Fuels Used in a Gasoline Engine on Engine Performance and Exhaust Emissions

ABSTRACT: In parallel with the increase in the development level of the countries, the number of motor vehicles increases every day. Exhaust emissions from vehicles running on fossil fuels pollute the air and threaten the environment and human health. A clean and healthy life is directly related to the quality of breathing air. The most important elements of air pollution are fossil-based fuels. One of the ways to prevent air pollution is to use alternative fuels to fossil-based fuels that cause pollution. Clean and local fuels, which can be an alternative to fossil-based fuels used in vehicles today, are vegetable and animal-derived biofuels. The most commonly used alternative fuels in gasoline engines are alcohol-based fuels. In this study, by adding 25% methanol by volume into pure gasoline, mixed fuel named as MB25 and by adding 25% by volume ethanol into pure gasoline, mixed fuels named EB25 were formed. These fuels were tested in an internal combustion gasoline engine and the effects of fuels on engine performance and exhaust emissions were compared with gasoline. The results obtained by the gasoline engine testing of MB25 and EB25 blended fuels compared to gasoline, respectively, 41.61%, 16.97% decrease in CO emissions, 14.60%, 8.79% decrease in HC emissions occurred, while 35.43%, 4.53% increase in NO_x emissions and 12.19%, 5.71% increase in CO₂ emissions occurred, respectively. Also, the motor performance values 1.32% increase and 0.04% decrease in engine power, 2.10%, 1.23% increase in motor torque and % 5.20, % 1.58 increase in specific fuel consumption occurred, respectively.

Keywords: Methanol, ethanol, engine performance, exhaust emission

¹Rasim BAHÇET ([Orcid ID: 0000-0002-6897-3066](https://orcid.org/0000-0002-6897-3066)), İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, Malatya, Türkiye

² Ahmet YAKIN ([Orcid ID: 0000-0001-6716-2811](https://orcid.org/0000-0001-6716-2811)), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van Meslek Yüksekokulu, Motorlu Araçlar ve Ulaştırma Teknolojileri Bölümü, Van, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Ahmet YAKIN, e-mail: ahmetyakin@yyu.edu.tr

GİRİŞ

Ulaşım araçlarının zararlı egzoz emisyonları küresel ısınmaya sebep olan faktörlerin başında gelmektedir. Zararlı egzoz emisyonlarını azaltmak için taşıtlarda kullanılan çeşitli sistemler bulunmaktadır. Küresel ısınmaya sebep olan taşıt kaynaklı egzoz emisyonlarının azaltılması için ya alternatif motorların taşıtlarda kullanılması ya da alternatif yakıtların taşıtlarda kullanılması gerekmektedir. Alternatif taşıtlar olarak, hibrit, elektrikli, güneş enerjili v.b. taşıtlar bulunmaktadır. Alternatif yakıtlar olarak hidrojen ve alkol türevi yakıtlar bulunmaktadır. Bu yakıtlar zararlı egzoz emisyonlarında iyileşmeler meydana getirmektedir. Alkol türevi yakıtlar olarak etanol ve metanol saf halde veya katkı halinde benzin (C_8H_{18}) ve dizel yakıtına katılarak kullanılmaktadır. Etanol ve metanol, hem saf halde hem de benzine belirli oranlarda ilave edilerek benzinli motorlardan kaynaklanan egzoz emisyonlarını düşürmekle kalmayıp aynı zamanda yanma verimi ve motor performansını arttırabilmektedir.

Alkollerin içerisindeki oksijen miktarının yüksek olması, gizli buharlaşma ısısı, alev hızı ve tam yanma gibi olumlu özelliklerinden dolayı benzinli motorlarda hiçbir değişiklik yapılmadan yakıt olarak kullanılmaktadırlar (Demirbaş ve ark., 2007; Eyidoğan ve ark., 2011; Badwal ve ark., 2015; Sileghem ve ark., 2015).

Metanol; odun, kömür, doğalgaz vb. gibi maddelerin yüksek basınç ve sıcaklık altında damıtılması yöntemi ile üretilirken, etanol; şeker kamışı, şeker pancarı, odun, mısır vb. gibi tarımsal biyokütle kaynaklı ürünlerinden elde edilmektedir. Fermantasyon ve damıtma yöntemiyle biyokütle kaynaklarından üretilen etanol, günümüz içten yanmalı benzinli motorlar için en uygun alternatif yakıttır. Benzine göre daha yüksek oktan sayısına sahip olan etanol, alkol ile çalışan motorların sıkıştırma oranını artırdığından dolayı termal verimi de artırmaktadır (Masum ve ark., 2013; Baki ve ark., 2014).

Etanol, içerisinde bulundurduğu oksijenden dolayı iyi bir yanma verimi oluşturup ayrıca darbelere karşı dirençli olması ve yüksek gizli buharlaşma ısısına sahip olması gibi özelliklerinden dolayı da son zamanlarda hidrokarbon yakıtlarına katkı maddesi olarak ilave edilen alkoller arasında yer almaktadır (Palmer, 1986; Surisetty, 2011).

Metanol ve etanolün katkı maddesi olarak içten yanmalı motorlarda kullanılması ve içten yanmalı motorlarda yanma olayıyla ilgili olarak literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Hsieh ve ark. (2002), farklı oranlardaki etanol-benzin karışımlarını benzinli bir motorda test ederek karışım yakıtların motor performans ve egzoz emisyonları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Elde edilen test sonuçlarına göre karışım içerisindeki etanol miktarının artması ile motor torku ve özgül yakıt tüketimi (ÖYT) artarken karışım içerisindeki etanol miktarının artması ile oluşan fakir karışımdan dolayı yanmamış HC (hidrokarbon) ve CO (karbon monoksit) emisyonlarının azaldığı gözlenmiştir.

Etanol, içerisinde bulundurduğu oksijenden dolayı iyi bir yanma verimi oluşturup ayrıca darbelere karşı dirençli olması ve yüksek gizli buharlaşma ısısına sahip olması gibi özelliklerinden dolayı da son zamanlarda hidrokarbon yakıtlara katkı maddesi olarak ilave edilen alkoller arasında yer almaktadır (Surisetty, 2011).

Yakıt olarak etanol-benzinin karışımlarının kullanıldığı bir deneysel çalışmada Chen ve ark. (2011), karışım yakıtların egzoz emisyonları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Deneysel test sonuçlarında elde edilen verilere göre karışımdaki etanol oranının %20'nin üzerine çıkması ile CO, HC emisyonlarında önemli bir azalma olduğu görülmüştür.

Benzin, etanol-benzin ve metanol-benzin karışımlarının bir araçta yakıt olarak kullanıldığı çalışmada Özsezen ve Çanakçı (2011), yakıtların araç performansı ve egzoz emisyonları üzerindeki

etkisi incelenmiştir. Şasi dinamometresinde yapılan deney sonuçlarına göre, benzin ile çalışan araca göre alkol-benzin karışımları ile çalışan aracın tekerlek gücü ve özgül yakıt tüketiminde hafif bir artış meydana geldiği gözlenmiştir.

Kurşunsuz benzine düşük oranlarda etanol ve metanolün ilave edilmesiyle elde edilen karışım yakıtlar, benzinli bir taşıtta şasi dinamometresinde egzoz emisyonları, yanma karakteristiği ve motor performansı deneysel olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre karışım yakıt kullanımının egzoz emisyonunu azalttığı, ısı dağılımını ve silindir gaz basıncını erken yükselmeye başlattığı, özgül yakıt tüketimini ise arttırdığı gözlemlenmiştir (Eyidoğan ve ark., 2011).

Farklı motor hızlarında benzin, metanol ve etanolün yakıt olarak kullanıldığı buji ateşlemeli bir motorda da yakıtların motor performansı, yanma özellikleri ve egzoz emisyonları üzerindeki etkileri incelenmiştir (Balki ve ark., 2014). Mevcut çalışmada; her üç yakıt için maksimum motor momentine 2400 d dak-1'da ulaşıldığı ve motorun metanol ile çalıştırılmasında en yüksek momenti olan 11.76 Nm'lik değer elde edildiği ve motorda alkol yakıtların kullanımı ile yanma veriminin arttığı belirtilmiştir. Ayrıca metanol ve etanolün ısı değerlerinin benzine göre daha düşük olması nedeniyle özgül yakıt tüketimini önemli ölçüde artırdığı gözlenmiştir. Etanol ve metanol ile çalıştırılan motorun benzin çalışan motora göre daha yüksek yanma verimlerine sahip olduğu görülmüştür. Alkollü yakıtların yüksek motor devirlerinde daha iyi performans göstermesi nedeniyle düşük güçte benzin yerine alkollü yakıt kullanımının, motorda NO_x (azotoksit), HC ve CO emisyonlarında azalmaya sebep olduğu ve gelişmiş yanma nedeniyle de CO₂ (karbondioksit) emisyonunda artış olduğu görülmüştür. Test motorunda yakıt olarak metanolün kullanılması ile NO_x, CO ve HC emisyonlarının sırası ile %21.25, %21.66 ve 13.13 oranında azalmanın meydana geldiği ve CO₂ emisyonunda da % 4.4'lük artışın olduğu gözlenmiştir. Motorda yakıt olarak metanolün kullanılması ile de NO_x, CO ve HC emisyonlarının sırası ile %49, %47.6 ve 22.6 oranında azaldığı ve CO₂ emisyonunda da % 2.51'lik artış olduğu görülmüştür (Balki ve ark., 2014).

İçten yanmalı motorlarda alkol türevi yakıt olan metanolün kullanılması için motorlarda bazı düzenlemeler yapılmalıdır. Metanolün taşıt motorlarında kullanılmasıyla motor veriminin % 40'a kadar çıkabileceği belirtilmektedir (Kowalewicz, 1993). Tarımsal ürünlerden elde edilen yüksek oktanlı etanol, içten yanmalı benzinli motorlarda tek başına veya benzin yakıtına belli oranlarda katılarak kullanılmaktadır (Bayraktar, 1997).

Etanolla ilgili yapılan bilimsel çalışmalarda benzin içerisine %20 oranına kadar etanol katılarak oluşturulan etanol benzin karışım yakıtlarının, motor üzerinde hiçbir değişiklik yapılmadan kullanılabilmesi belirtilmektedir (Bayraktar, 1997; Clancy, 1998; Bayraktar ve Durgun 2003).

Benzin, etanol-benzin ve metanol-benzin karışımlarının benzinli motora sahip bir araçta yakıt olarak kullanıldığı çalışmada Özsezen ve Çanakçı (2011), araç performansı ve egzoz emisyonları üzerindeki etkilerini incelemiştir. Şasi dinamometresinde yapılan deney sonuçlarına göre, benzin ile çalışan araca göre alkol-benzin karışımları ile çalışan aracın tekerlek gücü ve ÖYT'de hafif bir artış meydana geldiği gözlenmiştir.

Bu çalışmada, benzinli motorlarda alternatif yakıt olarak etanol-benzin ve metanol-benzin karışımı yakıtlar hazırlanmış ve hazırlanan bu yakıtlar benzinli bir motorda test edilerek yakıtların motor performans ve egzoz emisyonları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu amaca yönelik olarak, hacimsel olarak %25 oranında benzin ile karıştırılan saf etanol-benzin karışım yakıt (EB25) ve aynı şekilde hacimsel olarak %25 oranında benzin ile karıştırılan saf metanol-benzin karışım yakıt (MB25) hazırlanmış ve hazırlanan bu yakıtlar tek silindirli benzinli bir motorda test edilerek elde edilen test verileri saf benzin ile çalıştırılan motor test verileri ile karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

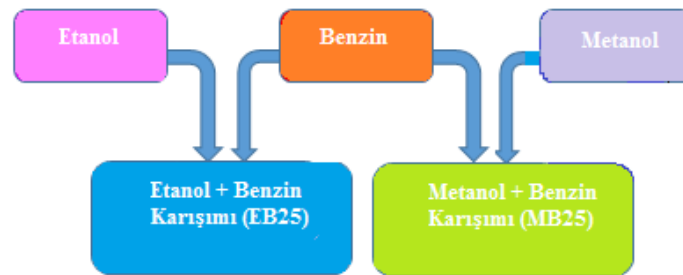
Etanol

Benzine göre ısı değeri ve teorik hava/yakıt oranı düşük olan etanolün kimyasal formülü C_2H_5OH tir. Etanol, şeker kamışı, şeker pancarı, odun, mısır vb. gibi tarımsal biyokütle kaynaklı ürünlerinden elde edilebilen yenilenebilir bir enerji kaynağıdır. Fermantasyon ve damıtma yöntemiyle biyokütle kaynaklarından üretilen etanol, günümüz içten yanmalı benzinli motorlar için en uygun alternatif yakıttır. Benzine göre daha yüksek oktan sayısına sahip olan etanol, motorların sıkıştırma oranını artırdığından dolayı termal verimi de artırmaktadır (Silva ve ark., 2005; Kumabe ve ark., 2008; Masum ve ark., 2013; Balki ve ark., 2014; Arabacı ve Kılıç, 2019).

Metanol

Benzine göre ısı değeri düşük, saydam, renksiz, kendi kendine tutuşma eğilimi düşük, kokusu hafif, buharlaşma ısısı yüksek olan metanol soğukta ilk hareketi zorlaştırmasına karşın volümetrik verimi arttırmaktadır. Kimyasal formülü CH_4OH dir. Nem tutma özelliğine istinaden içerisinde bulunabilecek su nedeniyle yakıt sistemlerinde korozyona neden olmaktadır. Aynı nedenden ötürü üst fazda benzin, alt fazda alkol fazlalığı şeklinde faz ayrışması sorunu yaşanabilir. Bu sorunu aşmak için izopropil alkol gibi katkıları yapılabilir.

Metanol'de etanol gibi yüksek oktan sayısına sahip olup bu sayede hem iyi bir yanma meydana gelmekte hem de çevreye zararlı egzoz emisyonu salınımı azalmaktadır. Metanol benzine göre geniş bir yanma aralığına sahiptir. Enerji yoğunluğu benzine göre düşük olduğundan buda daha büyük bir depo ihtiyacı meydana getirmektedir. Benzine göre buharlaşma ısısı düşük olan metanol bu özelliğinden dolayı soğuk havalarda geç çalışmaya sebep olur. Bunun önlenmesi için metanol'ün kullanıldığı motorlarda kızdırma bujilerine ihtiyaç vardır (Taymaz ve Benli 2009).



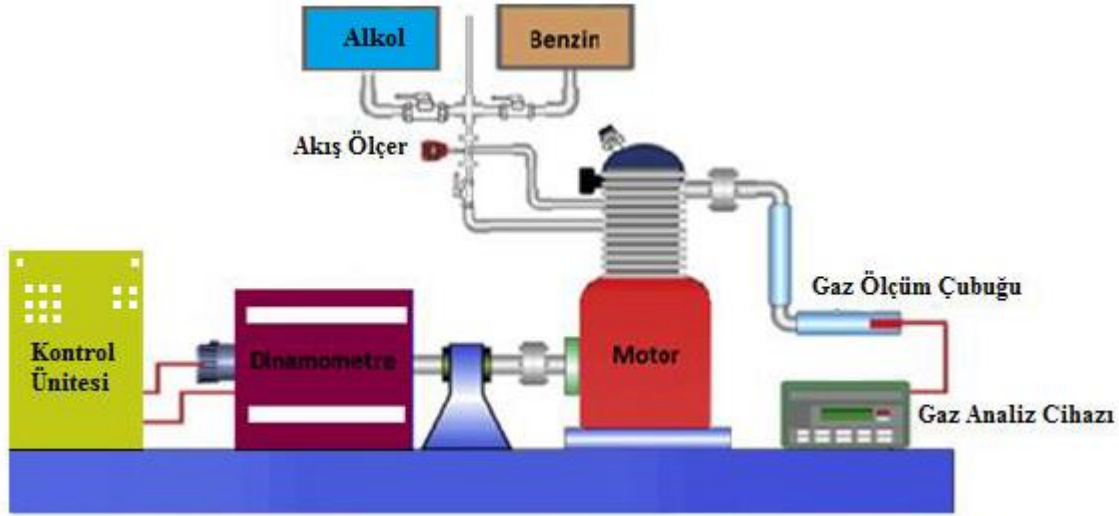
Şekil 1. EB25, MB25 karışım yakıtların akış diyagramı

Şekil 1'de karışım yakıtların akış diyagramları görülmektedir. Akış diyagramı incelendiğinde, etanol ve metanol benzin yakıtı karıştırılarak, EB25, MB25 olarak adlandırılan karışım yakıtlar elde edilmiştir.

Motor Testleri

Yakıtların test edildiği deney motoru olarak, Tablo 1'de teknik özellikleri verilen tek silindirli Ricardo Hydra marka benzinli bir motor kullanılmıştır. Deneysel çalışma, motor tam yükte ve $1400 \text{ d} \text{ dak}^{-1}$, $1800 \text{ d} \text{ dak}^{-1}$, $2200 \text{ d} \text{ dak}^{-1}$, $2600 \text{ d} \text{ dak}^{-1}$, $3000 \text{ d} \text{ dak}^{-1}$ olmak üzere beş farklı motor devrinde gerçekleştirilmiştir. Deneyler, Gazi Üniversitesi Otomotiv Mühendisliği motor laboratuvarlarında önce benzin olmak üzere tüm test yakıtlar için ayrı ayrı tekrarlanarak yapılmıştır. Yapılan deneylerde önce benzin sonra benzin etanol daha sonra benzin metanol karışımı ile çalıştırılmıştır. Yakıt test deneylerine başlamadan önce yağlama yağı ve hava filtresi değiştirilmiştir. Deney motoru önce benzin ile çalıştırılmış ve motor kararlı rejime geldikten sonra deneysel veriler kaydedilmiştir.

Deneyler, deney motoru önce benzinle çalıştırılarak motor kararlı rejime geldikten sonra yapılmaya başlanmış deneyler 3 kez tekrarlanmış ve çıkan sonuçların aritmetik ortalaması alınmıştır.



Şekil 2. Deney Düzenegi

Tablo 1. Test motorunun özellikleri

Marka	Ricardo Hydra
Silindir sayısı	1
Sıkıştırma oranı	10:1
Maksimum hız (d dak ⁻¹)	5400
Maksimum güç (kW)	15 kW (5400 d dak ⁻¹)
Minimum hız (min ⁻¹)	1200
Silindir çapı (mm)	80.26
Silindir kurs (mm)	88.90
Supap sistemi	Üstten kamlı iki supap
Yakıt sistemi	Port tipi enjeksiyon
Soğutma sistemi	Sıvı soğutmalı

Deney düzeneğinin şematik görünümü Şekil 2’de verilmiştir. Deneylerde motor performansının ölçülmesi için 6500 d dak⁻¹ motor devrinde 30kW gücü da absorbe edebilen, McClure marka elektrikli tip dinamometre kullanılmıştır. Test sisteminde yakıt tüketimi analog olarak kayıt edilmiş ancak motor momentini ve motor yağ sıcaklığı ile egzoz sıcaklığı dijital olarak kayıt edilmiştir. Yakıt deposu 0.01g hassasiyetindeki terazi üzerine yerleştirilmiş ve motorun 60 saniyede tükettiği yakıt verisi kaydedilmiştir. Test motorunda kullanılan deney yakıtlarının fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Test Yakıtının Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (Çelik, 2008; Çelik ve ark., 2011; Anonim, 2021)

Özellik	Benzin	Etanol	Metanol
Kimyasal Formülü	C ₈ H ₁₈	C ₂ H ₅ OH	CH ₃ OH
Molekül Ağırlığı (g mol ⁻¹)	95-120	46.07	32.04
Yoğunluk (g cm ⁻³ 20 °C)	0.72-0.76	0.790	0.792
Alt Isıl Değer (kJ kg ⁻¹)	44300	26900	20100
Stokiyometrik hava/yakıt oranı	14.6	9	6.46
Oksijen ağırlığı (%)	-	34.73	49.94
Araştırma Oktan Sayısı	95	108.6	108.7
Motor Oktan Sayısı	85	89.7	88.6
Tutuşma Sıcaklığı (°C)	228-470	363	455
Kaynama Noktası (°C)	27-225	78.3	64.5
Buhar Basıncı (kPa)	45-90	5.9	12.8
Buharlaşma gizli ısısı (kJ kg ⁻¹)	349	923	1178

Tutuşma sınırları (% hacim)

1.4-7.6

3.5-15

5.5-36.5

Test yakıtlarının egzoz emisyonlarını ölçmek için teknik özellikleri Tablo 3’de verilmiş olan Bosch firmasının BEA 060 Model egzoz gaz analiz cihazı kullanılmıştır.

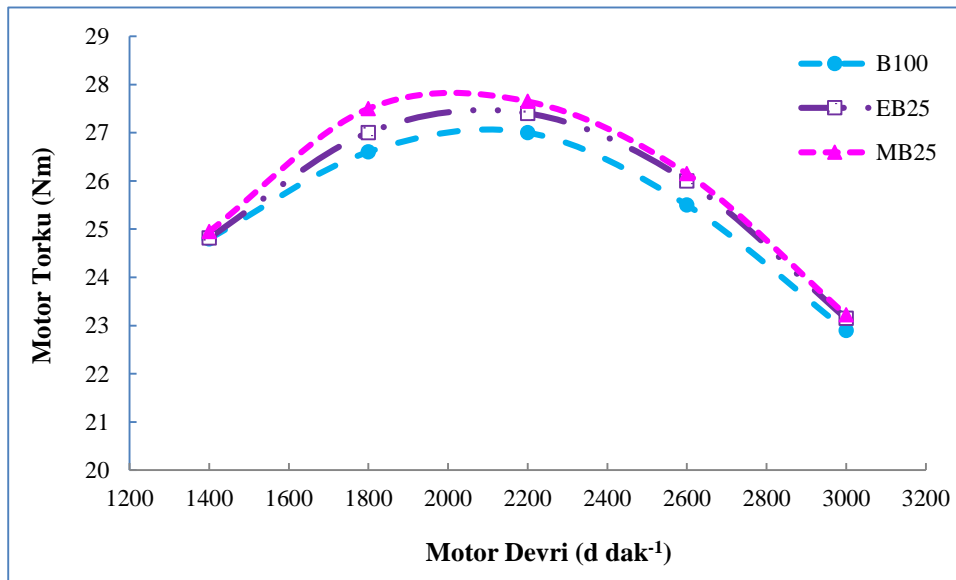
Tablo 3. Egzoz gazı analiz cihazının teknik özellikleri

Parametre	Ölçme aralığı	Hassasiyet
CO (%)	0-10	0.001
CO ₂ (%)	0-18	0.01
HC (ppm)	0-9999	1ppm
O ₂ (%)	0-22	0.01
NO _x (ppm)	0-5000	1ppm
Lambda	0.5-9.9999	

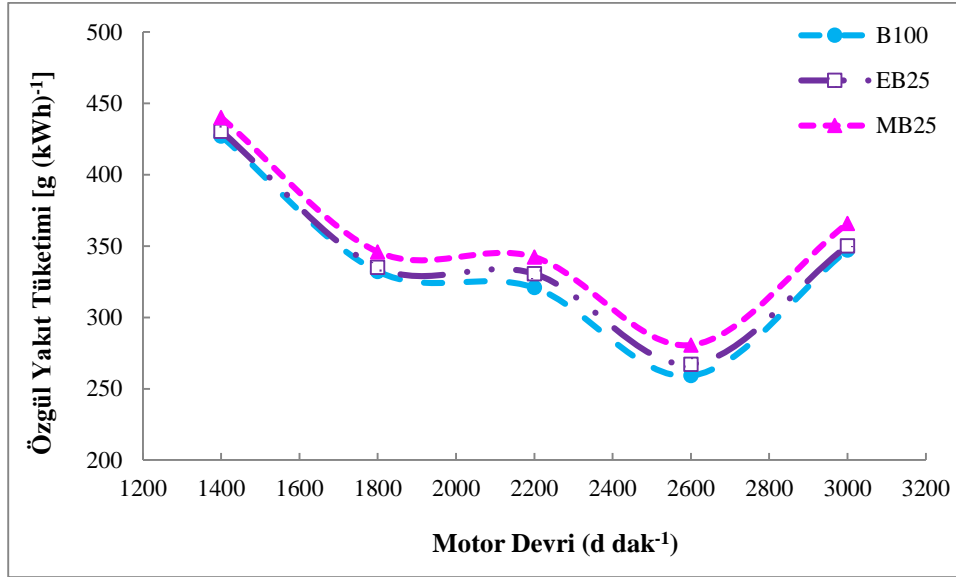
Motor performansını etkileyen en önemli kriterler motor gücü, motor torku ve özgül yakıt tüketimidir. Motor performansının en iyi olduğu durumlar, motor gücünün maksimum, motor torkunun maksimum, özgül yakıt tüketiminin ise minimum olduğu durumlardır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Şekil 3’de motor momentinin motor hızına bağlı değişimi görülmektedir. Grafik incelendiğinde düşük hızlarda motor momentinin yüksek olduğu görülmektedir. Bunun sebebi taşıtların iç ve dış direnç kuvvetlerini yenmesi için yüksek momente ihtiyaçları olduğundan dolayıdır. En yüksek motor momenti 2200d dak⁻¹’da MB25 yakıtı ile 27.65 Nm olarak elde edilmiştir. En düşük motor momenti ise, 3000 d dak⁻¹ motor devrinde B100 yakıtı ile 22.9 Nm olarak ölçülmüştür. Şekilde 3’de görüldüğü gibi, Etanol benzin karışımli yakıtların motorlarda deney yakıt olarak kullanılmasıyla motor momentini ve motor güç değerlerinde azalma olmaktadır. Bu azalmanın sebebi alkol yakıtların ısı değerlerinin benzine göre daha düşük olması olarak söylenebilir (Doğan ve ark., 2017). Elde edilen üç çeşit karışım yakıtın test motorunda kullanılmasıyla artan motor hızına paralel olarak motor momentini maksimum noktaya ulaşmış daha sonra tekrar düşüşe geçmiştir.

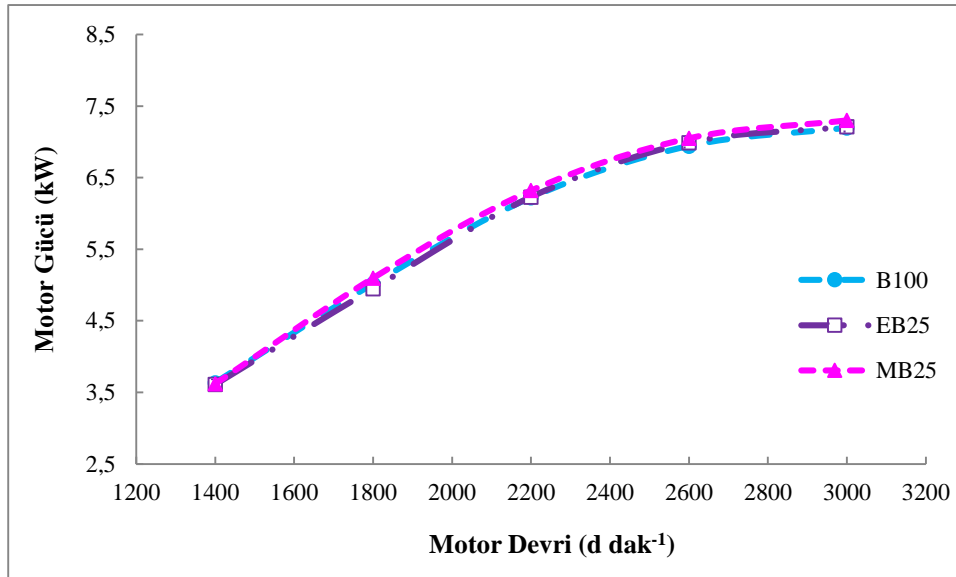


Şekil 3. Motor torkunun motor devrine bağlı değişimi



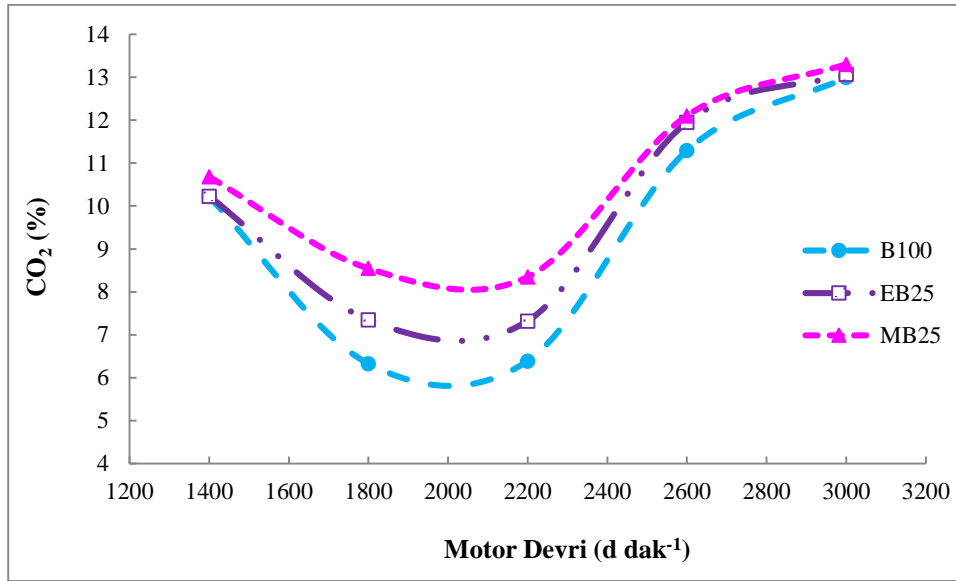
Şekil 4. Özgül yakıt tüketiminin motor devrine bağlı değişimi

Motorun tüketmiş olduğu yakıtı karşılık krank mili üzerinde ürettiği gücün verimi olarak ifade edilen özgül yakıt tüketimi, içten yanmalı motorun performansını belirleyen önemli parametrelerdendir. Boyutları farklı olan motorların karşılaştırılması için özgül yakıt tüketimi önem taşımaktadır. Şekil 4'de test yakıtlarına ait özgül yakıt tüketimlerinin motor devrine bağlı değişimi verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi tüm motor hızlarında en yüksek ÖYT MB25 yakıt ile gerçekleşirken en düşük ÖYT saf benzinin motor yakıtı olarak kullanılması ile meydana gelmiştir. Tüm motor devirlerinin ortalaması alındığında B100 yakıtına göre EB25 ve MB25 karışım yakıtlarının özgül yakıt tüketimlerinde sırasıyla % 1.58 ve % 5.20 artma meydana gelmiştir.



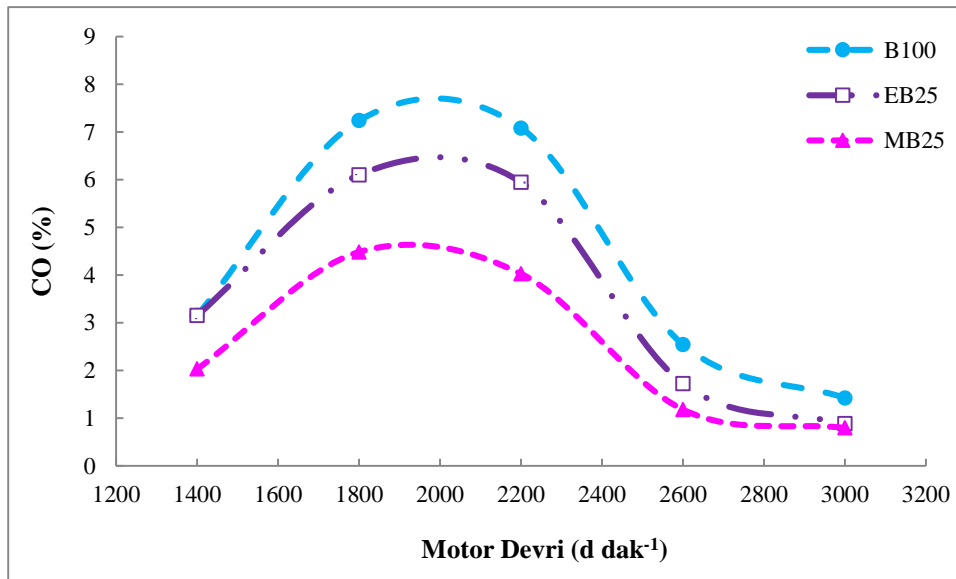
Şekil 5. Motor gücünün motor devrine bağlı değişimi

Şekil 5'de motor gücünün motor hızına bağlı değişimi görülmektedir. Şekilden de görüleceği gibi motor devrinin artması ile tüm yakıtlar için motor gücü artmakta ve test yakıtların motor güçleri birbirlerine yakın değerlere sahip olmuştur. En düşük motor gücü 1400 d dak⁻¹'de EB25 yakıtı ile 3.61 kW olarak ölçülürken en yüksek motor gücü ise MB25 yakıtının kullanılmasıyla 3000 d dak⁻¹'da 7.3 kW olarak ölçülmüştür.



Şekil 6. CO₂ emisyonunun motor devrine bağlı değişimi

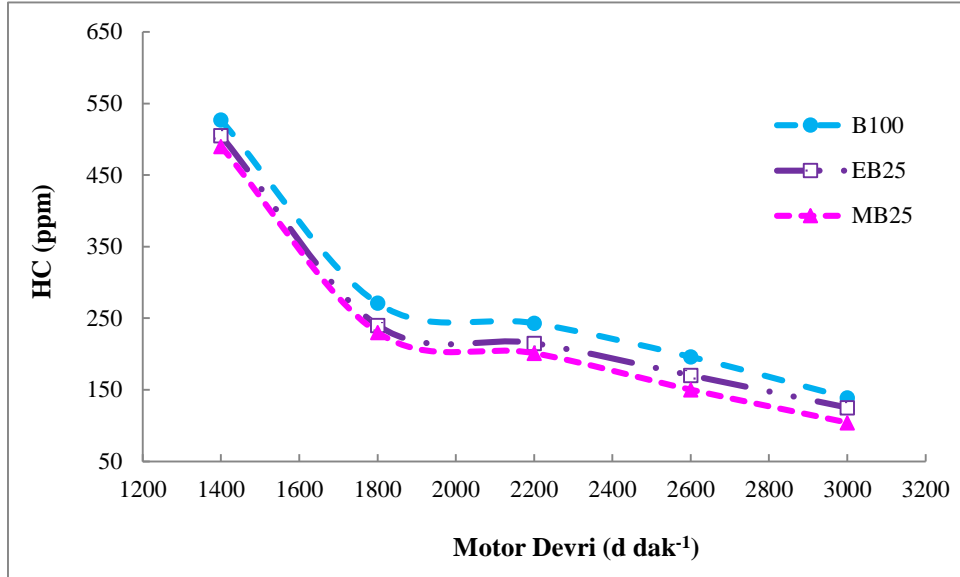
Küresel ısınmaya sebep olan taşıt kaynaklı zararlı egzoz emisyonlarından biri olan CO₂ emisyonu, Şekil 6 incelendiğinde tüm motor devirlerinin ortalaması alındığında EB25 ve MB25 karışım yakıtlarının B100 yakıtına kıyasla, küresel ısınmaya sebep olan taşıt kaynaklı zararlı egzoz emisyonlarından biri olan CO₂ değerinde sırasıyla %5.71 ve %12.19 artma meydana gelmiştir. Atmosferdeki en önemli sera gazlarından biri olan karbondioksit (CO₂), fosil yakıtların yanması sonucu meydana gelen bir emisyondur. Bu emisyon endüstrinin gelişmesine paralel olarak artış göstermektedir. İçten yanmalı motorlarda zararlı emisyonların başlıca kaynağı eksik yanmadır (Behçet ve ark., 2014). Yanma olayı tam olarak gerçekleştiğinden yanma verimi artmakta olup yapıda bulunan karbonların büyük çoğunluğu CO₂ dönüşmektedir. Benzinli motorlarda, benzin yakıtı içerisine ilave edilen alkolün yapısında bulunan oksijen miktarı yanmayı iyileştirmekte ve bu iyileşmeden dolayı da CO₂ emisyonu artmaktadır (Wu ve ark., 2004).



Şekil 7. CO emisyonunun motor devrine bağlı değişimi

Yanma ürünleri arasında CO bulunmasının esas nedeni oksijen eksikliğidir. Eksik yanma, yanma için gerekli havanın eksikliği ve tutuşma için gerekli olan zamanın eksikliğinden dolayı silindir içerisindeki kısmi alev cephelerinin sönmesi nedeni ile CO emisyonunda artma olabilmektedir (Nabi ve

ark., 2009). Diğer bir sebebi ise motorun fakir hava/yakıt karışımı ile çalıştırılması ve karışımındaki yakıt miktarının azalmasıdır (Zhao, 2007; Polat, 2016). Şekil 7'de CO emisyonunun motor hızına bağlı değişimi görülmektedir. CO emisyonu en az 3000 d dak-1 motor devrinde, test motorunda MB25 yakıtı kullanılarak %0.798 olarak tespit edilirken, en fazla CO emisyonu ise, 1800 d dak⁻¹ motor devrinde B100 yakıtı kullanılarak, %7.238 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 8. HC emisyonunun motor devrine bağlı değişimi

Şekil 8'de HC emisyonunun motor devrine bağlı değişimi görülmektedir. Tüm motor hızlarının ortalaması alındığında EB25 ve MB25 yakıtlarının HC emisyonu B100 yakıtının HC emisyonuyla kıyaslandığında, sırasıyla %8.79 ve % 14.60 azalma olduğu görülmüştür.

İçten yanmalı motorlarda, uygun hava/yakıt oranının oluşmaması ve dolayısıyla yanma için yeterli oksijenin sağlanamaması nedeniyle yanma işlemi hiçbir zaman tam olarak gerçekleşmemektedir. Yanma esnasında hava-yakıt karışımı içerisinde yakıt miktarının artması ve azalması ile HC emisyonları artmaktadır. Benzin içerisine ilave edilen alkolün yapısında bulundurduğu oksijenden dolayı yanma olayı iyileşmekte ve yanma verimi artmaktadır (Mourad ve Mahmoud, 2018).

SONUÇ

Tek silindirli ve dört zamanlı benzinli bir motorda yakıt olarak test edilen saf benzin, EB25 ve MB25 karışım yakıtların motor performansı ve egzoz emisyonları deneysel olarak incelenmiş olup elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır.

1. Hacimsel olarak %25 etanol saf benzin ile karıştırılıp EB25 olarak isimlendirilen yakıt ile yine hacimsel olarak %25 metanol saf benzin ile karıştırılıp MB25 olarak isimlendirilen yakıt oluşturulmuş ve bu karışım yakıtlar tek silindirli benzinli bir motorda test edilmiştir.
2. Etanol ve metanolün oksijen içeriği ve oktan sayısı saf benzine göre yüksek olmasından dolayı EB25 ve MB25 karışım yakıtların motor momentlerinde saf benzine göre artış göstermiştir.
3. Tüm motor hızlarının ortalaması alındığında, 2600 motor devrine kadar tüm test yakıtların motor gücü benzer özellikler göstermiş ancak bu devirden sonraki motor hızlarında EB25 ve MB25 yakıtların motor gücü B100 yakıtına göre artmıştır.
4. EB25 ve MB25 karışım yakıtlarının özgül yakıt tüketimleri, saf benzin ile kıyaslandığında karışım yakıtların özgül yakıt tüketimlerinde sırasıyla % 1.58 ve % 5.20 artma meydana gelmiştir.

5. Test motoru EB25 ve MB25 karışım yakıtları ile çalıştırılıp ölçülen HC emisyonları B100 yakıtıyla karşılaştırılıp ölçülen HC emisyonları B100 yakıtlı motorun HC emisyonlarına göre sırasıyla % 8.79 ve % 14.60 azalma meydana gelmiştir.
6. Alkol yakıtların benzine ilave edilmesi ile oluşturulan EB25 ve MB25 karışım yakıtların CO emisyonları, saf benzin ile yakıtlı motorun CO emisyonlarına göre önemli oranlarda azalmıştır. Bu azalma E25 yakıtında %16.97 olarak gerçekleşirken MB25 yakıtında % 41.61 olmuştur.
7. EB25 ve MB25 karışım yakıtların CO₂ emisyonları B100 yakıtıyla kıyaslandığında, saf benzine göre sırasıyla % 5.71 ve % 12.19 artma meydana gelmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Yazar Katkısı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2021. Etanol ve Metanolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, <http://www.merck-chemicals.com> (Erişim Tarihi: 09.01.2021).
- Arabacı E, Kılıç B, 2019. Biyodizel Yakıtları İçin Biyodizel Karakteristik İndeksinin Geliştirilmesi. Uluslararası Avrasya Multidisipliner Kongresi (IMCOFE), 24-26 Nisan 2019, Antalya.
- Badwal SPS, Giddey S, Kulkarni A, Goel J, Basu S, 2015. Direct ethanol fuel cells for transport and stationary applications—A comprehensive review. *Applied Energy*, 145: 80-103.
- Balki MK, Sayin C, Canakci M, 2014. The effect of different alcohol fuels on the performance emission and combustion characteristics of a gasoline engine. *Fuel*, 115: 901-906.
- Bayraktar H, Durgun O, 2003. Buji-Ateşlemeli Motorlar İçin Alternatif Yakıtların Teorik Değerlendirilmesi ve Pratik Kullanılabilirliği, 45:533.
- Behcet R, Yumrutaş R, Oktay H, 2014. Effects of fuels produced from fish and cooking oils on performance and emissions of a diesel engine. *Energy*, 71: 645-655.
- Celik MB, 2008. Experimental determination of suitable ethanol–gasoline blend rate at high compression ratio for gasoline engine. *Applied Thermal Engineering*, 28(5-6): 396-404.
- Celik MB, Özdalyan B, Alkan F, 2011. The use of pure methanol as fuel at high compression ratio in a single cylinder gasoline engine. *Fuel*, 90(4): 1591-1598.
- Chen RH, Chiang LB, Chen CN, Lin TH, 2011. Cold-start emissions of an SI engine using ethanol–gasoline blended fuel. *Applied Thermal Engineering*, 31(8-9): 1463-1467.
- Clancy JS, Dunn PD, Chawawa B, 1988. Ethanol as fuel in small stationary spark ignition engines for use in developing countries. *IMEchE*, 67(88): 191-194.
- Da Silva R, Cataluna R, de Menezes EW, Samios D, Piatnicki CMS, 2005. Effect of additives on the antiknock properties and Reid vapor pressure of gasoline. *Fuel*, 84(7-8): 951-959.
- Demirbas A, 2007. Progress and recent trends in biofuels. *Progress in energy and combustion science*, 33(1): 1-18.
- Doğan B, Erol D, Yaman H, Kodanlı E, 2017. The effect of ethanol-gasoline blends on performance and exhaust emissions of a spark ignition engine through exergy analysis. *Applied Thermal Engineering*, 120: 433-443.
- Eyidoğan M, Canakci M, Ozsezen A, Alptekin ERTAN, Turkcan ALİ, Kilicaslan I, 2011. Investigation of the effects of ethanol-gasoline and methanol-gasoline blends on the combustion parameters and exhaust emissions of a spark ignition engine.

- Hsieh WD, Chen RH, Wu TL, Lin TH, 2002. Engine performance and pollutant emission of an SI engine using ethanol–gasoline blended fuels. *Atmospheric Environment*, 36(3): 403-410.
- Kowalewicz A, 1993. Methanol as a fuel for spark ignition engines: a review and analysis. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part D: Journal of Automobile Engineering*, 207(1): 43-52.
- Kumabe K, Fujimoto S, Yanagida T, Ogata M, Fukuda T, Yabe A, Minowa T, 2008. Environmental and economic analysis of methanol production process via biomass gasification. *Fuel*, 87(7): 1422-1427.
- Masum BM, Masjuki HH, Kalam MA, Fattah IR, Palash SM, Abedin MJ, 2013. Effect of ethanol–gasoline blend on NOx emission in SI engine. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 24: 209-222.
- Mourad M, Mahmoud KR, 2018. Performance investigation of passenger vehicle fueled by propanol/gasoline blend according to a city driving cycle. *Energy*, 149: 741-749.
- Nabi MN, Rahman MM, Akhter MS, 2009. Biodiesel from cotton seed oil and its effect on engine performance and exhaust emissions. *Applied thermal engineering*, 29(11-12): 2265-2270.
- Özsezen AN, Canakci M, 2011. Performance and combustion characteristics of alcohol–gasoline blends at wide-open throttle. *Energy*, 36(5): 2747-2752.
- Palmer FH, 1986. Oksijen İçeren Benzinin Araç Performansı. In *Uluslararası Konferans Petrol Yakıtları ve Otomotiv Uygulamaları Tabanlı. Imeche Konferans Yayınları No: C319 / 86*, pp.33-46, İngiltere.
- Polat S, 2016. An experimental study on combustion, engine performance and exhaust emissions in a HCCI engine fuelled with diethyl ether–ethanol fuel blends. *Fuel Processing Technology*, 143: 140-150.
- Sileghem L, Ickes A, Wallner T, Verhelst S, 2015. Experimental investigation of a DISI production engine fuelled with methanol, ethanol, butanol, and iso-stoichiometric alcohol blends. Argonne National Lab.(ANL), Argonne, IL (United States).
- Surisetty VR, Dalai AK, Kozinski J, 2011. Alcohols as alternative fuels: An overview. *Applied Catalysis A: General*, 404(1-2): 1-11.
- Taymaz İ, Benli M, 2009. Metanolün Taşıtlarda Enerji Kaynağı Olarak Farklı Kullanım Yöntemlerinin İncelenmesi. *Engineer & the Machinery Magazine*, (596).
- Wu CW, Chen RH, Pu JY, Lin TH, 2004. The influence of air–fuel ratio on engine performance and pollutant emission of an SI engine using ethanol–gasoline-blended fuels. *Atmospheric Environment*, 38(40): 7093-7100.
- Zhao H, 2007. *CCI and CAI Engines For The Automotive Industry*. Woodhead Publishing Limited Cambridge England No: 128-8, pp. 21-35, New York-USA.

Atıf İçin: Avcı A, Akdoğan Eker A, Bodur MS, 2021. Yeşil Kompozit Malzemelerin Performans Özellikleri ve Otomotiv Endüstrisinde Kullanımı. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3035-3054.

To Cite: Avcı A, Akdoğan Eker A, Bodur MS, 2021. A Review Of Performance Of Green Composites And Using In Automotive Industry. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3035-3054.

Yeşil Kompozit Malzemelerin Performans Özellikleri ve Otomotiv Endüstrisinde Kullanımı

Ali AVCI^{1,2,*}, Ayşegül AKDOĞAN EKER², Mehmet Safa BODUR³

ÖZET: Son zamanlarda, küresel ısınma, çevre kirliliği ve petrolün tükenme olasılığı gibi nedenlerden dolayı yenilenebilir kaynaklardan elde edilen malzemelerin kullanımı hakkında ciddi bir farkındalık oluştu. Kompozit malzemelerin doğal malzemelerden üretilmesi ile kompozitlerin üretiminden kullanım ömrünün sonuna kadar geçen süreçte karbon ayak izinde ve sera gazı salınımlarında önemli bir azalma meydana geldi. Ayrıca otomotiv sektöründe doğal kaynaklardan üretilen yeşil kompozitlerin kullanımı maliyetlerde azalma, araçta hafiflik ve yakıt tasarrufu sağladı. Yeşil kompozitler, sürdürülebilirlik, biyolojik olarak ayrışabilme, yüksek özgül mukavemet ve yüksek özgül modül gibi özellikleri nedeniyle yapı, havacılık, otomotiv, spor, ambalaj ve benzeri alanlarda hâlihazırda kullanılan kompozitlere iyi bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak, yeşil kompozitlerin matris ile doğal lifler arasında zayıf arayüzey bağının, yüksek nem emiliminin, düşük yanma dayanımının, düşük darbe dayanımının ve nispeten düşük dayanımın hala geliştirilmesi gerekmektedir. Çalışmada, araştırmacıların bu özellikleri geliştirmek için yapmış oldukları yayınlar irdelenmiş olup özet şeklinde verilmiştir. Literatürde yeşil kompozitin arayüzey bağını kuvvetlendirmek için uygulanan çeşitli kimyasal veya fiziksel iyileştirme işlemleri yapıldığı ve yanma dayanımı için katkı malzemeleri kullanıldığı görülmüştür. Yeşil kompozitlerin otomotiv parçalarında hali hazırda kullanımına BMW, Ford, Renault ve Volvo gibi tanınmış otomobil markalarının ön kapı konsolu (1.2–1.9 kg), arka kapı konsolu (0.8–1.6 kg) ve bagaj konsolu (1.5–2.5 kg) örnek olarak verilebilir. 2021'den itibaren, yeni otomobiller için AB genelinde ortalama salınım hedefi 95 g CO₂ km⁻¹ olacaktır. Bu salınım seviyesi ise, yaklaşık olarak 100 km'de 4.1 l benzin veya 3.6 l dizel yakıt tüketimine karşılık gelmektedir. Yeşil kompozitlerin kullanımı araçların yakıt tüketimini azaltarak CO₂ salınımını önemli oranda düşürecektir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil Kompozitler, Otomotiv Sanayi, Mekanik Özellikler

A Review Of Performance Of Green Composites And Using In Automotive Industry

ABSTRACT: Recently, there has been a serious awareness about the use of materials derived from renewable resources due to reasons such as global warming, environmental pollution and the possibility of running out of oil. With the production of composite materials from natural sources, there has been a significant reduction in carbon footprint and greenhouse gas emissions from the production of composites to the end of their useful life. In addition, the use of environmentally friendly composites produced from natural resources in the automotive industry has reduced costs, lightened the vehicle and reduced fuel consumption. Green composites emerge as a good alternative to the composites currently used in construction, aerospace, automotive, sports, packaging and, similar fields due to their features such as sustainability, biodegradability, high specific strength and specific modulus. However, the weak interfacial bond of the green composites between the matrix and the natural fibers, high moisture absorption, flammability at relatively low temperatures, low impact resistance and relatively poor strength must be further improved. In the study, the work carried out by researchers to improve these characteristics was reviewed and presented as a summary. The studies showed that different modification processes were applied to enhance the interfacial bond of the green composite and that additives were used for fire resistance. The aim of the study is to provide up-to-date information about the mechanical of green composites, their production methods, and their place in the automotive industry. The green composites provide weight loss in automotive parts is between 1.2–1.9 kg in the front door console, 0.8–1.6 kg in the rear door console and 1.5–2.5 kg in the trunk console of well-known car brands such as BMW, Ford, Renault and Volvo. Average gas emission target for new cars will be 95 g CO₂ km⁻¹ after 2021 in the EU. Using light weight green composites will significantly decrease the fuel consumption of vehicles consequently total car CO₂ emissions reduce as well.

Keywords: Green Composites, Automotive Industry, Mechanical Properties

^{1,2}Ali AVCI ([Orcid ID: 0000-0003-3901-6248](https://orcid.org/0000-0003-3901-6248)), Hakkari Üniversitesi, Makine Mühendisliği Bölümü, Hakkari, Türkiye

²Ayşegül AKDOĞAN EKER ([Orcid ID: 0000-0003-0212-9230](https://orcid.org/0000-0003-0212-9230)), Yıldız Teknik Üniversitesi, Makine Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

³Mehmet Safa BODUR ([Orcid ID: 0000-0001-5976-0256](https://orcid.org/0000-0001-5976-0256)), Yeditepe Üniversitesi, Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ali AVCI, e-mail: aliavci05@gmail.com

Bu Çalışma Ali Avcı'nın Doktora Tezinden Üretilmiştir.

GİRİŞ

Son yıllarda, plastiğin çevreye verdiği zarar, petrol kaynaklarının tükenme olasılığı ve çöp depolama alanlarının kontrol edilemez artışı gibi nedenlerden dolayı çevre dostu polimer ve kompozitlerin endüstriyel uygulamalarda kullanımı artmıştır. Çevre felaketlerinin artması ve küresel ısınma hükümetleri yeşil, doğa dostu malzemelerin kullanılması için rol almaya zorlamaktadır. Bu nedenle, biyobozunur malzemelerin geliştirilmesi ve endüstriyel olarak kullanımı hem araştırmacıların hem de sanayi kuruluşlarının ilgisini tekrardan çekmeye başlamıştır. Doğal lif takviyeli polimer matrisli kompozit malzemeler ve biyopolimerler; sürdürülebilir kaynaklardan elde edilmiş çevre dostu malzemelerdir. Keten, kenevir, hint keneviri, harakeke ve sabır ağacı gibi doğal lifler tamamen biyobozunur olmaları, kolayca geri dönüşebilmeleri ve sentetik liflere nazaran karbon salınımlarının çok düşük olmasından dolayı sentetik liflerin yerine kullanılmaya başlanmıştır. Dahası bu lifler, düşük sera gazı salınımı, düşük zehirli gaz salınımları, kazanım maliyetlerinin düşük olması ve petrole bağımlılığı azaltma gibi önemli avantajları vardır. Maliyet açısından bakıldığında, doğal liflerin tonu yaklaşık olarak 200 dolar iken cam liflerin tonu 1200-1800 dolar, karbon liflerin tonu ise 12500 dolardır. Doğal liflerin üretimi için gerekli olan enerji sarfiyatı da oldukça düşük olup, yaklaşık 4 Gigajoule (GJ)'dür. Bu değer cam lifler için yaklaşık 30 GJ, karbon lifler için ise 130 GJ'dir (Huda ve ark., 2008). Yeşil kompozitler kendini yenileyebilen, sürdürülebilir kaynaklardan gelmeleri, düşük yoğunluk ve yüksek özgül dayanımlarından dolayı otomobil sektöründe birçok parçada petrol türevli malzemelere ve parçalara alternatif olarak kullanılmaktadırlar (Liu ve ark., 2012; Silva ve Fontul, 2013). Doğal lifler hayvansal, mineral ve bitkisel türevli olmak üzere temelde üç farklı kaynaktan elde edilmektedirler. Bitkisel türevli lifler genellikle dayanıklı kompozit malzeme üretiminde polimer matris içerisine takviye elemanı olarak kullanılmaktadır. Hayvansal türevli lifler, başlıca proteinden meydana geldiği için mineral ve bitkisel türevli takviye elemanlarına göre daha düşük dayanımları vardır. Selüloz esaslı lifler; keten, hint keneviri, rami, kenevir gibi bast lifler, pamuk ve Hindistan cevizi gibi tohum esaslı lifler, sabır ağacı, ananas, abaka gibi yaprak esaslı lifler ve son olarak, çeltik, mısır ve buğday gibi kamış esaslı lifler olarak farklı sınıflara ayrılabilir (Mohammed ve ark.,2015).

Matris malzemesi olarak kullanılan biyopolimerler çevresel etkileri, düşük sera gazı salınımları, doğada kendi kendine tükenebilmeleri, sağlık riski taşımamaları ve atık problemlerinin olmamasından dolayı petrol türevli polimerler yerine tercih edilmektedirler. Ancak biyopolimerlerin su-nem tutmaları, ani sıcaklık değişimlerine ve UV ışınlarına dayanımlarının düşük olması gibi nedenlerden dolayı uygulama alanları kısıtlıdır. Yenilenebilir kaynaklardan elde edilen poli (laktik asit) (PLA), petrol türevli polimerlere alternatif olarak sıklıkla kullanılan termoplastik alipatik polyester esaslı bir biyopolimerdir. PLA'nın biyobozunur (González-Ausejo ve ark., 2017; Wang ve ark., 2019) olmasından dolayı son yıllarda biyomedikal, paketleme ve otomotiv sektörü gibi birçok alanda kullanımı artmıştır. Günümüzde, PLA başta polipropilen olmak üzere, petrol türevli polimerlerin yerine alternatif olarak endüstriyel ölçekte kullanılmaya başlanmıştır. PLA, herhangi bir çevresel zarara neden olmaksızın mekanik özellikleri bakımından birçok petrol türevli polimer ile yarışabilmektedir. PLA'nın yüksek dayanım, rijitlik, sertlik, şeffaflık, biyoyuymululuk ve biyobozunurluk gibi üstün özellikleri tercih edilme nedenidir. Ancak PLA'nın doğasından gelen kırılğan yapısından dolayı tek başına ticari uygulamalarda kullanımı sınırlıdır. Aynı zamanda PLA petrol türevli polimerlere nazaran hala pahalı olması da ayrıca bir kısıttır. Biyokompozit malzemeler; matris malzemesi olarak doğal reçineler, takviye malzemesi olarak ise doğal lifler kullanılarak üretilen kompozitlerdir. Bilindiği üzere inşaat, uçak, otomotiv, plastik endüstrisi gibi farklı alanlarda bu kompozit malzemeler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Geçtiğimiz son yirmi yıl içerisinde doğal ve yenilenebilir kaynaklardan elde edilen liflerin, petrol türevli polimer matrise ilave edilerek üretilen kompozit malzemelere yönelik çalışmaların arttığı görülmektedir. Aslında doğal lif takviyeli kompozitlerin ilk olarak endüstriyel kullanımı 1940'larda Henry Ford tarafından doğal kenevir takviyeli otomotiv parçaları üretilerek yapılmıştır (Drzal ve Group, 2005). Ancak, ekonomik nedenlerden dolayı üretilen prototip seri üretime geçememiştir. Doğal lif takviyeli kompozitlerin otomotiv sektöründe seri üretimi ise, ilk olarak 1950 yılında olmuştur. Doğu Almanya'da bir otomobil firması "Trabant" adındaki aracın gövdesini pamuk takviyeli polyester matrisli kompozitten üretmiştir. Havacılığın gelişmesiyle cam takviyeli kompozitler geniş bir endüstriyel uygulama alanı bulmuştur. 1970 ve 1980'lerde otomobil iç parçalarında doğal liflerin yerine özelliklerini kontrol etmek daha kolay ve üretimleri hızlı olduğu için akrilonitril bütadien stiren (ABS) gibi petrol türevli lifler almıştır. 1980'lerin ortasına gelindiğinde, Avrupa birliği ülkelerinde, doğal liflerin ekolojik ve ekonomik etkilerinden dolayı teknik ve mekanik özelliklerinin tekrardan araştırılması için teşvikler verilmiştir. 1990'ların ortasında Mercedes E-Class ve Audi A2 modellerinde hint keneviri takviyeli plastik matrisli kapı içi panelleri ve iç konsol parçalarında biyokompozitler kullanılmıştır. 2000 yılında, Avrupa birliği tarafından yayınlanan bir yönergede (2000/53/EG); 2005 yılına kadar araçlarda kullanılan malzemelerin %85'inin geri dönüştürülebilir olması ve 2015 yılına kadar bu oranın %95'e çıkması gerektiği kararı alındı (Silva ve Fontul, 2013).

Biyokompozitler

Biyokompozit; kompoziti oluşturan matris veya takviyeden birinin veya her ikisinin de doğal kaynaklardan gelen malzemelerden olmasıdır (Rafiee ve ark., 2021). Genel olarak biyokompozitler geleneksel kompozit malzemelere alternatif ve çok farklı uygulamalarda kullanılmak üzere polimerik bir matris malzemesi ve içerisine takviye edilmiş liflerden oluşmaktadır. Biyokompozitler genellikle doğal lifler ve PP, PE, polivinil klorür (PVC), polyester (PS) gibi petrol esaslı ya da PLA, PHB polihidroksialkanoatlar (PHA) gibi biyopolimerler matrislerden oluşabilir (Silva, 2018). PLA ve soya reçinesi gibi biyopolimer matris içerisine sentetik cam veya karbon lifleri takviye edilerek elde edilen kompozitler de biyokompozit olarak adlandırılmaktadır. Biyokompozitler, eğer hem matris hem de takviye doğal kaynaklardan elde edilmişse yeşil kompozit olarak adlandırılır. Takviye elamanı olarak sürdürülebilir kaynaklardan gelen doğal malzemeler veya inorganik malzemeler kullanılabilir (Dicker ve ark., 2014)(Annandarajah, 2020). Örneğin; poli(ϵ -caprolactone) (PCL) petrol türevli kaynaklardan gelmesine rağmen karbondioksit, su, metan ve biyokütleyle aerobik/anaerobik biyolojik süreçler için tamamen biyobozunurdur. Yeşil ve biyoesaslı terimleri, kompozitin bir veya iki yönünü ele alırken, kompozitin kökeninden atık yönetimine kadar tüm kullanım hayatını kapsayan 'sürdürülebilir' biyokompozitler ile karıştırılmamalıdır (Rafiee ve ark., 2021). Tüm biyoesaslı polimerler biyobozunur olduğu gibi, bazı petrol esaslı polimerler de mikroorganizmalar, foto bozunma veya hidroliz yoluyla bozunabilmektedir. Biyolojik bozunma süreci, malzemenin kaynağından bağımsız olup tamamen polimerin moleküler yapısıyla yakından ilişkilidir (Annandarajah, 2020). Petrol esaslı polimerlerin kullanımı sonrası çevreye verdikleri zararlar ve petrol fiyatlarının artması biyokompozitlere olan ilgiyi ve ihtiyacı artırmıştır. Özellikle, petrol esaslı polimerlerin atıklarının ekolojik sistemdeki bozunmaz doğası, daha çevre dostu malzemelerle ilgili araştırmaların artmasına neden olmuştur (Cindu Annandarajah, 2020; Wu ve ark., 2020). Doğal liflerin düşük yoğunlukları ve üstün mekanik özellikleri cam lif ile yarışabilecek seviyede olduğundan sentetik liflerin yerini almıştır. 20. Yüzyılın ortalarından sonra endüstride kullanılan doğal lifler ve doğal malzemelerin yerine; seri olarak üretilen, mekanik dayanımları yüksek ve özellikleri kontrol edilebilen cam, karbon, aramid ve seramik gibi lifler kullanılmaya başlandı (Annandarajah, 2020). Ancak, bu malzemelerin çevreye olan olumsuz etkileri

küresel boyutlara ulaşması ve ekolojik yaşamı olumsuz olarak etkilemesi üzerine yapı, havacılık, otomobil ve spor eşyaları malzemelerinde doğal veya biyobozunur malzemelere dönüşler başladı. Geri dönüşebilen, hafif, doğal ve maliyeti oldukça uygun olan biyokompozitlerin üretimi ve araştırılması ilgi çekmektedir. Biyokompozitler, yenilenebilir doğal kaynaklardan gelen biyoesaslı polimerler ve doğal takviyenin bir araya gelmesiyle oluşan ve yenilenemeyen kaynaklardan üretilmiş petrol türevli kompozitlerin iyi bir alternatifidirler. Biyokompozitler sadece ekolojik hayata değil aynı zamanda insan sağlığına da zararı yoktur (Vilaplana ve ark., 2010).

Yeşil kompozitler

Artan çevre sorunları ve diğer yandan çok yönlü polimer esaslı malzemelere olan ihtiyaç, doğal-organik matris malzemeleriyle üretilen kompozitlere, yani yenilenebilir kaynaklardan gelen ve biyolojik olarak parçalanabilen malzemelere olan ilgiyi artırmıştır. Genellikle "yeşil" olarak adlandırılan bu kompozitler, birçok endüstriyel uygulama alanı bulabilir (La Mantia ve Morreale, 2011). Yeşil kompozitler, hem takviye elemanının hem de polimerin doğal veya geri dönüştürülmüş kaynaklardan meydana gelmiş kompozit malzemelerin alt sınıflarından biridir. Yeşil kompozitler, yeni nesil sürdürülebilir kompozit malzemelerdir ve geri dönüştürülebilir veya biyolojik olarak parçalanabilen hafif ve güçlü kompozitlerdir.

Doğal lif takviyeli kompozitler

Küresel ısınmanın ana nedenlerinden birisi insanoğlunun farklı nedenlerle atmosfere yaymış oldukları sera gazları olduğu bilinmektedir. Atmosfer yayılan CO₂'in ana kaynaklarına bakıldığında fosil yakıtlar (kömür, petrol ve doğalgaz) karşımıza çıkmaktadır. Avrupa Komisyonu İklim Raporuna göre küresel ısınmanın %63'üne insanoğlunun neden olduğu açıklanmıştır (EU climate action ve the European Green Deal, 2021). Avrupa Birliği ülkeleri sera gazı salınımının 2030 yılına kadar en az %55 azaltma kararı almıştır. Bu nedenle, düşük CO₂ salınımı ve doğal kaynakların kullanımına yönelik yenilikçi çalışmalar desteklenmektedir. Endüstriyel cam, aramid ve karbon lifler mekanik özelliklerinin iyi olması ve üretim kolaylığı nedeniyle kompozit malzeme yapımında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ancak cam ve karbon liflerin geri kazanımının olmaması, üretim maliyetlerinin yüksek ve üretimleri esnasında yayılan CO₂ oranının fazla olması nedeniyle artık yerlerini yavaş yavaş doğal liflere bırakmaktadırlar. Doğal lif takviyeli kompozitler çoğunlukla rastgele dağılmış kısa lifli bir yapıya sahiptirler. Süreksiz lif takviyeli olmalarından dolayı sürekli lif takviyeli kompozitlere nazaran elastik modülü ve çekme dayanımları daha düşüktür. Üretim yöntemleri çeşitli olup sıklıkla seri üretime de uygun olan enjeksiyon kalıplama (Patil ve ark., 2017; Hassan ve ark., 2019; Hatipoğlu, 2020) sıkıştırma kalıplama (Couture ve ark., 2016; Rubio-Lópezve ark., 2017) ve ekstrüzyon (Gamon ve ark., 2013) yöntemleri ile üretilmektedirler. Plastikler için kullanılan birçok üretim yöntemi, süreksiz lif takviyeli kompozitlerinin imalatında da kullanılabilir.

Doğal lif takviyeli kompozitlerin geliştirilmesinin bir başka nedeni de doğal liflerin sentetik liflere göre (ör: cam 2.4 g cm⁻³) daha düşük yoğunluğa (genellikle 1.2-1.6 g cm⁻³) sahip olmalarıdır. Ayrıca, doğal lifler cam liflere göre solunum ve cilt problemleri gibi sağlık sorunları bakımından zararsızdırlar. Doğal lif takviyeli kompozitler, aynı zamanda "yeşil kompozitler", "ekokompozitler" ve "biyokompozitler" olarak da adlandırılır; burada doğal lifler, termoset veya termoplastik matrise takviye edilerek kompoziti üretilir. Bitkisel doğal liflerin hidrofilik özelliği hidrofilik olan polimer matrise takviye edildiğinde zayıf ara yüzey bağı oluşmasına neden olmaktadır. Bu şekilde üretilen kompozitler ise daha düşük mekanik ve termal özelliklere sahiptirler. Bu nedenle, lif ve matris arasındaki tutunmayı geliştirmek için çeşitli lif-polimer arayüz modifikasyonları geliştirilmiştir. Doğal lif takviyeli kompozitlerin mekanik özelliklerini başlıca matris seçimi, kompozitin üretim yöntemi ve süreci, lif

seçimi (lifin tipi, hasat zamanı, çıkarılma yöntemi, en boy oranı ve uygulanan işlemler), arayüzey bağı, lif dağılımı ve boşluklu yapı etkilemektedir.

Doğal lif takviyeli kompozitler yüksek özgül dayanımları, hafiflikleri ve rakiplerine göre ekonomik olmalarından dolayı gelecekte kompozit uygulamaları için çok ümit vermektedirler. Özellikle keten ve jüt takviyeli kompozitler otomotiv ve yapı sektöründe sıklıkla uygulama alanı bulacağı ön görülmektedir. Literatürde; (Thwe ve ark., 2002; Soleimani ve ark., 2008; Andrzej ve ark., 2009; Yan, ve ark., 2012; Efendy ve ark., 2014; Gamon ve ark., 2013; Le Duigou ve ark., 2014; Rana ve ark., 2017;Hoque ve ark., 2018) yeşil kompozitlerin ve doğal lif takviyeli kompozitlerin otomotiv parçasından, inşaat malzemesine kadar birçok alan için geliştirildiği görülmektedir. Bambu, keten, kenevir, jüt ve hindistancevizi gibi doğal lifler polimeri güçlendirmek için iyi birer takviye elamanı olarak ortaya çıkan yenilenebilir kaynaklardır. Yolcu uçakları incelendiğinde Airbus A380 %25'ini, Boeing 787 Dreamliner'ın %50'sini, A350'nin ise %53'ünü oluşturmaktadır (Karthi ve ark., 2019). Uçaklarda doğal lif takviyeli kompozitlerin kullanılmaya başlanmış olup eğer bu kompozitler daha da geliştirilebilirse uçağın birçok parçasında kullanılması mümkün olacaktır.

Bitkilerin hücre duvarları, çoğunlukla çapraz bağlı polisakkarit ağları, glikozillenmiş proteinler ve lignin matrisi olan lignoselülozdan oluşan karmaşık yapılardır. Lignoselülozik malzemeler, doğal ve yenilenebilir kaynaklardan elde edilen hammaddedir. Lignoselülozik biyomalzemeler selüloz (%38-50), hemiselüloz (%17-32) ve lignin (15-30%) olmak üzere üç temel yapısal bileşenden meydana gelirler. Selüloz, dünyada en çok bulunan organik polimerdir. Doğadaki bitkilerden elde edilebildiği gibi tekstil, gıda ve orman endüstrisinin çeşitli atıklarından da elde edilebilme imkânına sahiptir. Lignin ise selüloz ve hemiselülozdan sonra dünyada en bol bulunan ikinci polimerdir. Son birkaç yıldan beri, enzimlerin endüstriyel uygulamalardaki taleplerinin artmasından dolayı pamuk, atık kağıtlar, tarımsal atıklar gibi birçok selüloz esaslı malzemenin uygulama alanı da genişledi. Lignoselülozik nanomalzemeler otomotiv, kompozit, boya, uzay-uçak, kimya, elektronik, enerji, tekstil, jeller/köpükler, bariyer/ayırma membranları, kozmetik, gıda ambalajları, tıbbi implantlar, yara örtüleri, ilaç bilimi ve doku mühendisliği gibi çok çeşitli alanlarda uygulama potansiyeline sahiptir.

Nano ölçekli malzemeler, geleneksel malzemelere kıyasla üstün fiziko kimyasal, optik, manyetik ve biyolojik özelliklere sahip malzemeler olup yaklaşık 100 nm ve daha küçük boyutlara sahiptirler. Nanomalzeme, yüksek yüzey alanı-hacim oranı, yüksek elastiklik modülü ve yüksek gerilme mukavemeti, düşük termal genleşme katsayısı, hidrojen bağlama kapasitesi, biyouyumluluk, çevre dostu olma ve yenilenebilirlik gibi önemli özelliklere sahiptirler. Genel olarak, Nanoselüloz mikrofibrillenmiş selüloz (MFC), nanokristalin selüloz (NCC) ve bakteriyel nanoselüloz (BNC) olmak üzere üç farklı tipte üretilmekte ve bu ürünler farklı boyutlarda olup, farklı özellikleri ve farklı üretim metotlarını kapsamaktadırlar. Birinci kategori mikrokristalin selüloz ve selüloz mikrofibrilleri içerirken, ikincisi selüloz nano kristalleri, selüloz nano fibrilleri ve bakteriyel selülozu içerir. Genellikle asit hidrolizi ile üretilen selüloz nanokristalleri, 4-70 nm genişliğinde, 100-6,000 nm uzunluğunda ve %54-88 kristallik indeksine sahip silindirik, uzun, daha az esnek ve çubuk benzeri nano parçacıklardan oluşur (Trache ve ark. 2020).



Şekil 1. Selülozik nanoliflerin elde edilmesi ve uygulama alanları (Trache ve ark. 2020)

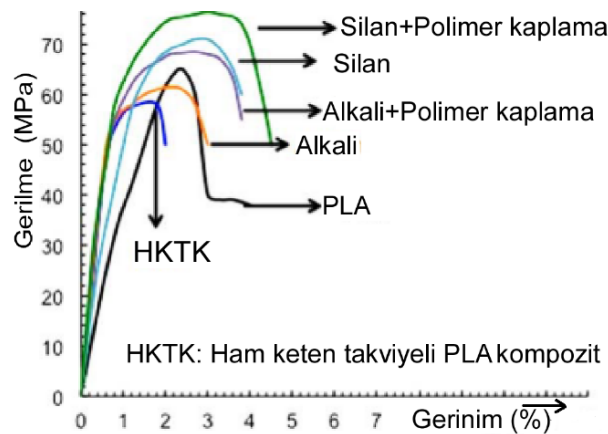
Lignoselülozik biyokütleden CNF üretimi için kullanılan en yaygın yaklaşım kimyasal, mekanik ve enzimatik işlem veya bunların bir kombinasyonu şeklindedir. Amorf nanoselüloz (ANC), çapı 80 ila 120 nm arasında değişen küresel veya eliptik şekle sahip başka bir nanoselüloz sınıfıdır. Fiziksel bir çözünme, şekillendirme ve rejenerasyon prosesi yoluyla doğrudan selüloz çözeltisinden elde edilir. Daha yakın zamanlarda, 3 nm çapındaki birbirine dolanmış selüloz nanofibrillerin oluşturduğu selüloz nanoplateletler (CNP), ılımlı koşullar altında oksidasyon yoluyla hazırlanmıştır. Bu tür CNP'nin kalınlığı yaklaşık 80 nm'dir. Nanometrik ölçekteki nano lifler, zehirli olmayan, yüksek özgül yüzey alanı, kolay işleme, yüksek en-boy oranı, sertlik ve iyi termal kararlılık gibi üstün özellikleri nedeniyle birçok uygulama alanı bulmuştur (Trache ve ark. 2020). Şekil 1'de selülozik liflerden nanoselüloz elde edilmesi ve nanoselülozların kullanım alanlarına örnekler verilmiştir.

Yeşil kompozitlerin mekanik özellikleri

Çizelge 1'de biyokompozitlerin üretim yönteminin ve uygulanan modifikasyonun kompozitin mekanik, termo-mekanik özelliklerine etkileri literatürden derlenmiştir. PLA, PLLA matris ve keten, rami veya hint keneviri gibi doğal liflerden yapılan yeşil kompozitlerin geleneksel PP/cam takviyeli kompozitlerin performansına benzediği görülmektedir. Oksman ve diğerleri, (Oksman ve ark., 2003), PP/cam kompozit ile PLA/keten kompozitlerin mekanik özelliklerini karşılaştırmış olup PLA/keten kompozitin özelliklerinin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, mekanik özellikleri bakımından, birçok doğal lifin PP, PHB ve nişasta esaslı matrislere kıyasla PLA matris ile daha uyumlu olduğu bilinmektedir. Örneğin; Bax ve Müssig (2008), ekstrüzyon ile karıştırıp enjeksiyon kalıplama ile ürettikleri %30 ağırlıkta keten takviyeli PLA kompozitin çekme dayanımını 54 MPa olarak bulurken, Avcı ve ark., (2020), benzer yöntemle ürettikleri %25 ağırlıkta keten takviyeli PLA kompozitin çekme dayanımını 30 MPa olarak bildirmişlerdir. Yeşil kompozitlerin mekanik dayanımları selülozik lif ile polimer matris arasındaki etkileşime bağlıdır. Arayüzey bağı kuvveti arttıkça kompozitin mekanik özellikleri de artmaktadır (Siakeng ve ark., 2019; Gholampour ve Ozbakkaloglu, 2020; Syduzzaman ve ark., 2020). Ayrıca, lifin türü, yoğunluğu, kimyasal yapısı, boyutu, mekanik özellikleri, kompozit içerisindeki dağılımı, kompozit yapıdaki oranı, hasat şekli, yetiştiği yer ve dokuma şekli biyokompozitlerin mekanik özelliklerini doğrudan etkiler (Cha ve ark., 1998; Gassan ve ark., 2002; Mohammed ve ark., 2015; Karthi ve ark., 2019; Gholampour ve Ozbakkaloglu, 2020; Mann ve ark., 2020; Shrivastava ve Dondapati, 2021; Zhan ve ark., 2021). Yeşil kompozitlerin çekme dayanımı, esas olarak matris ve lif

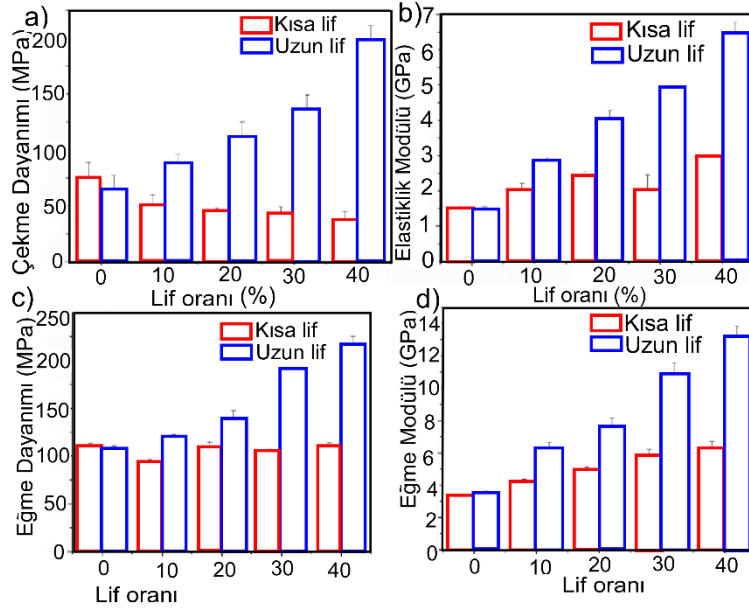
arasındaki bağlanma kuvvetine bağlıdır. Arayüzey bağı ne kadar kuvvetli olursa çekme dayanımı da o kadar yüksek olur. Eğilme dayanımı kompozitin bükülme deformasyonuna karşı direnci anlayabilmek için yapılan bir özelliktir. Yeşil kompozitlerin eğilme özellikleri, kompozitin atalet momenti ve modülüne bağlıdır. Yeşil kompozitlerin darbe dayanımı özellikleri, modifikasyon yöntemleri ile iyileştirilebilir. Darbeye maruz kalacak uygulamalarda, otomotiv, yapı vb. kullanılacak olan kompozitlerin darbe dayanımları önemlidir. Arayüzey bağı, lif oranı ve lif çekme ve enerji emme yeteneğini yeşil kompozitlerin darbe dayanımını etkileyen başlıca faktörlerdir.

Genel olarak, doğal lif takviyeli kompozitlerin mekanik özellikleri, sentetik lif takviyeli kompozitlere göre daha düşüktür. Yeşil kompozitler; hidrofilik selülozik lifler ve hidrofilik polimer matristen üretildiği için çoğu zaman arayüzey bağı zayıf olur ve mekanik özellikleri bu durumdan olumsuz etkilenir. Doğal lifin ve/veya polimer matrisin fiziksel ve/veya kimyasal modifikasyonu, ara yüzey bağı artırarak kompozitin mekanik özelliklerini artırır. Literatürde yeşil kompozitlerin mekanik özellikleri alkali, (O'Donnell ve ark., 2004; Hao ve ark., 2018; Jain ve ark., 2019; Maichin ve ark., 2020;) esterifikasyon (Azizah ve ark., 2020; Roy ve ark., 2020; Feng ve ark., 2020; Ko ve ark., 2020; Najeeb ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020; Asumani ve Paskaramoorthy, 2021), silan ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020) ve maleik anhidrit (Hong ve ark., 2008; Soleimani ve ark., 2008; Yu ve ark., 2014; Bodur ve ark., 2016; Avcı ve ark., 2020) gibi farklı işlemlere tabi tutularak iyileştirildiği görülmektedir. Pantani ve ark., (Pantani ve ark., 2015), keten lifini alkali, silan ve polimer kaplayarak PLA matrisli kompozitin çekme dayanımına etkisi verilmektedir. Alkali ve silan işlemi kompozitin çekme ve yüzde uzama değerlerini artırdığı görülmektedir.



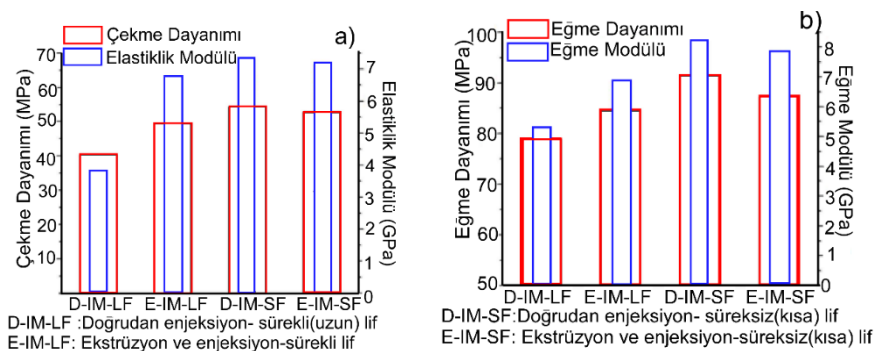
Şekil 2. Farklı kimyasal işlemlerin yeşil kompozitin gerilme-gerinim özelliklerine etkisi (Pantani ve Turng, 2015)

Dhokal vd. (Dhokal ve ark., 2013), epoksi matris içerisine çapraz dokunmuş ve tek yönlü olmak üzere iki farklı açılı keten lifini takviye ederek kompozit üretmişler. Yapılan çekme testi sonrasında tek yönlü keten takviyeli kompozitin çekme dayanımı çapraz dokulu keten kompozite göre %26 daha yüksek çıkmışken, elastik modülünün ise %10 daha az olduğunu bulunmuştur. Liang vd. (Liang ve ark., 2021), farklı lif oranlarında ve sürekli, süreksiz olmak üzere PLA matrisli keten lifi takviye etmişlerdir. Lifin sürekli veya süreksiz olması kompozitin mekanik özelliklerini önemli oranda etkilemiştir. Şekil 3'te verilen grafiklerde görüldüğü üzere sürekli(uzun) lif takviyeli kompozitin elastiklik modülü ve çekme dayanımı lif oranı arttıkça artmıştır.



Şekil 3. Lif oranının ve lif boyutunun kompozitin: a) çekme dayanımı, b) elastiklik modülü, c) eğme dayanımı, d) eğme modülü (Liang ve ark., 2021)

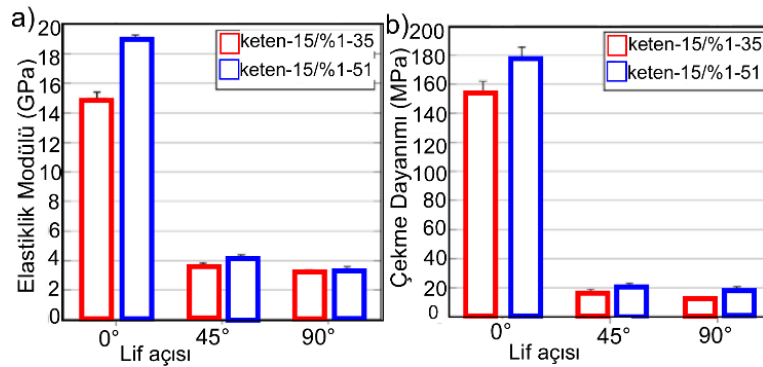
Süreksiz (kısa) lif takviyeli kompozitler de ise lif oranının artması çekme dayanımını düşürürken elastiklik modülünü artırmıştır. Çalışmada, en yüksek darbe dayanımı ve eğme dayanımı %40 uzun lif takviyeli kompozit malzemede elde edilmiştir. Zhan ve arkadaşları, (Zhan ve ark., 2021), kenaf ve hint keneviri lifi oranının kompozitin mekanik özelliklerine etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, kompozit yapıdaki lif oranı arttıkça, elastiklik modülü ve çekme dayanımı belirli bir lif oranına kadar artmış sonrasında ise azalmaya başlamıştır. Literatürde, araştırmacılar farklı sonuçlar bulmuş olsa da genel olarak belirli bir orana kadar matris içerisindeki lif oranı arttıkça kompozitin çekme dayanımı ve elastiklik modülünün arttığı görülmektedir. Lif uzunluğu da yeşil kompozitlerin mekanik özellikleri etkileyen önemli diğer bir faktördür. Kısa lif takviyeli kompozitler de lifin uçundaki gerilme yoğunlaşması nedeniyle, çekme yükü altında bu noktalarda matris çatlağı oluşumu başlar. Numunedeki çatlak kritik bir noktaya ulaştığında lif artık gelen yükleri karşılayamaz ve dayanım düşer. Yeşil kompozitler de en-boy oranı (veya uzunluk / çap), kompozitin mekanik özelliğini etkileyen farklı bir özelliktir. Arayüzey bağı kuvvetli ve yük aktarımı verimli olduğunda, gerekli kritik en-boy oranı daha düşük olabilir. Ama diğer durumlarda en-boy oranı yüksek olmazsa mekanik özellikler olumsuz etkilenmektedir (Pantani ve Turng 2015). Kompozitin üretim yöntemi de mekanik özelliklerini etkilemektedir.



Şekil 4. Farklı üretim yöntemi ile üretilmiş PLA/sisal kompozite ait: a) çekme dayanımı ve elastiklik modülü, b) eğme dayanımı ve eğme modülü değerleri (Chaitanya ve Singh, 2016)

Kısa lif takviyeli kompozitte ise üretim yönteminin etkisi çok olmadığı görülmektedir. Hu ve Kim Chaitanya ve Singh (Chaitanya ve Singh, 2016), doğrudan enjeksiyon ve ekstrüzyon sonrası enjeksiyon

olmak üzere iki farklı yöntemle üretilen PLA/sisal kompozite üretim yönteminin etkilerini incelemiştir. Şekil 4'te görüldüğü üzere doğrudan enjeksiyonla uzun lifli kompozit üretmek çekme dayanımı, eğme dayanımı ve elastiklik modülü ve eğme modülünü düşürmektedir. (Hu ve Lim 2007), sıcak baskı yöntemi kullanılarak kenevir lifini PLA matrise takviye ederek kompozit ürettiler. Çalışmada, hacimce %30, %40 ve %50 oranında alkali muamele edilmiş ve herhangi bir işlem uygulanmamış kenevir lifleri takviye edilerek optimum lif oranı test sonuçlarına göre belirlendi. Aynı zamanda, alkali işleminin lif yüzey morfolojisine ve kompozitlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkileri araştırıldı. Test sonuçları, alkali ile muamele edilmiş hacimce %40 lif takviyeli biyokompozitin mekanik özelliklerinin en yüksek değerler olduğunu göstermiştir. %40 alkali kenevir/PLA kompozitin çekme dayanımı, elastik modülü ve eğilme mukavemeti sırasıyla 54.6 MPa, 8.5 GPa ve 112.7 olarak bulunmuştur. Bu değerlerin tümü matrise göre artış göstermiştir.



Şekil 5. Farklı açılarda dokunmuş keten lifinin kompozitin çekme dayanımına ve elastiklik modülüne etkileri (Keck ve Fulland, 2016)

Keck ve Fulland (Keck ve Fulland, 2016), tek yönlü hizalanmış keten lifleri takviye edilen epoksi kompozitlerin mekanik ve kırılma mekaniği davranışlarını deneysel ve sayısal olarak incelemiştir. Şekil 5'te lif açısının ve keten oranının çekme dayanımı ve elastiklik modülüne etkileri verilmektedir. Çalışmada hem elastiklik modülü hem de çekme dayanımı artan lif oranı ile artmıştır. Ayrıca, lif açısı 0°'den 90°'ye doğru gittikçe her iki dayanım değeri de düşmüştür.

Çizelge 1. Yeşil ve biyokompozitlerin mekanik ve viskoelastik özelliklerine dair yapılmış mevcut çalışmaların özeti

Kompozit	Kimyasal işlem	Lif tipi ve oranı (%)	Üretim yöntemi	E_t (GPa)	Çekme dayanımı (MPa)	E_f (GPa)	Eğme dayanımı (MPa)	Darbe dayanımı kJ m^{-2}	Uzama (%)	Ref.
PLA/keten	Kontrol	Kısa lif, %30 ağ.	Ekstrüzyon, sıcak kalıplama	3.4 ± 0.9 ($\uparrow M60$ %)	60.1 ± 1.7 ($\uparrow M1.5$ %)					(Zhang ve ark., 2018)
PLA/keten	Dopamin hidroklorür	Demir fosfat		2.9 ± 0.1 ($\uparrow M38$ %), (K \downarrow)	55.4 ± 0.9 ($\downarrow M6$ %), (K \downarrow)					
PLA/kordenka		Kısa lif, %30 ağ.	Ekstrüzyon, enjeksiyon kalıplama	4.85 ± 0.03 (M \uparrow)	58 ± 5			72.2 ± 11		(Bax ve Müssig, 2008)
PLA/keten				6.3 ± 0.1	54.15 ± 5			11.13 ± 1.5		

PLA/ keten	Alkali %5 ve MA	Kısa lif, %15 ağ.	Ekstrüzyon , Enjeksiyon kalıplama	(M↑)	~5.8(K↓)	~47(↑ K%27)	2.27±0. 13 (K↓)	50±2.3 (↑K)	15±0.1 (↑K 100)	8.2±1.7 (↑K)	(Avcı, ve ark. 2020)
	Alkali %5 ve MA	Kısa lif, %25 ağ.		~6.8(K↓)	~51 (↑K %70)	2.3±0.2 (K↓)	36±3 (↑K)	13±0.5 (K%100)	7.4±0.3 (↑K)		
	Kontrol	Kısa lif, %15 ağ.		~6(↑ M)	~35 (↓M)	2.9±0.1 8 (↑M)	22,4±1	7.8±0.1	2.2±0.1		
	Kontrol	Kısa lif, %25 ağ.		~7(↑ M)	~30 (↓M)	2.52±0. 15 (↑M)	24.3±1. 2	6.3±1.5	2.06±0.1		
PLA/ rami	Silan %2	Kısa lif, %30 ağ.	Ekstrüzyon , sıcak kalıplama		64.2 ± 0.7 (K↑%1 8)		145 (K↑%32)	15 (K↑%50)	3.6±0.1 (K↑%13)	(Yu ve ark., 2010)	
	Alkali %5				66.8 ± 1.7 (↑K%2 7)		~170 (K↑%54)	23 (K↑ %130)	4.8±0.2 (K↑%50)		
PLA/ keten	Kontrol	Tek yönlü dokuma lif, %22 ağ	Sıcak kalıplama			~14	~160		~2.5	(Georgio poulo ve ark, 2018)	
	%1 Silan					~15.5 (↑K 10 %)	~180 (↑K 12.5%)		~2.7		
	%2 Silan					~15 (↑K 7%)	~185 (↑K 15.5%)		~2.6		
	%3.5 silan					~14 →	~175 (↑K %9)		~2.8		
	%5 silan					~13.5 (↓K 3.5%)	~170 (↑K% 6)		~2.6		
PLA/ keten	Silan %2	Tek yönlü dokuma lif, %22 ağ.	Sıcak presleme	12.5±0 .9 (↑M %260)	102.5± 5.2 (M %85), (↑K)		117±5.7 (↑M %6), (↓ K)		0.015,	(Georgio poulos ve ark.2016)	
	MA %10			25.0 ± 1.4 (↑M %600)	35.0 ± 1.9 (↓M%3 6), (↓K)		63 ± 3.1 (↓M%4 3), (↓K)		0.003		
	Kontrol			16.0 ± 0.80 (↑M %350)	99.0 ± 4.7 (↑M %80)		140 ± 6.9 (↑M %27)		0.016		
	Alkali %5			~3.9 (↑M)	58 (↓M)			~16(↑M ,) (↑K)	5 (↑M), (↑K)		

PLA/ keten	Silan %10	Kısa lif, %30 ağ.	Ekstrüzyon	~3.1(↑M)	27 (↓M)			~17(↑M), (↑K)	6.3 (↑M), (↑K)	(Xia ve ark.2016)
	MA %20			~2.8 (↑M)	57 (↓M)			~14.5(↑M), (↓K)	6 (↑M), (↑K)	
	Kontrol			~2.7 (↑M)	57 (↓M)			~15(↑M %200) (↓K)	4.5 (↑M),	
PLA/ keten	TiO ₂ (oksitlenmiş)	Dokuma, %34 ağ.	Sıcak pres kalıplama	10.5±0.3 (↓K %4.5)	211±2.1 (↑K %12)			~15 (M %200), (↓K)	4.5±0.2 (↑K)	(Foruzan mehr ve ark.2016)
	TiO ₂			9±0.5 (↓K %13)	172±1 (↓K)			~16.5 (↑M %230), (↓K)	3.8±0.2 (↑K)	
	Kontrol			11±0.4	188±6.2			18 (↑M %260)	3.4±0.2	
PLA/ keten	Silan	Kısa lif, %25 ağ.	Ekstrüzyon enjeksiyon	~1.88 (↑M)	~73(↑M)			~12 (↑M)	~4 (↑M)	(Pantani ve Turng, 2015)
	Alkali			~1.9(↑M)	~63(↓M)			~12.2 (↑M)	~3 (↑M)	
	Silan +PLA kaplama			~2.2(↑M)	~75(↑M)			~13.5 (↑M)	~4.8 (↑M)	
	Kontrol			1.8 (↑M)	~57(↓M)			~9 (↑M)	~2 (↓M)	
	Alkali - Silan			3±0.09 (↑M)	58.1 ± 0.8 (↑M)	3.9 ± 0.1	91.9 ± 0.3 (M→),(↑K)	16.1 ± 0.1 (↑M %21)	9.76 ± 0.62	
	Alkali-MA			2.78 ± 0.10 (↑M)	57.6 ± 0.6 (↑M)	4.1 ± 0.1 (↑M %10)	92.8 ± 1.9 (↑M), (↑K)	14.4 ± 0.6 (↑M)	7.98 ± 0.33	
	Kontrol			3.4±0.1 (↑M %26)	60±2 (↑M%10)	3.9 ± 0.4	90.2 ± 6.0 (M→)	14.8 ± 0.5 (↑M)	6.06 ± 0.43	
PP/ hint keneviri	MA %3	Kısa lif, %30 ağ.	Ekstrüzyon ve enjeksiyon kalıplama	3.3 ± 0.2	44.7 ± 0.28					(Karmaker ve ark, 1996)
	Kontrol			3.5 ± 0.04	32.5± 0.2					
	MA %3	Kısa lif, %50 ağ.		5.5± 0.3	57.8± 0.3				~5.5	
	Kontrol	5.4 ± 0.4		32 ± 0.5					~2	
Epoksi/ tapsi lifi	KOH %5	%5	Elle yatırma		32.39		54.58			(Reddy ve ark.2021)
	%5	%10			35.97		161.42			
	Alkali %5	%5			36.19		58.44			
	%5	%10			43.02		167.19			
		Sürekli lif, %30 ağ.	Ekstrüzyon ve	~5.5 (↑M)	~150 (↑M)	~11 (↑M)	~190 (↑M)	~45 (↑M)	~6	(Liang ve ark.2021)

PLA/sisal	Alkali %2	Sürekli lif, %40 ağ.	sıkıştırma kalıplama	~6.5 (↑M)	~200 (↑M)	~13 (↑M)	~225 (↑M %105)	~55 (↑M %1000)	~5.5 (↓M)	
		Kısa lif, 30ağ.	Ekstrüzyon ve kalıplama	~2.5 (↑M %40)	~50 (↓M)	~6.5 (↑M)	~110 (↓M)	~10 (↑M %100)	~4.5 (↓M)	
		Kısa lif, %40 ağ.		~3.5 (↑M)	~45 (↓M)	~7 (↑M %100)	~115 (↓M)	~12 (↑M)	~4 (↓M)	
PLA/sisal		Kısa lif, 30ağ.	Ekstrüzyon ve enjeksiyon	~5.5	~52	~7.8	~88	~32		(Singh ve ark., 2016)
		Uzun lif, 30ağ.		~5.2	~50	~7	~85	~42		
		Kısa lif, 30ağ.	Doğrudan enjeksiyon	~5.8	~55	~8.2	~85	~35		
		Uzun lif, 30ağ.		~3.5	~40	~5.2	~80	~44		
PLA/keten	PLA/cam	Kısa lif %30 ağ.	Ekstrüzyon , Basınçlı kalıplama	8.3 ±0.6 (M↑ %147)	53±3.1 (M↑%6)			12 (M↓%20)	1±0.2 (M↓%10)	(Oksman ve ark., 2003)
Dokuma , %30 ağ.		5±0.4		29±4.2				2.7±1.5		
PLA/hint keneviri		Kısa lif, %40 ağ.	Film istifleme	8.1±0.4 (M↑ %131)	72.7±2.3 (M↑%32)			14.3±2.1 (M↓%7)	1.5 (M↓%25)	(Plackett ve ark.2003)
PLA/selüloz	PLA/abaka	Kısa lif, %30 ağ.	Ekstrüzyon , enjeksiyon kalıplama	5.8 (↑M%75)	91.3 (↑M%45)	6.5 (↑M%80)	152 (↑M %150)	7.9 (↑M %260)		(Andrzej ve ark., 2009)
				8.03 (↑M %142)	74 (↑M%17)	7.8 (↑M%15)	124 (↑M %170)	5.3 (↑M %140)		
PLA/keten	PLA/pamuk	Kısa lif, %30 ağ.	Ekstrüzyon , Sıcak kalıplama			4.76 ± 0.09 (↑M58 %)	27.74±1.3 (↓M68 %)		0.95 ± 0.02 (↓M80 %)	(Bajracharya ve Bajwa 2017)
		Kısa lif, %10 ağ.				3.38 ± 0.1 (↑M10 %)	49.8 ± 1.3 (↓M45 %)		2.168 ± 0.09 (↓M55 %)	
PLA/keten		Kısa lif, %30 ağ.	Film istifleme	~8 (↑M %150)	~100(↑M %50)				~1.8 (↓M)	(Bodros ve ark. 2007)

PP-g-MA/keten	Kısa lif, % 30 ağı.	sıkıştırma kalıplama	~6 (↑M %300)	~75 (↑M %188)				~1.8 (↓M)	
ZF03UA/keten	Kısa lif, % 30 ağı.		~3 (↑M)	~45 (↑M %550)				~2 (↓M %1500)	
PLA/keten	Keten dokuma, %30 ağı.	Sıcak pres kalıplama	13±0.9	72.2±2				1.5	(Nassiopoulos ve ark., 2015)
PLA/epoksi			7.6±0.4	90±4.8				1.85	
PHBV/hint keneviri	Sürekli lif, %30 ağı.	Sıkıştırma kalıplama	7 ± 0.26 (↑M)	35.2 ±1.3 (↑M %29)			~32 (↑M %540)	0.8	(A. K. Bledzki ve Jaszkiwicz 2010)
PLA/hint keneviri			9.6 ± 0.3 (↑M)	82±3 (↑M %29)			~5 (↑M %100)	1.8	

E: Elastiklik modülü

(↑M, ↓M): Matrise göre artış ve azalmayı ifade etmektedir

E_f: Eğme modülü

(↑K, ↓K): Kontrol grubuna göre artış ve azalmayı ifade etmektedir

E': Sönümlenme modülü

MA: Maleik anhidrit

Yeşil kompozitlerin otomotiv sektöründe kullanımı

Yeşil kompozitler doğal lifler ve doğal matristen oluşan doğrudan doğadan elde edilen çevre dostu kompozitlerdir. Sentetik lifler ve petrol türevli polimerler mühendislik uygulamalarında çok fazla kullanım alanı bulmuş olsa da ciddi çevresel tehlikeleri vardır. Yenilenemeyen kaynaklardan, üretilen bu tür kompozitler kullanım ömrünün sonunda büyük miktarlarda atık üretir ve tamamen bozulmaları için uzunca bir süre gerekir. Son yıllarda, maliyeti, CO₂ yayımı ve petrol bağımlılığını azaltmak için sentetik malzemelerin doğal malzemeler ile değiştirilmesine yönelik çalışmalar artmıştır. Sanayileşmiş ülkelerdeki toplam sera gazı salınımlarının %20 ila %25'inin ulaşım sektöründen geldiği tahmin edilmektedir (Koronis ve Silva 2018). Bu nedenle, otomobilleri daha az yakıt tüketen, çevre dostu bir hale getirebilmek için otomotiv endüstrisinde hafif ve dayanıklı, biyokompozitler kullanılmalıdır. Petrol İhraç Eden Ülkeler Örgütü (OPEC), ulaştırma sektöründe dünya petrol talebinin günlük 43.6 milyon varil olarak tahmin etmiştir. 2017 yılında tahmini 1100 milyon olan binek araç sayısının 2040 yılında 1980 milyona yükseleceği öngörülmekte olup, bu da aynı dönemde ticari araç sayısının 230 milyondan 462 milyona çıkması anlamına gelmektedir (Huda ve Widiastuti, 2021). Bu nedenle birçok araç üreticisi, kullanılacak malzemeyi değiştirerek aracın ağırlığını azaltmaya çalışmaktadır. Ayrıca Avrupa Birliği'ndeki CO₂ yayımının azaltılmasına yönelik katı yasalar ve bazı Asya ülkelerinin de otomotiv sektöründeki benzer kısıtlamaları hem araçların hafifletilmesi hem de çevresel faktörleri ön plana çıkartmaktadır. Bir aracın toplam ağırlığını yaklaşık %25 azaltmakla dünya genelinde petrol tüketimini yaklaşık olarak 250 milyon varil azaltılabileceği ön görülmüştür. AB'nin toplam karbondioksit (CO₂) yayımı 1900-2010 yılları arasında yaklaşık %23 arttı. Bu yayımı azaltmak için mevcut ortalamaya kıyasla kilometre başına CO₂ yayımının %30 azaltılarak 2020 yılına kadar %10 azaltılmasını hedeflenmiştir (Taekema ve Karana 2012). Bu nedenle Avrupa Birliği (AB) Komisyonunun yayınladığı (EC) 443/2009 (Climate Action, 2021) yönetmelikte, yeni otomobiller için zorunlu salınım azaltma hedefleri belirlenmiştir. İlk hedef 2015 yılından itibaren binek araçlar için ortalama gaz salınımı için kilometre başına 130-gram CO₂ eşdeğeri olup bu hedef tutturuldu. 130 g CO₂ 100 km'de 4.9 l litre dizel veya 5.6 l benzin tüketimi anlamına gelmektedir. AB genelinde 2020 yılı itibariyle üretilen yeni

otomobillerin ortalama salınım miktarı $95 \text{ g CO}_2 \text{ km}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bu salınım seviyesi ise, yaklaşık olarak 100 km^2 'de 4.1 l benzin veya 3.6 l dizel yakıt tüketimine karşılık gelmektedir.

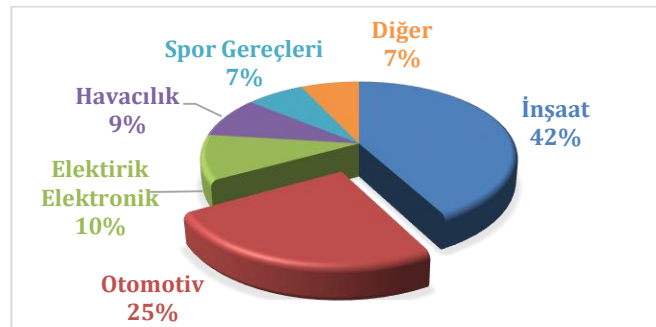
Çizelge 2. Yeşil kompozitlerin otomotiv parçalarında (Mohammed ve ark., 2015; Silva ve ark., 2018; Mann ve ark., 2020)

Üretici Firma	Uygulanan Model	Otomobil Parçası
Audi	A2, A3, A4, A6, A8, Roadster, Coupe	Koltuk sırtları, yan ve arka kapı panelleri, bagaj astarı, şapka rafı, yedek lastik astarı
BMW	3, 5,7 series, BMW I serileri ve diğer seriler	Koltuk arkası, tavan döşemesi paneli, bagaj kaplaması, kapı panelleri, ses yalıtım panelleri ve kalıplanmış ayak boşluğu kaplaması, ses yalıtım panelleri
Citroen	C5	Kapı iç paneli
Chrysler	A, C, E, ve S-class models	Kapı panelleri, ön cam, gösterge paneli, iş masası, direk kapak paneli
Fiat	Punto, Brava, Marea, Alfa Romeo 146, 156	Kapı kaplaması, koltuk arkası kaplamaları, kapı panelleri, koltuk altları, koltuk başlıkları, sırt minderleri
Ford	Mondeo CD 162, Focus, Freestar	Kapı panelleri, bagaj astarı, sürgülü kapı ekleri
Lotus	Eco Elise	Gövde panelleri, rüzgârlık, koltuklar, iç halılar
Mercedes-Benz	Trucks, Mercedes A, C,S sınıfı araçlar	İç motor ve tavan örtüsü, güneşlik, iç yalıtım, tampon, tekerlek kutusu Kapı panelleri (keten / sisal / epoksi reçineli / PP matrisli ahşap lifleri), torpido gözü (pamuk lifleri / ahşap kalıplı, keten / sisal), gösterge paneli desteği, yalıtım (pamuk lifi), kalıplama çubuğu / açıklıklar, koltuk arkalıği paneli (pamuk lifi), gövde paneli (PP / PET lifli pamuk) ve oturma yüzeyi / sırtlık (hindistan cevizi lifi / doğal kauçuk) İç motor kapağı, motor yalıtımı, güneşlik, iç yalıtım, tampon, tekerlek kutusu ve tavan kapağı
Opel	Vectra	Paketleme tepsileri, panel ekleri
Peugeot	406	Koltuk arkalıkları, arka raf
Renault	Twingo, clio	Arka koli rafı
Rover	2000	Yalıtım, arka depolama rafı
Saab	9S	Kapı Panelleri
Seat	—	Koltuk sırtlığı, kapı paneli
Saturn	L300s	Paketleme tepsileri, kapı paneli kaplamaları kapı
Toyota	Brevis, Harrier, Celsior, Raum	Döşeme panelleri, koltuk arkalıkları, yedek lastik kılıfı
Vauxhall	Corsa, Astra, Vectra, Zafir	Tavan paneli, iç kapı panelleri, sütun kapak paneli ve gösterge paneli
Volkswagen	Golf, Passat, Bora	Kapı paneli, koltuk arkalıği, bagaj kapağı kaplama paneli, bagaj astarı
Volvo	C70, V70	Koltuk dolgusu, doğal köpükler, kargo zemin döşemesi



Şekil 6. Yeşil kompozit malzemelerden üretilmiş otomobil parçaları (Lotfi ve ark.2021)

Yeşil kompozitler veya biyokompozitler binek ve ticari araçların parçalarının da kullanılması durumunda yukarıda istenilen yakıt tasarrufu, geri dönüşebilirlik ve CO₂ ayak izinin azaltılmasına yönelik hedeflere ulaşmada önemli oranda katkı vereceği aşikârdır. Yeşil kompozitlerin otomotiv parçalarında hali hazırda kullanımına BMW, Ford, Renault ve Volvo gibi tanınmış otomobil markalarının ön kapı konsolu (1.2–1.9 kg), arka kapı konsolu (0.8–1.6 kg) ve bagaj konsolu (1.5–2.5 kg) örnek olarak verilebilir (Mann ve ark., 2020). Ülkemizde Türkiye Otomobil Girişim Grubu (TOGG) tarafından üretilecek olan yerli otomobil için de Ankara Üniversitesi tarafından biyokompozitlerin kullanılabilmesi için yerli ekim kenevirin iyi bir takviye elemanı olduğu bildirilmiştir. Bu bağlamda ileriki yıllarda yerli otomobilde yeşil kompozitlerin ve biyokompozitlerin kullanılması ön görülmektedir. Şekil 6'de, doğal lif takviyeli kompozitler kullanılarak oluşturulan iç parçalara örnekler verilmektedir. Toyota 2019 yılındaki Milano Tasarım Haftası'nda özellikle tamamen Japon ahşabı, sedir ve huş ağacından yapılmış olan, çivisiz ve vidasız aracını tanıtmıştır. Elektrik motoruyla çalışan Toyota Setsuna, bir asırlık kullanıma dayanacak şekilde üretildi ve hem çevre dostu hem de yeşil otomobillere en iyi örnektir (Lotfi ve ark.2021). Birçok otomotiv parçası halihazırda keten, kenevir ve sabır ağacı gibi liflerden üretilmektedir. Çizelge 2'de otomobil bileşenlerinde kullanılan biyokompozit otomotiv parçalarına örnekler verilmektedir. Ulaşım sektörünü ilgilendiren bir diğer düzenleme ise ömrünü tamamlamış araçlar ile ilgili olup araç sökümü sonrasında hurdaların geri dönüşebilmesidir. Yeşil kompozit kullanımı ile sentetik veya cam takviyeli kompozitler parçalara nazaran hem ekolojik, geri dönüşebilme hem de ekonomiklik ilkelerini karşılanmış olacaktır. Aynı zamanda yeşil kompozitlerin üretimi boyunca CO₂ ayak izi düşüktür. Sonuç olarak, yeşil kompozitten üretilen bir otomotiv parçası imalatından kullanım ömrünün sonuna kadar, cam takviyeli kompozitlere nazaran çevre dostu, hafif, ucuz ve sağlıklı parçalar olacaktır (Taekema ve Karana 2012). Son gelişmelere bakıldığında yeşil kompozitlerin Avrupa pazarındaki en büyük yeri otomotiv sanayi, devlet kurumları ve küçük ölçekli çevreci endüstriler olduğu görülmektedir (Sienkiewicz ve Czub 2020). Kompozit malzeme pazarının 2024 yılına kadar tahmini olarak 40.2 milyar dolara ulaşması ve 2019'dan 2024'e %3.3'lük bir yıllık artış oranını ile büyümesi bekleniyor. Kompozit nihai ürün pazarının ise 2024 yılına kadar tahmini 114.7 milyar dolara ulaşması beklenmektedir. Bu pazarın içinde havacılık, savunma sanayi ve otomotiv sanayindeki hafif malzemelere olan talepler ve inşaat sektörü ve diğer birçok alanın ihtiyaçları bulunmaktadır.



Şekil 7. 2019 Yılına ait biyokompozitlerin küresel piyasası.

Dünya genelinde biyokompozitlerin piyasası ise 4.5 milyar dolar değerindedir ve her yıl yaklaşık %11.68 oranında büyümektedir (Cindu Annandarajah, 2021). Biyokompozit piyasasında en büyük pay sahibi yaklaşık %42 ile inşaat sektörü, ikinci olarak %25 ile otomotiv sektörüdür (Şekil 7). COVID-19 küresel salgını, inşaat ve otomotive sektörü ile bunlara bağlı birçok yan sektörün genel ekonomik faaliyetlerini olumsuz yönde etkilemiştir. Birçok ülkede salgın nedeniyle kapanmaların uygulanması otomobil fabrikalarının, yan sanayinin çalışmaması ve inşaat faaliyetlerinin durdurulması biyokompozitlerin piyasasını olumsuz etkilemiştir (Climate Action, 2021). Buna rağmen otomotiv

sektöründe biyokompozit kullanımı her yıl yaklaşık olarak %20'den fazla artmaktadır ve 2021 yılı sonuna kadar 6.5 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (Annandarajah, 2020).

SONUÇ

Yeşil kompozitler biyolojik olarak ayrışabilme, kolay erişilebilirlik, düşük yoğunluk, düşük fiyat, iyi termal ve akustik yalıtım, çevre dostu olma, geri dönüşebilme biyouyumluluk ve yenilenebilirlik gibi özellikleri cam, karbon ve diğer sentetik lif takviyeli kompozitlere göre çekici bir alternatiftirler. Bu çalışmada, yeşil kompozitlerin mekanik ve otomobil sektöründe kullanımı incelenmiştir. Hazırlanan çalışmalar sonucunda, yeşil kompozitlerin mekanik özelliklerinin lifin kimyasal, fiziksel özellikleri başta olmak üzere hasat şekli, hasat zamanı, kompozitin üretim yöntemi gibi birçok değişkenden etkilendiği bu nedenle mekanik ve termal özellikler farklılık gösterdiği anlaşılmıştır. Yeşil kompozitlerin ticari ölçekte kullanılabilmesi için, daha fazla geliştirme ve irdeleme çalışmaları yapılması gerekmektedir. Belki de mevcut matris ve liflere ilaveten yeni sürdürülebilir kaynakların bulunması yeşil kompozitlerin ticari ölçekte kullanılması için daha da faydalı olacaktır. 2000 yılında, Avrupa birliği tarafından yayınlanan bir yönergede (2000/53/EG); 2005 yılına kadar araçlarda kullanılan malzemelerin %85'nin geri dönüştürülebilir olmasını ve 2015 yılına kadar bu oranın %95 çıkması gerektiği kararı alındığından otomotiv parçalarında yeşil kompozitlerin kullanımına ilgi artmıştır. Ayrıca, yine Avrupa Birliği (AB) Komisyonunun yayınlamış olduğu (EC) 443/2009 yönetmelikte, yeni otomobiller için zorunlu salınım azaltma hedefleri belirlenmiştir. İlk hedef 2015'ten itibaren binek araçlar için ortalama gaz salınımı için kilometre başına 130 gram CO₂ hedefi tamamen uygulandı. 130 g CO₂ 100 km'de 4.9 l litre dizel veya 5.6 l benzin tüketimi anlamına gelmektedir. 2020'den itibaren aşamalı olarak 2021'den itibaren, yeni otomobiller için AB genelinde ortalama salınım hedefi 95 g CO₂ km⁻¹ olacaktır. Bu salınım seviyesi ise, yaklaşık olarak 100 km'de 4.1 l benzin veya 3.6 l dizel yakıt tüketimine karşılık gelmektedir. Yeşil kompozitlerin kullanımı hem araçların yakıt tüketimini azaltarak CO₂ salınımını durdururken hem de cam karbon gibi sentetik lifler yerine CO₂ salınımı çok daha düşük doğal lifleri ve biyomatrisleri kullanarak CO₂ ayak izini düşürmektedir. 2015 yılı Paris anlaşmasında da Dünya ülkeleri CO₂ salınımını düşürmeyi (Su ve Çevre, 2015) taahhüt etmişlerdir. Bunu başarmanın yollarından birisi de hiç şüphesiz yeşil malzemelerin endüstriyel uygulamalarda daha da yaygınlaştırılması olacaktır. Dünyamızın küresel ısınma, çevre kirliliği ve petrolün tükenme olasılığı ile yüzleştiği bu günlerde petrolden uzak, CO₂ ayak izi düşük, geri dönüşebilen, sürdürülebilir kaynaklardan elde edilen çevre dostu alternatif malzemelerin kullanılması kaçınılmazdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde FDK_3401_2018 numaralı proje ile maddi imkân sağlayan Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Hazırlanan makalede herhangi bir kişi/kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

Agrebi F, Hammami H, Asim M, Jawaid M, Kallel A, 2020. Impact of silane treatment on the dielectric properties of pineapple leaf/kenaf fiber reinforced phenolic composites. Journal of Composite Materials, 54(7): 937–946.

- Annandarajah C, 2020. Manufacture and Charecterization of Natural Fiber Biocomposites for Automative Applications. Doktora Tezi, IOWA State University, Ames Iowa, USA.
- Aruan Efendy MG, Pickering KL, 2014. Comparison of Harakeke with Hemp Fibre as a Potential Reinforcement in Composites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 67: 259–67.
- Asumani O, Paskaramoorthy R, 2021. Fatigue and Impact Strengths of Kenaf Fibre Reinforced Polypropylene Composites: Effects of Fibre Treatments, *Advanced Composite Materials*, 30(2): 103–15.
- Avci A, Eker AA, Bodur MS, 2020. Effect of Coupling Agent and Alkali Treatment on Mechanical, Thermal, and Morphological Properties of Flax Fiber-Reinforced PLA Composites. *Green Materials*, In press.
- Azizah AB, Rozman HD, Azniwati AA, Tay GS, 2020. The Effect of Filler Loading and Silane Treatment on Kenaf Core Reinforced Polyurethane Composites: Mechanical and Thermal Properties. *Journal of Polymers and the Environment*, 28(2): 517–31.
- Bajracharya RM, Bajwa DS, Bajwa SG, 2017. Mechanical Properties of Polylactic Acid Composites Reinforced with Cotton Gin Waste and Flax Fibers. *Procedia Engineering*, 200: 370–76.
- Bax B, Müssig J, 2008. Impact and Tensile Properties of PLA/Cordenka and PLA/Flax Composites. *Composites Science and Technology*, 68(7-8): 1601-1607
- Bledzki AK, Jaszkiwicz A, 2010. Mechanical Performance of Biocomposites Based on PLA and PHBV Reinforced with Natural Fibres - A Comparative Study to PP. *Composites Science and Technology*, 70(12): 1687–96.
- Bledzki AK, Jaszkiwicz A, Scherzer D, 2009. Mechanical Properties of PLA Composites with Man-Made Cellulose and Abaca Fibres. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 40(4): 404–12.
- Bodros E, Pillin I, Montrelay N, Baley C, 2007. Could Biopolymers Reinforced by Randomly Scattered Flax Fibre Be Used in Structural Applications? *Composites Science and Technology*, 67(3–4): 462–70.
- Bodur MS, Sonmez HE, Bakkal M, 2017. An Investigation for the Effect of Recycled Matrix on the Properties of Textile Waste Cotton Fiber Reinforced (T-FRP) Composites. *Polymer Composites*, 38(7): 1231–40.
- Bodur, Bodur MS, Bakkal M, Sonmez HE, 2016. The Effects of Different Chemical Treatment Methods on the Mechanical and Thermal Properties of Textile Fiber Reinforced Polymer Composites. *Journal of Composite Materials*, 50(27): 3817–30.
- Callister W, Rethwisch D, 2014. Wiley Materials Science. John Wiley, New York, USA.
- Cha YH, Kim KS, Kim DJ, 1998. Evaluation on the Fracture Toughness and Strength of Fiber Reinforced Brittle Matrix Composites. *KSME International Journal*, 12(3): 370–79.
- Chaitanya S, Singh I, 2016. Processing of PLA_sisal Fiber Biocomposites Using Direct- and Extrusion-Injection Molding. *Materials and Manufacturing Processes*, 32(5), 468-474.
- Couture A, Lebrun G, Laperrière L, 2016. Mechanical Properties of Polylactic Acid (PLA) Composites Reinforced with Unidirectional Flax and Flax-Paper Layers. *Composite Structures*, 154(1): 286-295.
- Dhakar HN, Zhang ZY, Guthrie R, MacMullen J, Bennett N, 2013. Development of Flax/Carbon Fibre Hybrid Composites for Enhanced Properties. *Carbohydrate Polymers*, 96(1): 1–8.
- Dicker MPM, Duckworth PF, Baker, Francois G, Hazzard MK, Weaver PM, 2014. Green Composites: A Review of Material Attributes and Complementary Applications. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 56: 280–89.
- Duigou AL, Bourmaud A, Davies P, Baley C, 2014. Long Term Immersion in Natural Seawater of Flax/PLA Biocomposite. *Ocean Engineering*, 90: 140–48.
- EU Climate Action and the European Green Deal | Climate Action. https://ec.europa.eu/clima/policies/eu-climate-action_en (Erişim Tarihi: 28.05.2021).
- European Commission. Climate Action. https://ec.europa.eu/clima/policies/transport/vehicles/cars_en (Erişim Tarihi: 28.05.2021).
- Feng NL, Malingam SD, Razali N, Subramonian S, 2020. Alkali and Silane Treatments towards Exemplary Mechanical Properties of Kenaf and Pineapple Leaf Fibre-Reinforced Composites. *Journal of Bionic Engineering*, 17(2): 380–92.

- Foruzanmehr M, Vuillaume PY, Elkoun S, Robert M, 2016. Physical and Mechanical Properties of PLA Composites Reinforced by TiO₂ Grafted Flax Fibers. *Materials and Design*, 106: 295–304.
- Gamon G, Evon P, Rigal L, 2013. Twin-Screw Extrusion Impact on Natural Fibre Morphology and Material Properties in Poly(Lactic Acid) Based Biocomposites. *Industrial Crops and Products*, 46: 173–85.
- Gassan J, 2002. A Study of Fibre and Interface Parameters Affecting the Fatigue Behaviour of Natural Fibre Composites. *Composites - Part A: Applied Science and Manufacturing*, 33(3): 369–74.
- Georgiopoulos P, Christopoulos A, Koutsoumpis S, Kontou E, 2016. The Effect of Surface Treatment on the Performance of Flax/Biodegradable Composites. *Composites Part B: Engineering*, 106: 88–98.
- Georgiopoulos P, Kontou E, Georgousis G, 2018. Effect of Silane Treatment Loading on the Flexural Properties of PLA/Flax Unidirectional Composites. *Composites Communications*, 10(1): 6-10.
- Gholampour A, Ozbakkaloglu, 2020. A review of natural fiber composites: properties, modification and processing techniques, characterization, applications, *Journal of Materials Science*, 55(3): 829-892.
- González AJ, Sanchez SE, Lagaron JM, Olsson RT, GamezPJ, Cabedo L, 2017. Assessing the Thermoformability of Poly(3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate)/Poly(Acid Lactic) Blends Compatibilized with Diisocyanates. *Polymer Testing*, 62: 235–45.
- Hao LC, Sapuan SM, Hassan MR, Sheltami RM, 2018. Natural Fibre Reinforced Vinyl Ester and Vinyl Polymer Composites Natural Fiber Reinforced Vinyl Polymer Composites. Woodhead Publishing, 27-70, Michigan, USA.
- Hassan NE, Bai J, Dou DQ, 2019. Biopolymers; Definition, Classification and Applications. *Egyptian Journal of Chemistry*, 62(9): 1725–37.
- Hatipoğlu A, 2020. Preparation And Characterization Of Poly (Lactic Acid) / Barite Composites. Yüksek Lisans Tezi, Alparslan Türkiye Science And Technology University, Adana, Turkey.
- Hong CK, Kim N, Kang SL, Nah C, Lee YS, Cho BH, Ahn JH, 2008. Mechanical Properties of Maleic Anhydride Treated Jute Fibre/Polypropylene Composites. *Plastics, Rubber and Composites*, 37(7): 325–30.
- Hoque MB, Hossain MS, Nahid AM, Bari S, Khan RA, 2018. Fabrication and Characterization of Pineapple Fiber-Reinforced Polypropylene Based Composites. *Nano Hybrids and Composites*, 21: 31–42.
- Hu R, Lim JK, 2007. Fabrication and Mechanical Properties of Completely Biodegradable Hemp Fiber Reinforced Polylactic Acid Composites. *Journal of Composite Materials*, 41(13): 1655–69.
- Huda MK and Widiastuti I, 2021. Natural Fiber Reinforced Polymer in Automotive Application: A Systematic Literature Review. *Journal of Physics: Conference Series*, 1808(1): 012015.
- Huda MS, Drzal LT, Ray D, Mohanty AK, Mishra M, 2008. Properties and Performance of Natural-Fibre Composites, Woodhead Publishing, 221–26, Michigan, USA.
- Jain J, Sinha S, Jain S, 2019. Compendious Characterization of Chemically Treated Natural Fiber from Pineapple Leaves for Reinforcement in Polymer Composites. *Journal of Natural Fibers*, 18(6): 845–56.
- Karmaker AC, Shneider jP, 1996. Mechanical Performance of Short Jute Fibre Reinforced Polypropylene. *Journal of Materials Science Letters*, 15(3): 201–2.
- Karthi N, Kumaresan K, Sathish S, Gokulkumar S, Prabhu L, Vigneshkumar N, 2019. An Overview: Natural Fiber Reinforced Hybrid Composites, Chemical Treatments and Application Areas. *Materials Today: Proceedings*, 27: 2828–34.
- Keck S and Fulland M, 2016. Effect of Fibre Volume Fraction and Fibre Direction on Crack Paths in Flax Fibre-Reinforced Composites. *Engineering Fracture Mechanics*, 167: 201–9.
- Ko HU, Kim JW, Kim HC, Zhai L, Kim J, 2020. Esterified PVA-Lignin Resin by Maleic Acid Applicable for Natural Fiber Reinforced Composites. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(26): 1–9.
- Koronis G, Silva A, 2018. Green Composites for Automotive Applications. Woodhead Publishing, Michigan, USA.
- Koronis G, Silva A, Fontul M, 2013. Green Composites: A Review of Adequate Materials for Automotive Applications. *Composites Part B: Engineering*, 44(1):120-127.
- Kumar S, Samal SK, Mohanty S, Nayak SK, 2018. Recent Development of Biobased Epoxy Resins: A Review. *Polymer - Plastics Technology and Engineering* 57(3): 133–55.

- Liang Z, Wu H, Liu R, Wu C, 2021. Preparation of Long Sisal Fiber-Reinforced Polylactic Acid Biocomposites with Highly Improved Mechanical Performance. *Polymers* 13(7): 1124.
- Liu B, Jinwen Z, Gabriel G, Linshu L, 2012. Performance Enhancement of Poly (Lactic Acid)/ Soy Protein Concentrate Blends by promoting formation of network structure. *Green materials*, 1(3): 176-185.
- Lotfi A, Li H, Dao DV, Prusty G, 2021. Natural Fiber-Reinforced Composites: A Review on Material, Manufacturing, and Machinability. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 34(2): 238–84.
- Maichin P, Suwan T, Jitsangiam P, Chindaprasirt P, and Fan M, 2020. Effect of Self-Treatment Process on Properties of Natural Fiber-Reinforced Geopolymer Composites. *Materials and Manufacturing Processes*, 35(10): 1120–28.
- Mann GS, Singh LP, Kumar P, Singh S, 2020. Green Composites: A Review of Processing Technologies and Recent Applications. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 33(8): 1145–71.
- Mantia FPL, Morreale M, 2011. Green Composites: A Brief Review. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 42(6): 579–88.
- Mohammed L, Ansari MNM, Pua G, Jawaid M, Islam MS, 2015. A Review on Natural Fiber Reinforced Polymer Composite and Its Applications. *International Journal of Polymer Science*, 2015(1):1-15.
- Mohanty AK, Drzal LT, Group F, 2005. *Natural Fibers, Biopolymers, And Biocomposites*, Taylor Francis, New York, USA.
- Najeeb MI, Sultan MTH, Andou Y, Shah AUM, Eksiler K, Jawaid M, Ariffin AH, 2020. Characterization of Silane Treated Malaysian Yankee Pineapple AC6 Leaf Fiber (PALF) towards Industrial Applications. *Journal of Materials Research and Technology*, 9(3): 3128–39.
- Nassiopoulos E, Njuguna J, 2015. Thermo-Mechanical Performance of Poly(Lactic Acid)/Flax Fibre-Reinforced Biocomposites. *Materials and Design*, 66(PB): 473–85.
- O'Donnell A, Dweib MA, Wool RP, 2004. Natural Fiber Composites with Plant Oil-Based Resin. *Composites Science and Technology*, 64(9), 1135-1145.
- Oksman K, Skrifvars M, Selin JF, 2003. Natural Fibres as Reinforcement in Polylactic Acid (PLA) Composites. *Composites Science and Technology*, 63(9): 1317-1324.
- Patil A, Patel A, Purohit R, 2017. An Overview of Polymeric Materials for Automotive Applications. *Materials Today: Proceedings* 4(2): 3807–15.
- Plackett D, Andersen TL, Pedersen WB, Nielsen L, 2003. Biodegradable Composites Based on L-Polylactide and Jute Fibres. *Composites Science and Technology*, 63(9): 1287-1296.
- R. Pantani and L. S. Turng, 2015. Manufacturing of Advanced Biodegradable Polymeric Components. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(48), 1-3.
- Rafiee K, Schritt H, Pleissner D, Kaur G, Brar SK, 2021. Biodegradable Green Composites: It's Never Too Late to Mend. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 30(1): 2452-2236.
- Rana RS, Kumre R, Rana S, Purohit R, 2017. Characterization of Properties of Epoxy Sisal / Glass Fiber Reinforced Hybrid Composite. *Materials Today: Proceedings*, 4(4): 5445–51.
- Reddy KH, Reddy RM, Ramesh M, Krishnudu DM, Reddy BM, Rao HR, 2021. Impact of Alkali Treatment on Characterization of Tapsi (*Sterculia Urens*) Natural Bark Fiber Reinforced Polymer Composites. *Journal of Natural Fibers*, 18(3): 378–89.
- Roy K, Debnath SC, Tzounis L, Pongwisuthiruchte A, Potiyaraj P. Potiyaraj P, 2020. Polymers Effect of Various Surface Treatments on the Performance of Jute Fibers Filled Natural Rubber. *Polymers*, 12(2): 1-14.
- Rubio-López A, Artero-Guerrero, J, Pernas-Sánchez J, Santiuste C, 2017. Compression after Impact of Flax/PLA Biodegradable Composites. *Polymer Testing*, 59: 127–35.
- Shanmugam V, Mensah RA, Försth M, Sas G, Restás A, Addy C, Xu Q, Jiang L, Neisiany RE, Singha S, George G, Jose T, Berto F, Hedenqvist MS, Das O, Ramakrishna S, 2021. Circular economy in biocomposite development: State-of-the-art, challenges and emerging trends. *Composites Part C*, 5(1):1-16.
- Shrivastava A, Dondapati S, 2021. Biodegradable Composites Based on Biopolymers and Natural Bast Fibres: A Review. *Materials Today: Proceedings*, In Press.

- Siakeng R, Jawaid M, Ariffin H, Sapuan SM, 2019. Mechanical, Dynamic, and Thermomechanical Properties of Coir/Pineapple Leaf Fiber Reinforced Poly(lactic Acid) Hybrid Biocomposites. *Polymer Composites*, 40(5): 2000–2011.
- Sienkiewicz A, Czub P, 2020. Flame Retardancy of Biobased Composites—Research Development. *Materials*, 13(22): 1–30.
- Soleimani M, Tabil L, Panigrahi S, Opoku A, 2008. The Effect of Fiber Pretreatment and Compatibilizer on Mechanical and Physical Properties of Flax Fiber-Polypropylene Composites. *Journal of Polymers and the Environment*, 16(1): 74–82.
- Syduzzaman M, Faruque MAA, Bilisik K, Naebe M, 2020. Plant-Based Natural Fibre Reinforced Composites: A Review on Fabrication, Properties and Applications. *Coatings*, 10(10): 1–34.
- Taekema J, Karana E, 2012. Creating Awareness on Natural Fibre Composites in Design. *Proceedings of International Design Conference, 12th International Design Conference, Dubrovnik, Croatia*, pp: 1141–50.
- Thwe MM, Liao K, 2002. Effects of Environmental Aging on the Mechanical Properties of Bamboo-Glass Fiber Reinforced Polymer Matrix Hybrid Composites. *Composites - Part A: Applied Science and Manufacturing*, 33(1): 43–52.
- Vijay R, Manoharan S, Arjun S, Vinod A, 2020. Characterization of Silane-Treated and Untreated Natural Fibers from Stem of *Leucas Aspera*. *Journal of Natural Fibers*, 1-18.
- Vilaplana F, Strömberg E, Karlsson E, 2010. Environmental and Resource Aspects of Sustainable Biocomposites. In *Polymer Degradation and Stability*, 95(11): 2147–61.
- Wang Q, Zhang Y, Liang W, Wang J, Chen Y, 2020. Effect of Silane Treatment on Mechanical Properties and Thermal Behavior of Bamboo Fibers Reinforced Polypropylene Composites. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 15(33):1-10.
- Wang, Ying, Wang Y, Mei Y, Wang Q, Wei W, Huang F, Li Y, Li J, Zhou Z, 2019. Improved Fracture Toughness and Ductility of PLA Composites by Incorporating a Small Amount of Surface-Modified Helical Carbon Nanotubes. *Composites Part B: Engineering* 162: 54–61.
- Xia X, Liu W, Zhou L, Hua Z, Liu H, He S, 2016. Modification of Flax Fiber Surface and Its Compatibilization in Poly(lactic Acid)/Flax Composites. *Iranian Polymer Journal*, 25(1): 25–35.
- Yan L, Chou N, Yuan X, 2012. Improving the Mechanical Properties of Natural Fibre Fabric Reinforced Epoxy Composites by Alkali Treatment. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, 31(6): 425–37.
- Yu T, Jiang N, Li Y, 2014. Study on Short Ramie Fiber/Poly(Lactic Acid) Composites Compatibilized by Maleic Anhydride. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 64: 139–46.
- Yu T, Ren J, Li S, Yuan H, Li Y, 2010. Effect of Fiber Surface-Treatments on the Properties of Poly(Lactic Acid)/Ramie Composites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 41(4): 499–505.
- Zhan J, Li J, Wang G, Guan Y, Zhao G, Lin J, Nacear H, Coutellier D, 2021. Review on the Performances, Foaming and Injection Molding Simulation of Natural Fiber Composites. *Polymer Composites* 42(3): 1305–24.
- Zhang L, Li Z, Pan YT, Yanez AP, Hu S, Zhang XQ, Wang R, Wang DY, 2018. Polydopamine Induced Natural Fiber Surface Functionalization: A Way towards Flame Retardancy of Flax/Poly(Lactic Acid) Biocomposites. *Composites Part B: Engineering*.

Atf İçin: Mutlu G, 2021. Yarım Eksende Self-adjoint Operatör Katsayılı Diskre Sturm-Liouville Denkleminin Spektrumu. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3055-3062.

To Cite: Mutlu G, 2021. Spectrum of Discrete Sturm-Liouville Equation with Self-adjoint Operator Coefficients on the Half-line. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3055-3062.

Spectrum of Discrete Sturm-Liouville Equation with Self-adjoint Operator Coefficients on the Half-line

Gökhan MUTLU^{1*}

ABSTRACT: We investigate the spectrum of the Sturm-Liouville difference equation on the half-line with self-adjoint operator coefficients in an infinite dimensional Hilbert space together with the Dirichlet boundary condition. We find the Jost solution and examine its analytical and asymptotical properties. Using these properties, we obtain the continuous and point spectrum of the discrete operator generated by the Sturm-Liouville difference equation with self-adjoint operator coefficients. We also show that this operator has a finite number of eigenvalues with finite multiplicities under a certain condition on the operator coefficients.

Keywords: Discrete operator, eigenvalues, self-adjoint operators, Sturm-Liouville difference equation

¹Gökhan MUTLU ([Orcid ID: 0000-0002-0674-2908](https://orcid.org/0000-0002-0674-2908)), Gazi University, Faculty of Science, Department of Mathematics, Ankara, Turkey

*Corresponding Author: Gökhan MUTLU, e-mail: gmutlu@gazi.edu.tr

INTRODUCTION

Self-adjoint differential operators play a fundamental role in physics, especially in quantum mechanics. Discrete analogues of these operators which are generated by difference equations also have significant importance. Spectral analysis of difference equations provides a lot of information about these equations. As a result, there are many studies on the spectral analysis of discrete operators generated by difference equations recently (Yokus and Coskun, 2019; Yokus and Coskun, 2020).

Studies on Sturm-Liouville differential and difference equations with matrix or operator coefficients have grown extensively in recent years (Bairamov et al., 2017; Mutlu, 2020; Mutlu and Kir Arpat 2020a; Mutlu and Kir Arpat 2020b; Aktosun and Weder, 2020). In particular, spectral properties of Sturm-Liouville differential (Aktosun and Weder, 2020) and difference equations (Ayggar and Bairamov, 2012; Bairamov et al., 2016) with hermitian matrix coefficients have been examined. In (Ayggar and Bairamov, 2012) spectral analysis of the discrete operator L_0 generated by matrix difference equation of second order on the half-line

$$A_{n-1}y_{n-1} + B_n y_n + A_n y_{n+1} = \lambda y_n, \quad n \in \mathbb{N} \quad (1)$$

and the boundary condition $y_0 = 0$ has been studied. Here A_n ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$) and B_n ($n \in \mathbb{N}$) are $m \times m$ hermitian matrices ($m < \infty$), $\det A_n \neq 0$ ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$) and λ is a spectral parameter. Note that equation (1) can be written in the Sturm-Liouville form

$$\Delta(A_{n-1}\Delta y_{n-1}) + Q_n y_n = \lambda y_n, \quad n \in \mathbb{N} \quad (2)$$

where $Q_n = A_{n-1} + A_n + B_n$ and " Δ " denotes the forward difference operator. As a result, we can refer to equation (1) as Sturm-Liouville difference equation with matrix coefficients. It was proven that the continuous spectrum of L_0 is $[-2, 2]$ and the number of eigenvalues are finite if (Ayggar and Bairamov, 2012)

$$\sum_{i=1}^{\infty} n(\|I_n - A_n\| + \|B_n\|) < \infty \quad (3)$$

holds where " $\|\cdot\|$ " denotes any of the equivalent matrix norms. These results have been extended to the whole axis (Bairamov et al., 2016) by considering equation (1) for $n \in \mathbb{Z}$.

There have been many efforts for transition to infinite dimension i.e. considering Sturm-Liouville differential or difference equations with operator coefficients in an infinite dimensional Hilbert space. First attempts were made to analyze Sturm-Liouville operator equation on the half-line (Gasymov et al., 1967). The authors considered the following operator equation with self-adjoint operator coefficients. Let H be an infinite dimensional separable Hilbert space and $L_2(\mathbb{R}_+, H)$ denote the space of vector-valued functions $f(x)$ defined on $(0, \infty)$ which are strongly-integrable in each finite subinterval of $(0, \infty)$ and such that

$$\int_0^{\infty} \|f(x)\|_H^2 dx < \infty.$$

Consider the differential expression in $L_2(\mathbb{R}_+, H)$

$$l_0(y) = -y'' + V(x)y, \quad x \in \mathbb{R}_+, \quad (4)$$

where $V(x)$ is a self-adjoint, completely continuous operator in H for each $x \in (0, \infty)$. The discrete spectrum of the operator generated by l_0 and the boundary condition $y_0 = 0$ has been studied (Gasymov et al., 1967). Recently, spectral properties of the non-self-adjoint operator which is generated by expression (4) with non-self-adjoint operator coefficients in an infinite dimensional Hilbert space and Dirichlet boundary condition has been studied (Bairamov et al., 2017). The discrete spectrum and the spectral singularities were obtained and the finiteness of eigenvalues and spectral singularities was proven (Bairamov et al., 2017). Further, these results have been extended to whole real line (Mutlu and Kir Arpat 2020a).

For the operator coefficient case, transition to infinite dimension is not trivial. If the coefficients are finite dimensional matrices, then the Jost function is the determinant of the Jost matrix and therefore a scalar function. Eigenvalues and spectral singularities are obtained as zeros of this scalar analytic function and by using properties of analytic functions one can obtain several results about the structure of the spectrum. However, if the coefficients are infinite dimensional operators, then the Jost function is an operator-valued function. In this case eigenvalues and spectral singularities correspond to the singular points of an operator-valued function and therefore the methods and tools need to be changed. The new approach (see Bairamov et al., 2017) originates from Keldysh's famous results (Keldysh, 1971).

Motivated by the above studies we consider the following difference equation

$$A_{n-1}y_{n-1} + B_n y_n + A_n y_{n+1} = \lambda y_n, \quad n \in \mathbb{N} \quad (5)$$

where A_n ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$) and B_n ($n \in \mathbb{N}$) are self-adjoint, $A_n - I$ ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$) and B_n ($n \in \mathbb{N}$) are compact operators in an infinite dimensional separable Hilbert space H where I denotes the identity operator in H and λ is a spectral parameter. Also, we assume A_n is invertible for each ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$). Let $H_1 := l_2(\mathbb{N}, H)$ denote the space of vector sequences $y = (y_n) \subset H$ such that

$$\|y\|_1 := \sum_{n=1}^{\infty} \|y_n\|_H^2 < \infty.$$

H_1 is a Hilbert space with the inner product

$$(y, z)_1 := \sum_{n=1}^{\infty} (y_n, z_n)_H.$$

Note that the sequence y_n in equation (5) can be regarded both as a vector sequence in H_1 or an operator sequence i.e. y_n is an operator in H for each $n \in \mathbb{N}$. We consider the operator L generated by equation (5) in H_1 and the boundary condition

$$y_0 = 0. \quad (6)$$

One can also define the operator L by infinite Jacobi matrix

$$J = \begin{bmatrix} B_1 & A_1 & 0 & 0 & 0 & \cdot & \cdot & \cdot \\ A_1 & B_2 & A_2 & 0 & 0 & \cdot & \cdot & \cdot \\ 0 & A_2 & B_3 & A_3 & 0 & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \end{bmatrix} \quad (7)$$

From this definition it easily follows that L is a self-adjoint operator in H_1 .

In this paper, we investigate the spectral properties of Sturm-Liouville difference equation with self-adjoint operator coefficients. This equation is the most general form of a difference equation of order 2 and can be regarded as a discretization of Sturm-Liouville operator equation defined by (4). Although there are several studies on the spectral analysis of Sturm-Liouville differential equation with matrix or operator coefficients (Gasymov et al., 1967; Kir Arpat and Mutlu, 2015; Bairamov et al., 2017; Aktosun and Weder, 2020; Mutlu and Kir Arpat 2020a), Sturm-Liouville difference equation with operator coefficients awaits further investigation. We aim to extend the results in finite dimensional case i.e. Sturm-Liouville difference equation with $m \times m$ matrix coefficients to the infinite dimensional case by considering Sturm-Liouville difference equation with self-adjoint operator coefficients in an infinite dimensional Hilbert space. When the problem works in infinite dimension it creates some important diversity due the theory of infinite dimensional operators. The outline of this paper is as follows. Firstly, we present the Jost solution and its analytical and asymptotic properties in the next section. Later, we obtain the continuous and point spectrum and prove the finiteness of the eigenvalues in results and discussion section.

MATERIALS AND METHODS

In this section we introduce the Jost solution of equation (5) and provide necessary properties of Jost solution which are required for our main results. Note that the proofs of the results in this section can be obtained similarly as in matrix coefficient case (Aygar and Bairamov, 2012). However we shall outline the proofs for the sake of completeness.

Assumption 1. We assume that the coefficients of equation (5) satisfy

$$\sum_{i=1}^{\infty} \|I_n - A_n\| + \|B_n\| < \infty$$

where " $\|\cdot\|$ " denotes the operator norm.

Definition 1: Let us denote the operator solution of the equation

$$A_{n-1}Y_{n-1} + B_nY_n + A_nY_{n+1} = (z + z^{-1})Y_n, \quad n \in \mathbb{N}, \quad z \in D_0 := \{z \in \mathbb{C}: |z| = 1\} \quad (8)$$

which satisfies the condition

$$\lim_{n \rightarrow \infty} Y_n(z) z^{-n} = I,$$

by $F(z) := F_n(z)$ ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$). $F(z)$ is called the Jost solution of Equation (5).

Theorem 1. The Jost solution exists and has the representation

$$F_n(z) = z^n I + \sum_{k=n+1}^{\infty} \frac{z^{k-n} - z^{n-k}}{z - z^{-1}} [(I - A_{k-1})F_{k-1}(z) - B_k F_k(z) + (I - A_k)F_{k+1}(z)]. \quad (9)$$

Proof. Let $U_n := (I - A_{n-1})Y_{n-1} - B_n Y_n + (I - A_n)Y_{n+1}$. Equation (8) can be written

$$Y_{n-1} + Y_{n+1} - (z + z^{-1})Y_n = U_n. \quad (10)$$

The general solution of the homogenous part of this equation is

$$Y_n = cz^n I + dz^{-n} I,$$

where c and d are constants. Applying the variation of parameters method, we look for the general solution of (10) in the form

$$Y_n = C_n z^n + D_n z^{-n},$$

where C_n and D_n are operators in H . We obtain

$$C_n = T - \sum_{k=n+1}^{\infty} \frac{z^{-k} U_k}{z - z^{-1}}, \quad D_n = S + \sum_{k=n+1}^{\infty} \frac{z^k U_k}{z - z^{-1}},$$

where T and S are operators in H . Note that the series on the right hand sides of last equations are convergent in the operator norm under Assumption 1. Substituting C_n and D_n we obtain the general solution of (10)

$$Y_n(z) = z^n T + z^{-n} S + \sum_{k=n+1}^{\infty} \frac{z^{k-n} - z^{n-k}}{z - z^{-1}} U_k.$$

Imposing the boundary condition $\lim_{n \rightarrow \infty} Y_n(z) z^{-n} = I$ we reach (9).

Assumption 2. We make a stronger assumption than the Assumption 1. We assume

$$\sum_{n=1}^{\infty} n(\|I - A_n\| + \|B_n\|) < \infty.$$

Theorem 2. The Jost solution can be represented

$$F_n(z) = T_n z^n [I + \sum_{m=1}^{\infty} K_{n,m} z^m], \quad n \in \mathbb{N} \cup \{0\}, \quad (11)$$

where T_n and $K_{n,m}$ can be represented by using A_n and B_n . Further,

$$\|K_{n,m}\| \leq c \sum_{p=n+\lfloor \frac{m}{2} \rfloor}^{\infty} (\|I - A_p\| + \|B_p\|), \quad (12)$$

holds where $c > 0$ is a constant. Moreover, $F_n(z)$ ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$) has an analytic continuation from D_0 to $D_1 := \{z \in \mathbb{C}: |z| < 1\} \setminus \{0\}$.

Proof. Plugging $F_n(z)$ defined by (11) into (8) we have

$$A_{n-1} \{z^{n-1} T_{n-1} [I + \sum_{m=1}^{\infty} K_{n-1,m} z^m]\} + B_n \{z^n T_n [I + \sum_{m=1}^{\infty} K_{n,m} z^m]\} + A_n \{z^{n+1} T_{n+1} [I + \sum_{m=1}^{\infty} K_{n+1,m} z^m]\} = z^{n+1} T_n [I + \sum_{m=1}^{\infty} K_{n,m} z^m] + z^{n-1} T_n [I + \sum_{m=1}^{\infty} K_{n,m} z^m].$$

This equation easily implies

$$T_n = \prod_{p=n}^{\infty} A_p^{-1}, \quad (13)$$

$$K_{n,1} = -\sum_{p=n+1}^{\infty} T_p^{-1} B_p T_p, \quad (14)$$

$$K_{n,2} = -\sum_{p=n+1}^{\infty} T_p^{-1} B_p T_p K_{p,1} + \sum_{p=n+1}^{\infty} T_p^{-1} (I - A_p^2) T_p, \quad (15)$$

$$K_{n,m+2} = \sum_{p=n+1}^{\infty} T_p^{-1} (I - A_p^2) T_p K_{p+1,m} - \sum_{p=n+1}^{\infty} T_p^{-1} B_p T_p K_{p,m+1} + K_{n+1,m}, \quad (16)$$

for $n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$ and $m \in \mathbb{N}$. Note that Assumption 2 guarantees the strong convergence of the infinite series and product in equations (13)-(16). Moreover, equations (14)-(16) yield the estimate (12). From (11) and (12) it follows $F_n(z)$ ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$) has an analytic continuation from D_0 to D_1 .

Theorem 3. The following asymptotic relation holds:

$$F_n(z) = z^n [I + o(1)], \quad z \in D := \{z \in \mathbb{C}: |z| \leq 1\} \setminus \{0\}, \quad n \rightarrow \infty. \quad (17)$$

Proof. From (13) it follows $T_n \rightarrow I, n \rightarrow \infty$. Equation (12) implies

$$\left\| \sum_{m=1}^{\infty} K_{n,m} z^m \right\| \leq c \sum_{p=n}^{\infty} p (\|I - A_p\| + \|B_p\|).$$

Taking $n \rightarrow \infty$ in this inequality and using Assumption 2 yield

$$\sum_{m=1}^{\infty} K_{n,m} z^m = o(1), \quad z \in D, \quad n \rightarrow \infty.$$

As a result, we have the asymptotic relation (17).

RESULTS AND DISCUSSION

In this section we find the continuous and discrete spectrum of L denoted by $\sigma_c(L)$ and $\sigma_d(L)$ by using the analytical and asymptotic properties of the Jost solution $F_n(z)$ that we obtained in previous section. We show that the point spectrum is bounded, countable and its only limit point (if exists) can be $\lambda = -2$ or $\lambda = 2$. Moreover, we prove that L has a finite number of eigenvalues with finite multiplicities under Assumption 2.

Theorem 4. The continuous spectrum of L is $\sigma_c(L) = [-2, 2]$.

Proof. Let L_0 and L_1 denote the operators defined in H_1

$$\begin{aligned} L_0(y)_n &= y_{n-1} + y_{n+1}, \quad n \in \mathbb{N}, \\ L_1(y)_n &= (A_{n-1} - I)y_{n-1} + B_n y_n + (A_n - I)y_{n+1}, \quad n \in \mathbb{N}, \end{aligned}$$

with the boundary condition $y_0 = 0$, respectively.

We can also define the operators L_0 and L_1 by using Jacobi matrices

$$J_0 = \begin{bmatrix} 0 & I & 0 & 0 & \dots \\ I & 0 & I & 0 & \dots \\ 0 & I & 0 & I & \dots \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \dots \end{bmatrix}$$

and

$$J_1 = \begin{bmatrix} B_1 & A_1 - I & 0 & 0 & 0 & \cdot & \cdot & \cdot \\ A_1 - I & B_2 & A_2 - I & 0 & 0 & \cdot & \cdot & \cdot \\ 0 & A_2 - I & B_3 & A_3 - I & 0 & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \end{bmatrix}$$

respectively. We have $L_0 = L_0^*$ since the matrix J_0 is symmetric and also $\sigma_c(L_0) = [-2, 2]$ (Serebrjakov, 1980).

In order to show that L_1 is a compact operator we will show that L_1 is bounded and the set

$$R = \{L_1 y: \|y\|_1 \leq 1\}$$

is compact in H_1 . It is obvious that L_1 is bounded. Moreover, if we use the compactness criteria in l_p spaces (Lusternik and Sobolev, 1974), we obtain the compactness of R . Indeed, let $y \in H_1$ such that $\|y\|_1 \leq 1$. Then, Assumption 2 implies that for $\varepsilon > 0$, there exists $n_0 \in \mathbb{N}$ such that for $n \geq n_0$

$$\sum_{i=n+1}^{\infty} (\|A_i - I\| + \|B_i\|) < \frac{\varepsilon}{C},$$

holds and also

$$\begin{aligned} \sum_{i=n+1}^{\infty} \|(L_1 y)_i\|_H^2 &= \sum_{i=n+1}^{\infty} \|(A_{i-1} - I)y_{i-1} + B_i y_i + (A_i - I)y_{i+1}\|_H^2 \\ &\leq \sum_{i=n+1}^{\infty} \|A_{i-1} - I\|^2 \|y_{i-1}\|_H^2 + \|B_i\|^2 \|y_i\|_H^2 + \|A_i - I\|^2 \|y_{i+1}\|_H^2 \\ &\leq \|y\|_1^2 \sum_{i=n+1}^{\infty} (\|A_{i-1} - I\|^2 + \|B_i\|^2 + \|A_i - I\|^2) \\ &\leq \sum_{i=n+1}^{\infty} 2\|A_i - I\|^2 + \|B_i\|^2 \\ &\leq \sum_{i=n+1}^{\infty} C_1 \|A_i - I\| + C_2 \|B_i\| \\ &\leq \sum_{i=n+1}^{\infty} C (\|A_i - I\| + \|B_i\|) \\ &< \varepsilon, \end{aligned}$$

where

$$C_1 = 2 \sup_{i \geq n_0} \|A_i - I\|, \quad C_2 = \sup_{i \geq n_0} \|B_i\|, \quad C = C_1 + C_2.$$

Therefore, we have proved that L_1 is compact operator in H_1 . Weyl's theorem of compact perturbation (Glazman, 1965) implies

$$\sigma_c(L) = \sigma_c(L_0) = [-2, 2].$$

Remark 1. Since the operator L is self-adjoint, the eigenvalues of L are real. The point spectrum of L satisfies

$$\sigma_d(L) \subset (-\infty, -2] \cup [2, \infty). \quad (18)$$

Moreover, it easily follows

$$\sigma_d(L) = \{\lambda: \lambda = z + z^{-1}, z \in (-1, 0) \cup (0, 1), F_0(z) \text{ is not invertible}\}.$$

$F_0(z)$ is called the Jost function of L . Note that, this function is an infinite dimensional operator-valued function on the contrary to finite dimensional matrix coefficients case. Hence we need a different approach in order to locate the singular points of this operator-valued function. Luckily, the theory of infinite dimensional operators in Hilbert spaces provides the necessary tools. We summarize below our main tool which is due to (Keldysh, 1971) for the sake of completeness.

Theorem 5. (Keldysh, 1971) Let $A(z)$ be an operator-valued function defined on a region D such that $A(z)$ is an operator in a Hilbert space H for each z . Suppose $A(z)$ is analytic in D and $A(z)$ is a compact operator for each $z \in D$. Then the following statements hold:

- i. The operator $I - A(z)$ has an inverse except for a countable set of points in D .
- ii. If the set of points where $I - A(z)$ doesn't have an inverse is infinite, then the only limit point of this set lies on the boundary of D .
- iii. If $(I - A(z))^{-1}$ exists for $z = z_0 \in D$ then it exists over the whole of D , except possibly for a set of isolated points, and is a meromorphic function of z . Moreover $(I - A(z_0))^{-1} = I + B(z_0)$ where $B(z_0)$ is a compact operator.

Theorem 6. $\sigma_d(L)$ is bounded and countable. Furthermore, its only limit point (if exists) can be $\lambda = -2$ or $\lambda = 2$.

Proof. We try to adapt Theorem 5 into our case. Let us define

$$M = \{z: z \in (-1, 0) \cup (0, 1), F_0(z) \text{ is not invertible}\}.$$

Then

$$\sigma_d(L) = \{\lambda: \lambda = z + z^{-1}, z \in M\}.$$

The Jost function can be represented (see equation (11))

$$F_0(z) = T_0 \left[I + \sum_{m=1}^{\infty} K_{0,m} z^m \right], \quad (19)$$

where

$$T_0 = \prod_{p=0}^{\infty} A_p^{-1}$$

is invertible (see equation (13)). The last two equations imply that $F_0(z)$ is invertible iff

$$G(z) := I + \sum_{m=1}^{\infty} K_{0,m} z^m$$

is invertible. From Theorem 2 we have

$$K_{0,1} = -\sum_{p=1}^{\infty} T_p^{-1} B_p T_p, \quad (20)$$

$$K_{0,2} = -\sum_{p=1}^{\infty} T_p^{-1} B_p T_p K_{p,1} + \sum_{p=1}^{\infty} T_p^{-1} (I - A_p^2) T_p, \quad (21)$$

$$K_{0,m+2} = \sum_{p=1}^{\infty} T_p^{-1} (I - A_p^2) T_p K_{p+1,m} - \sum_{p=1}^{\infty} T_p^{-1} B_p T_p K_{p,m+1} + K_{1,m}, \quad (22)$$

where $m \in \mathbb{N}$. It follows $K_{0,m}$ is compact for each $m \in \mathbb{N}$ from (20)-(22) and the conditions that $A_n - I$ ($n \in \mathbb{N} \cup \{0\}$) and B_n ($n \in \mathbb{N}$) are compact operators. As a result,

$$A(z) := \sum_{m=1}^{\infty} K_{0,m} z^m \quad (23)$$

is compact for every $z \in (-1,0) \cup (0,1)$. Furthermore, $A(z)$ is analytic in $(-1,0) \cup (0,1)$ since $F_0(z)$ is analytic in D_1 . Now $-A(z)$ where $A(z)$ is defined by (23) satisfies the conditions of Theorem 5 where $D = (-1,0) \cup (0,1)$. From Theorem 5 (i) it follows $I + A(z) = G(z)$ and equivalently $F_0(z)$ has an inverse except for a countable set of points in D . Hence $\sigma_d(L)$ is countable.

From (19) we have

$$F_0(z) = T_0 + o(1), |z| \rightarrow 0$$

which implies $F_0(z)$ is invertible for sufficiently small z and hence $\lambda = z + z^{-1}$ can not be an eigenvalue when $|z| \rightarrow 0$. Therefore $\sigma_d(L)$ is bounded.

Finally, if $\sigma_d(L)$ is finite then it doesn't have any limit point. Suppose $\sigma_d(L)$ has infinitely many elements. Then M also has infinitely many elements. Theorem 5 (ii) implies that the only limit point of M can lie on the boundary of D . Since $\sigma_d(L)$ is bounded this limit point of M can not be $z = 0$. Hence the limit point of M can be $z = \pm 1$ meaning that the only limit point of $\sigma_d(L)$ can be $\lambda = -2$ or $\lambda = 2$.

Theorem 7. L has a finite number of eigenvalues with finite multiplicities.

Proof. From Theorem 6 the only limit point (if exists) of $\sigma_d(L)$ can be $\lambda = -2$ or $\lambda = 2$. If $\lambda = 2$ is a limit point of $\sigma_d(L)$ then there exist an eigenvalue in the neighborhood $[2 - \varepsilon, 2)$ for sufficiently small $\varepsilon > 0$. This contradicts with (18). Therefore $\lambda = 2$ can not be a limit point of $\sigma_d(L)$. Similarly we can show that $\lambda = -2$ can not be a limit point of $\sigma_d(L)$. Since $\sigma_d(L)$ is bounded (see Theorem 6) and has no limit point, it is finite by well-known Bolzano-Weierstrass Theorem. Therefore L has a finite number of eigenvalues.

We have at least one point $z = z_0$ in D such that $(I + A(z))^{-1}$ exists. Theorem 5 (iii) implies that $(I + A(z))^{-1} = (G(z))^{-1}$ exists over the whole of D , except for a set of isolated points. Obviously these isolated points are eigenvalues of L . Further, $(G(z))^{-1}$ is meromorphic in D . Therefore $(G(z))^{-1}$ can be written

$$(G(z))^{-1} = \frac{U(z)}{v(z)},$$

where $U(z)$ is an operator-valued function and $v(z)$ is a scalar function both analytic on D . It is clear from the last equation that $\lambda = z + z^{-1}$ is an eigenvalue of L with multiplicity m_z if and only if z is a zero of the function $v(z)$ with multiplicity m_z . Since $(G(z))^{-1}$ is meromorphic on D all zeros of $v(z)$ have finite multiplicities. Therefore L has a finite number of eigenvalues with finite multiplicities.

CONCLUSION

In this paper, spectrum of discrete analogue of Sturm-Liouville equation with operator coefficient on the half-line is investigated. Here, operator coefficients are defined in an infinite dimensional Hilbert space unlike the matrix coefficient case which has been studied in (Aygar and Bairamov, 2012). This

makes the problem under investigation different since in infinite dimension one needs to deal with operator-valued Jost function. In order to overcome this difficulty, we use (Keldysh, 1971) in which the singular points of an analytic, compact operator-valued function are characterized. It is shown that the eigenvalues of this boundary value problem corresponds to singular points of operator-valued Jost function. Further, it is proven that the spectrum is discrete under Assumption 2.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest.

Author's Contributions

I hereby declare that the planning, execution and writing of the article was done by me as the sole author of the article.

REFERENCES

- Aktosun T, Weder R, 2020. Direct and Inverse Scattering for the Matrix Schrödinger Equation, Applied Mathematical Sciences, 203, Springer, Cham.
- Aygar Y, Bairamov E, 2012. Jost solution and the spectral properties of the matrix-valued difference operators. Applied Mathematics and Computation, 218: 9676-9681.
- Bairamov E, Aygar Y, Cebesoy S, 2016. Spectral analysis of a selfadjoint matrix-valued discrete operator on the whole axis. Journal of Nonlinear Sciences and Applications, 9: 4257-4262.
- Bairamov E, Kir Arpat E, Mutlu G, 2017. Spectral properties of non-selfadjoint Sturm-Liouville operator with operator coefficient. Journal of Mathematical Analysis and Applications, 456: 293-306.
- Gasymov MG, Zikov VV, Levitan BM, 1967. Conditions for discreteness and finiteness of the negative spectrum of Schrödinger's operator equation. Matematicheskije Zametki, 2: 531-538.
- Glazman IM, 1965. Direct Methods of Qualitative Spectral Analysis of Singular Differential Operators, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem.
- Keldysh MV, 1971. On the completeness of the eigenfunctions of some classes of non-selfadjoint linear operators. Russian Mathematical Surveys, 26: 15-44.
- Kir Arpat E, Mutlu G, 2015. Spectral properties of Sturm-Liouville system with eigenvalue-dependent boundary conditions. International Journal of Mathematics, 26: 1550080-1550088.
- Lusternik LA, Sobolev VI, 1974. Elements of Functional Analysis. Halsted Press, New York.
- Mutlu G, 2020. Spectral properties of the second order difference equation with selfadjoint operator coefficients. Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series A1-Mathematics and Statistics, 69: 88-96.
- Mutlu G, Kir Arpat E, 2020a. Spectral properties of non-selfadjoint Sturm-Liouville operator equation on the real axis. Hacettepe Journal of Mathematics and Statistics, 49: 1686-1694.
- Mutlu G, Kir Arpat E, 2020b. Spectral analysis of non-selfadjoint second order difference equation with operator coefficient. Sakarya University Journal of Science, 24: 494-500.
- Serebrjakov VP, 1980. An inverse problem of the scattering theory for difference equations with matrix coefficients. Doklady Akademii Nauk SSSR, 250(3): 562-565 (in Russian).
- Yokus N, Coskun N, 2019. Spectral properties of discrete Klein-Gordon s-wave equation with quadratic eigenparameter-dependent boundary condition. Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science, 43: 1951-1955.
- Yokus N, Coskun N, 2020. Spectral analysis of Klein-Gordon difference operator given by a general boundary condition. Communications in Mathematics and Applications, 11(2): 271-279.

On Some Identities Involving Cauchy Products of Central Delannoy Numbers

Serpil HALICI

ABSTRACT: In this paper, we have examined Cauchy products of central Delannoy numbers. Moreover, using their recurrence relation we have derived some important identities such as the Cassini and Catalan's identities which contain these products.

Keywords: Recurrences, Delannoy numbers, Cauchy product, Identities

INTRODUCTION

Delannoy Numbers, $d_{i,j}$, were defined in the 19th century by H. Delannoy using the following equation for $i, j \in \mathbb{Z}$

$$d_{i,j} = d_{i-1,j} + d_{i,j-1} + d_{i-1,j-1} .$$

$d_{0,0} = 1$ and for negative values i or j it is $d_{i,j} = 0$. The number $d_{i,j}$ gives geometrically the number of lattices that can be drawn from point $(0,0)$ to point (i, j) . For detailed information about these numbers, the studies of (Sulanke, 2003; Banderier et al, 2005; Wang et al, 2019; Deveci et al, 2021) can be viewed. Diagonal elements $d_{n,n}$ are called central Delannoy numbers while $n \geq 0$.

Asymmetric Delannoy numbers $\tilde{d}_{m,n}$ give starting from the origin point to $(m, n + 1)$ the number paths. Some asymmetric Delannoy numbers can be listed as

$$\{\tilde{d}_{0,n}\}_{n \geq 0} = \{1, 2, 4, 8, 16, 32, \dots\},$$

$$\{\tilde{d}_{1,n}\}_{n \geq 0} = \{1, 3, 8, 20, 48, 112, \dots\},$$

$$\{\tilde{d}_{2,n}\}_{n \geq 0} = \{1, 4, 13, 38, 104, 272, \dots\}.$$

The numbers $\tilde{d}_{m,m} = D(m)$ are called central Delannoy numbers (Qi, 2019). The generating function of these numbers is given by

$$G(x) = \sum_{n=0}^{\infty} D(n)x^n = 1 + 3x + 13x^2 + 63x^3 + \dots = \frac{1}{\sqrt{1-6x+x^2}} .$$

For $k \in \mathbb{N}$, these numbers are calculated by the following determinant (Qi et al, 2016).

$$D(k) = (-1)^k \begin{vmatrix} a_1 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ a_2 & a_1 & 1 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ a_3 & a_2 & a_1 & \dots & 0 & 0 & 0 \\ \cdot & \cdot & \cdot & \dots & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \dots & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \dots & \cdot & \cdot & \cdot \\ a_{k-2} & a_{k-3} & a_{k-4} & \dots & a_1 & 1 & 0 \\ a_{k-1} & a_{k-2} & a_{k-3} & \dots & a_2 & a_1 & 1 \\ a_k & a_{k-1} & a_{k-2} & \dots & a_3 & a_2 & a_1 \end{vmatrix} .$$

Here the terms a_k are

$$a_k = \frac{(-1)^{k+1}}{6^k} \sum_{l=1}^k (-1)^l 6^{2l} \frac{(2l-3)!!}{(2l)!!} \binom{l}{k-l} .$$

When the above calculation is continued, the elements of the sequence $D(k)$ can be listed and some central Delannoy numbers, for $1 \leq k \leq 11$, as follows:

$$\{ 1, 3, 13, 63, 321, 1683, 8989, 48639, 265729, 1462563, 8097453, \dots \}.$$

Since the Cauchy product of the two sequences such as (a_n) , (b_n) is defined by a discrete convolution. For the central Delannoy numbers, this product can be also defined as

$$c_k = \sum_{l=0}^k D(l)D(k-l).$$

In (Qi et al, 2016)], the authors have given the following useful identities, including explicit formulas that give these numbers with the help of the generating function of central Delannoy numbers $D(k)$ and Cauchy products of these numbers.

- i) For $k \geq 0$, the Cauchy product of the numbers $D(k)$ is calculated as

$$\sum_{l=0}^k D(l)D(k-l) = \frac{(-1)^k}{6^k} \sum_{l=0}^k (-1)^l 6^{2l} \binom{l}{k-l}.$$

ii) For $k \geq 2$, the Cauchy product of central Delannoy numbers provides the following property:

$$\sum_{l=0}^k D(l)D(k-l) - 6 \sum_{l=0}^{k-1} D(l)D(k-l-1) + \sum_{l=0}^{k-2} D(l)D(k-l-2) = 0.$$

iii) For $k \geq 1$, the Cauchy product of central Delannoy numbers can be calculated by the following k order tridiagonal determinant:

$$(-1)^k \begin{vmatrix} -6 & 1 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 & 0 \\ 1 & -6 & 1 & 0 & \cdots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -6 & 1 & \cdots & 0 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & -6 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & -6 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 1 & -6 \end{vmatrix}.$$

MATERIAL AND METHODS

Since each recurrence relation can be expressed as a difference equation, some authors use difference equations and recurrence relations interchangeably. The solution method of difference equations is used in the solution of recurrence relations. The coefficient of x^n in the power series of the function $g(x)$ obtained as the generating function for the given repeated relation can be obtained $g(x)$ can be solved algebraically, and $g(x)$ is expressed as a power series to obtain the term a_n . In other words, the recurrence relations can be solved with the help of the corresponding generating function. In [Qi(2019)], the matrix $M_k(c)$ related to central Delannoy numbers is defined and given generating function for the numbers $D_k(c)$. In this section, with the properties of the recurrence relations, we give some important identities. For $c \in \mathbb{C}$ and $k \in \mathbb{N}$, this matrix is

$$M_k(c) = \begin{pmatrix} c & 1 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 & 0 \\ 1 & c & 1 & 0 & \cdots & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & c & 1 & \cdots & 0 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & c & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & c & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 1 & c \end{pmatrix}_{k \times k}.$$

Then, using the determinant of the matrix $M_k(c)$ we get the following sequence

$$\{D_k(c)\}_{k \geq 1} = \{c, c^2 - 1, c^3 - 2c, c^4 - 3c^2 + 1, \dots, D_n(c), \dots\}.$$

Note that the terms of the above sequence satisfy in the below relation

$$D_k(c) = cD_{k-1}(c) - D_{k-2}(c), \quad k \geq 2.$$

For the roots of the characteristic equation, $\alpha + \beta = c$, $\alpha\beta = 1$ can be written. For $k \geq 0$, using the generating function definition the following equations can be written.

$$\begin{aligned}\sum_{k=0}^{\infty} D_k(c)x^k &= D_0(c) + D_1(c)x + D_2(c)x^2 + \dots, \\ x^2 \sum_{k=0}^{\infty} D_k(c)x^k &= D_0(c)x^2 + D_1(c)x^3 + D_2(c)x^4 + \dots, \\ -cx \sum_{k=0}^{\infty} D_k(c)x^k &= -D_0(c)x - D_1(c)x^2 - D_2(c)x^3 - \dots.\end{aligned}$$

If the recurrence relation is used and the necessary operations are performed, the generating function can be easily obtained:

$$\sum_{k=0}^{\infty} D_k(c) x^k = \frac{1}{x^2 - cx + 1}.$$

In (Qi, 2019), the authors also gave the following recursive formula for $c \in \mathbb{C}$ and $k \geq 0$ with the help of the generating function:

$$D_k(c) = \begin{cases} \frac{\alpha^{k+1} - \beta^{k+1}}{\alpha - \beta}, & c \neq \pm 2 \\ k + 1, & c = 2 \\ (-1)^k(k + 1), & c = -2. \end{cases}$$

RESULTS AND DISCUSSION

Since recursive relations are very advantageous, we used them to find the Cauchy products and examine the properties of the sequence we just constructed.

As known that the Cassini's identity is a special case of Catalan's identity and gives information about the n th term of the sequence. In the following theorem, we give Cassini's identity involving the terms of the sequence $D_k(c)$.

Theorem 1. For $k \geq 1$, the following identity is true.

$$D_{k-1}(c)D_{k+1}(c) - D_k(c)^2 = -1.$$

Proof. While showing the accuracy of this equation, we use the recurrence relation. Since we need to examine the proof according to the cases c , let's first show the accuracy of this equation when $c \neq \pm 2$. Then,

$$\begin{aligned}D_{k-1}(c)D_{k+1}(c) - D_k(c)^2 &= \left(\frac{2\alpha^{k+1}\beta^{k+1} - \alpha^k\beta^{k+2} - \beta^k\alpha^{k+2}}{(\alpha - \beta)^2} \right), \\ D_{k-1}(c)D_{k+1}(c) - D_k(c)^2 &= \frac{-1}{(\alpha - \beta)^2} \alpha^k \beta^k (\alpha^2 - 2\alpha\beta + \beta^2), \\ D_{k-1}(c)D_{k+1}(c) - D_k(c)^2 &= \frac{-1}{(\alpha - \beta)^2} (\alpha\beta)^k (\alpha - \beta)^2 = -1.\end{aligned}$$

is obtained. Now, let us show the same equation when $c = 2$. The equations

$$D_{k-1}(2) = k, D_{k+1}(2) = k + 2, D_k(2) = k + 1$$

if we write down equations, then

$$D_{k-1}(2)D_{k+1}(2) - D_k(2)^2 = k(k + 2) - (k + 1)^2 = -1$$

is obtained. For $c = -2$, using the following facts

$$D_{k-1}(-2) = (-1)^{k-1}k, D_{k+1}(-2) = (-1)^{k+1}k + 2, D_k(-2) = (-1)^k k + 1$$

we get

$$D_{k-1}(-2)D_{k+1}(-2) - D_k(-2)^2 = (-1)^{2k}(k^2 + 2k) - \left((-1)^{2k}(k^2 + 2k + 1) \right) = -1.$$

So, Cassini's identity ensures the following equality for each value c .

$$D_{k-1}(c)D_{k+1}(c) - D_k(c)^2 = -1.$$

For example, $k = 2, 3$ if we examine the last equation respectively, then

$$\begin{aligned}D_1(c)D_3(c) - D_2(c)^2 &= \left(\frac{\alpha^6 - \alpha^2\beta^4 - \beta^2\alpha^4 + \beta^6 - \alpha^6 + 2\alpha^3\beta^3 - \beta^6}{(\alpha - \beta)^2} \right), \\ D_1(c)D_3(c) - D_2(c)^2 &= \frac{-(\alpha\beta)^2(\alpha - \beta)^2}{(\alpha - \beta)^2} = -1\end{aligned}$$

and

$$D_2(c)D_4(c) - D_3(c)^2 = \left(\frac{\alpha^8 - \alpha^3\beta^5 - \beta^3\alpha^5 + \beta^8 - \alpha^8 + 2\alpha^4\beta^4 - \beta^8}{(\alpha - \beta)^2} \right),$$

$$D_2(c)D_4(c) - D_3(c)^2 = \frac{-\alpha^3\beta^3(\beta^2 - 2\alpha\beta + \alpha^2)}{(\alpha - \beta)^2} = -1$$

is obtained. We would like to specifically point out that the following results are obtained with the help of Cassini's identity. For sequences with positive terms, if the inequality

$$t_k^2 \geq t_{k-1}t_{k+1}$$

is satisfied while $k = 1, 2, 3, \dots$ such type sequences are called logarithmic concave sequences. Thus, with the help of the Cassini identity, the sequence of Cauchy products of central Delannoy numbers becomes logarithmic concave:

i) $D_k^2(c) \geq D_{k-1}(c)D_{k+1}(c).$

ii) Two consecutive $D_k(c)$ numbers are prime between them: $(D_k(c), D_{k+1}(c)) = 1.$

iii) $D_k^2(c) - D_{k-1}^2(c) - cD_k(c)D_{k-1}(c) = 1.$

In the following corollary, we give the positive powers of the roots of the related equation of sequence $D_k(c).$

Corollary 1. For the roots α and β the following equalities are satisfied.

i) $\alpha^n = \alpha D_{n-1}(c) - D_{n-2}(c)$

ii) $\beta^n = \beta D_{n-1}(c) - D_{n-2}(c)$

Proof. i) From the characteristic equation of the numbers $D_k(c),$ we write $\alpha^2 = c\alpha - 1.$ If we multiply both sides of this equality by α and also

$$D_1(c) = c, D_2(c) = c^2 - 1, D_3(c) = c^3 - 2c$$

using the equations, respectively

$$\alpha^3 = \alpha D_2(c) - D_1(c) \text{ ve } \alpha^4 = \alpha D_3(c) - D_2(c)$$

obtained. For $n = k,$ we assume the claim is true:

$$\alpha^k = \alpha D_{k-1}(c) - D_{k-2}(c).$$

We look for $n = k + 1,$ then we have

$$\alpha^{k+1} = \alpha \alpha^k = \alpha(\alpha D_{k-1}(c) - D_{k-2}(c)) = \alpha D_k(c) - D_{k-1}(c).$$

The other claim can be seen similarly. So, the proof ends.

In the following theorem, we give the Catalan's identity which is a generalization of Cassini's identity.

Theorem 2. For $n \geq k,$ the following equality is true.

$$D_{n+k}(c)D_{n-k}(c) - D_n(c)^2 = \begin{cases} -D_{k-1}^2(c), & c \neq \pm 2 \\ -k^2, & c = 2 \text{ ve } c = -2 \end{cases}$$

Proof. We first show the correctness for $c \neq \pm 2.$ For this, let's write the following equations using the recurrence relation.

$$D_{n+k}(c)D_{n-k}(c) - D_n(c)^2 = \left(\frac{2\alpha^{n+1}\beta^{n+1} - \alpha^{n+k+1}\beta^{n-k+1} - \beta^{n+k+1}\alpha^{n-k+1}}{(\alpha - \beta)^2} \right).$$

We get

$$\frac{\alpha^{n+1}\beta^{n+1}(2 - \alpha^k\beta^{-k} - \beta^k\alpha^{-k})}{(\alpha - \beta)^2}.$$

If the relationships between roots are used and the necessary simplification is done, then

$$\frac{1}{(\alpha - \beta)^2} \left(\frac{2\alpha^k\beta^k - \alpha^{2k} - \beta^{2k}}{(\alpha\beta)^k} \right) = -D_{k-1}^2(c).$$

For $c = 2,$ let's give the proof. Then, we get

$$D_{n+k}(2)D_{n-k}(2) - D_n^2(2) = (n+k+1)(n-k+1) - (n+1)^2 = -k^2.$$

Finally, for $c = -2$, the value $D_{n+k}(-2)D_{n-k}(-2) - D_n^2(-2)$ is equal to this:

$$(-1)^{2n}(n^2 - nk + n + kn - k^2 + k + n - k + 1) - ((-1)^{2n}(n^2 + 2n + 1)).$$

Thus, we get

$$D_{n+k}(-2)D_{n-k}(-2) - D_n^2(-2) = -k^2.$$

We derive the Vajda's identity provided by the terms of the sequence we are working on in the following theorem.

Theorem 3. For positive numbers n, m, k the following equality is true.

$$D_{n+m}(c)D_{n+k}(c) - D_n(c)D_{n+m+k}(c) = \begin{cases} D_{m-1}(c)D_{k-1}(c), & c \neq \pm 2 \\ mk, & c = 2 \\ (-1)^{m+k}mk, & c = -2 \end{cases}$$

Proof. First, we show that equality is correct, $c \neq \pm 2$. If the recurrence relation is used for the first side of the equation given in the theorem, then the second side of the equation follows.

$$D_{n+m}(c)D_{n+k}(c) - D_n(c)D_{n+m+k}(c) = \frac{\alpha^{n+1}\beta^{n+1}(\beta^{m+k} + \alpha^{m+k} - \alpha^m\beta^k - \alpha^k\beta^m)}{(\alpha - \beta)^2},$$

$$D_{n+m}(c)D_{n+k}(c) - D_n(c)D_{n+m+k}(c) = \frac{\alpha^m(\alpha^k - \beta^k) - \beta^m(\alpha^k - \beta^k)}{(\alpha - \beta)^2} = \frac{(\alpha^k - \beta^k)(\alpha^m - \beta^m)}{(\alpha - \beta)^2},$$

$$D_{n+m}(c)D_{n+k}(c) - D_n(c)D_{n+m+k}(c) = D_{m-1}(c)D_{k-1}(c).$$

We show the correctness for $c = 2$:

$$D_{n+m}(2)D_{n+k}(2) - D_n(2)D_{n+m+k}(2) \text{ is equal to this} \\ (n+m+1)(n+k+1) - (n+1)(n+m+k+1) = mk.$$

And so, from this fact we get

$$D_{n+m}(2)D_{n+k}(2) - D_n(2)D_{n+m+k}(2) = mk.$$

Finally, $c = -2$, let's show that the claim is true.

$$D_{n+m}(-2)D_{n+k}(-2) - D_n(-2)D_{n+m+k}(-2) \text{ is} \\ (-1)^{n+m}(n+m+1)(-1)^{n+k}(n+k+1) - (-1)^n(n+1)(-1)^{n+m+k}(n+m+k) \\ = (-1)^{2n+m+k}(mk) = (-1)^{m+k}(mk) = (-1)^{m+k}mk.$$

Thus, the proof is completed.

Theorem 4 (D'Ocagne's identity). For $n \geq -1$ and $m \geq -1$, we have

$$D_m(c)D_{n+1}(c) - D_n(c)D_{m+1}(c) = \begin{cases} \frac{\alpha^m\beta^n - \alpha^n\beta^m}{\alpha - \beta}, & c \neq \pm 2 \\ m - n, & c = 2 \\ (-1)^{m+n+1}m - n, & c = -2 \end{cases}$$

Proof. First, let's show the truth of the equation for the case $c \neq \pm 2$.

$D_m(c)D_{n+1}(c) - D_n(c)D_{m+1}(c)$ equal to the following value:

$$D_m(c)D_{n+1}(c) - D_n(c)D_{m+1}(c) = \frac{\alpha^{n+1}\beta^{m+1}(\beta - \alpha) - \alpha^{m+1}\beta^{n+1}(\beta - \alpha)}{(\alpha - \beta)^2},$$

$$D_m(c)D_{n+1}(c) - D_n(c)D_{m+1}(c) = \frac{-(\alpha - \beta)(\alpha^n\alpha\beta^m\beta - \alpha^m\alpha\beta^n\beta)}{(\alpha - \beta)^2},$$

$$D_m(c)D_{n+1}(c) - D_n(c)D_{m+1}(c) = \frac{\alpha^m\beta^n - \alpha^n\beta^m}{\alpha - \beta}$$

which is the desired result. When $c = 2$ we have

$$D_m(2)D_{n+1}(2) - D_n(2)D_{m+1}(2) = (m+1)(n+2) - (n+1)(m+2),$$

$$D_m(2)D_{n+1}(2) - D_n(2)D_{m+1}(2) = m - n$$

And let us take $c = -2$. The formula $D_m(-2)D_{n+1}(-2) - D_n(-2)D_{m+1}(-2)$ is

$$(-1)^m(m+1)(-1)^{n+1}(n+2) - (-1)^n(n+1)(-1)^{m+1}(m+2).$$

Thus, we have

$$D_m(-2)D_{n+1}(-2) - D_n(-2)D_{m+1}(-2) = (-1)^{m+n+1}(m-n).$$

Thus, the proof is completed.

The formula for integer sequences was given by E. Gelin and proved by E. Cesaro in 1880. In the following theorem, we have given the Gelin-Cesaro formula for the elements of the sequence $\{D_k(c)\}$, which are defined and studied for the first time.

Theorem 5 (Gelin-Cesaro identity). For $n \geq 2$, we have

$$D_{n-2}(c)D_{n-1}(c)D_{n+1}(c)D_{n+2}(c) - D_n^4(c) \text{ is } \begin{cases} c^2 - (1-c^2)D_n^2(c); & c \neq \pm 2 \\ -5n^2 - 10n - 1; & c = 2, c = -2 \end{cases}$$

Proof. Let us first examine cases $c \neq 2$ and $c \neq -2$ to show the accuracy of the equation. If we use the Catalan identity for this purpose, then we write

$$\begin{aligned} D_{n-1}(c)D_{n+1}(c) - D_n(c)^2 &= -D_0(c)^2 \\ D_{n-2}(c)D_{n+2}(c) - D_n(c)^2 &= -D_1(c)^2 \end{aligned}$$

We write these equations in the following equation

$$D_{n-2}(c)D_{n-1}(c)D_{n+1}(c)D_{n+2}(c) - D_n^4(c)$$

then, we have

$$\begin{aligned} (D_n(c)^2 - D_1(c)^2)(D_n(c)^2 - D_0(c)^2) - D_n^4(c) \\ = D_n^4(c) - D_n^2(c)D_0^2(c) - D_1^2(c)D_n^2(c) + D_1^2(c)D_0^2(c) - D_n^4(c). \end{aligned}$$

Here, the values $D_0(c) = 1$, $D_1(c) = c$ are written the following equation is obtained.

$$-D_n^2(c)D_0^2(c) - D_1^2(c)D_n^2(c) + D_1^2(c)D_0^2(c) = -D_n^2(c) - c^2D_n^2(c) + c^2.$$

If necessary arrangements are made

$$D_{n-2}(c)D_{n-1}(c)D_{n+1}(c)D_{n+2}(c) - D_n^4(c) = c^2 - (1+c^2)D_n^2(c)$$

is obtained which is the desired result. If we write $c = 2$, then we get

$$\begin{aligned} D_{n-2}(2)D_{n-1}(2)D_{n+1}(2)D_{n+2}(2) - D_n^4(2) &= (n-1)n(n+2)(n+3) - (n+1)^4 \\ D_{n-2}(2)D_{n-1}(2)D_{n+1}(2)D_{n+2}(2) - D_n^4(2) &= -5n^2 - 2n - 1 \end{aligned}$$

which is the desired result. If we write $c = -2$, then we get

$$\begin{aligned} D_{n-2}(-2)D_{n-1}(-2)D_{n+1}(-2)D_{n+2}(-2) - D_n^4(-2) \\ = (-1)^{n-2}(n-1)(-1)^{n-1}(-1)^{n+1}(n+2)(-1)^{n+2}(n+3) - ((-1)^n(n+1))^4, \\ = (n^4 + 4n^3 + n^2 - 6n) - (n^4 + 4n^3 + 6n^2 + 4n + 1) = -5n^2 - 2n - 1. \end{aligned}$$

Thus, the proof is completed.

We have given the Honsberger's identity provided by the terms of the sequence we are working on in the following theorem.

Theorem 6. For $k \geq 1$, $n \geq 0$ the value $D_{k-1}(c)D_n(c) + D_k(c)D_{n+1}(c)$ is

$$\begin{cases} \frac{\alpha^{n+1}(\alpha^k + \alpha^{k+2} - 2\beta^k) + \beta^{n+1}(\beta^k + \beta^{k+2} - 2\alpha^k)}{(\alpha - \beta)^2}; & c \neq \pm 2 \\ k(2n+3) + (n+2); & c = 2 \\ (-1)^{k+n+1}k(2n+3) + (n+2); & c = -2 \end{cases}$$

Proof. For $c \neq \pm 2$, the following equation can be written for the right side of the claim.

$$D_{k-1}(c)D_n(c) + D_k(c)D_{n+1}(c) = \left(\frac{\alpha^{k+n+1} + \beta^{k+n+1} + \alpha^{k+n+3} + \beta^{k+n+3} - 2\alpha^k\beta^{n+1} - 2\beta^k\alpha^{n+1}}{(\alpha - \beta)^2} \right),$$

$$D_{k-1}(c)D_n(c) + D_k(c)D_{n+1}(c) = \frac{\alpha^{n+1}(\alpha^k + \alpha^{k+2} - 2\beta^k) + \beta^{n+1}(\beta^k + \beta^{k+2} - 2\alpha^k)}{(\alpha - \beta)^2}.$$

And for $c = 2$, we write

$$D_{k-1}(2)D_n(2) + D_k(2)D_{n+1}(2) = k(n+1) + (k+1)(n+2) = k(2n+3) + (n+2)$$

For $c = -2$, $D_{k-1}(-2)D_n(-2) + D_k(-2)D_{n+1}(-2)$ is follows:

$$D_{k-1}(-2)D_n(-2) + D_k(-2)D_{n+1}(-2) = (-1)^{k-1}k(-1)^n(n+1) + (-1)^k(k+1)(-1)^{n+1}(n+2)$$

$$D_{k-1}(-2)D_n(-2) + D_k(-2)D_{n+1}(-2) = (-1)^{k+n}(-kn - k - kn - 2k - n - 2).$$

Thus, we get

$$D_{k-1}(-2)D_n(-2) + D_k(-2)D_{n+1}(-2) = (-1)^{k+n+1}k(2n+3) + (n+2).$$

Thus, the proof is completed.

Theorem 7. For $k \geq 1$, $c = \pm 2$, the following equality is satisfied.

$$D_{k+1}(c) + D_{k-1}(c) = cD_k(c).$$

Proof. If we write,

$$\alpha^{k+2} - \beta^{k+2} = (\alpha + \beta)(\alpha^{k+1} - \beta^{k+1}) + \beta^k - \alpha^k$$

and write this equality in the formula, then we obtain

$$D_{k+1}(c) + D_{k-1}(c) = \left(\frac{(\alpha + \beta)(\alpha^{k+1} - \beta^{k+1}) + \beta^k - \alpha^k}{\alpha - \beta} \right) + \left(\frac{\alpha^k - \beta^k}{\alpha - \beta} \right),$$

$$D_{k+1}(c) + D_{k-1}(c) = \frac{(\alpha + \beta)(\alpha^{k+1} - \beta^{k+1})}{\alpha - \beta} + \left(\frac{\beta^k - \alpha^k}{\alpha - \beta} \right) + \left(\frac{\alpha^k - \beta^k}{\alpha - \beta} \right),$$

$$D_{k+1}(c) + D_{k-1}(c) = \frac{(\alpha + \beta)(\alpha^{k+1} - \beta^{k+1})}{\alpha - \beta},$$

$$D_{k+1}(c) + D_{k-1}(c) = cD_k(c).$$

Thus, the proof is completed.

Theorem 8. For $k \geq n$, the following equality is satisfied.

$$D_{k+n}(c) + D_{k-n}(c) = c(D_{k-1+n}(c) + D_{k-1-n}(c)) - (D_{k-2+n}(c) + D_{k-2-n}(c)).$$

Proof. If we write the following facts

$$\alpha^{k+n+1} - \beta^{k+n+1} = (\alpha + \beta)(\alpha^{k+n} - \beta^{k+n}) + \beta^{k+n-1} - \alpha^{k+n-1}.$$

and

$$\alpha^{k-n+1} - \beta^{k-n+1} = (\alpha + \beta)(\alpha^{k-n} - \beta^{k-n}) + \beta^{k-n-1} - \alpha^{k-n-1}$$

$$\text{in the formula } D_{k+n}(c) + D_{k-n}(c) = \left(\frac{\alpha^{k+n+1} - \beta^{k+n+1}}{\alpha - \beta} \right) + \left(\frac{\alpha^{k-n+1} - \beta^{k-n+1}}{\alpha - \beta} \right),$$

then we get

$$\frac{(\alpha + \beta)(\alpha^{k+n} - \beta^{k+n}) + \beta^{k+n-1} - \alpha^{k+n-1}}{\alpha - \beta} + \frac{(\alpha + \beta)(\alpha^{k-n} - \beta^{k-n}) + \beta^{k-n-1} - \alpha^{k-n-1}}{\alpha - \beta}.$$

And if we make the necessary simplifications, then we have

$$(\alpha + \beta) \frac{\alpha^{k+n} - \beta^{k+n}}{\alpha - \beta} - \frac{\alpha^{k+n-1} - \beta^{k+n-1}}{\alpha - \beta} + (\alpha + \beta) \frac{\alpha^{k-n} - \beta^{k-n}}{\alpha - \beta} - \frac{\alpha^{k-n-1} - \beta^{k-n-1}}{\alpha - \beta}.$$

From here, we get

$$D_{k+n}(c) + D_{k-n}(c) = c(D_{k+n-1}(c) + D_{k-n-1}(c)) - D_{k+n-2}(c) - D_{k-n-2}(c)$$

which the proof is completed.

CONCLUSION

In this study, using the studies on the central Delannoy numbers $D(k)$ in the literature, we have examined the sequence formed by the Cauchy products of these numbers and some basic properties of this sequence. We have also derived some important identities, such as Cassini's, Catalan's, d'Ocagne's identities that contain elements of this sequence. Further different properties of the Central Delannoy numbers and their Cauchy products can be derived using this work in subsequent studies.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank the referees who contributed to the review of this study.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest.

Author's Contributions

The entire work belongs to the author herself.

REFERENCES

- Badri M, Szeptycki P, 1990. Cauchy Products of Positive Sequences, *The Rocky Mountain Journal of Mathematics*, 20(2), 351-357.
- Banderier C, and Schwer S, 2005. Why Delannoy numbers?, *Journal of Statistical Planning and Inference*, 135(1), 40-54.
- Deveci O, Shannon A. G, 2021. Some Aspects of Neyman Triangles and Delannoy Arrays, *Mathematica Montisnigri*, 1, 36-43.
- Hetyei G., 2006. Central Delannoy numbers and balanced Cohen-Macaulay complexes, *Annals of Combinatorics*, 10(4), 443-462.
- Qi F, Cernanova V, Shi XT, and Guo B.N, 2018. Some properties of central Delannoy numbers, *J. Comput. Appl. Math.*, 328, 101-115.
- Qi F, Cernanova V, and Y. S. Semenov, 2019. Some tridiagonal determinants related to central Delannoy numbers, the Chebyshev polynomials, and the Fibonacci polynomials, *Politehn. Univ. Bucharest Sci. Bull. Ser. A. Appl. Math. Phys*, 81(1), 123-136.
- Qi F, B. N. Guo, V. Cernanova and Shi XT, 2016. Explicit expressions, Cauchy products, integral representations, convexity, and inequalities of central Delannoy numbers, *ResearchGate preprint*, available online at <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.4889.6886>.
- Sulanke RA, 2003. Objects counted by the central Delannoy numbers, *J. Integer Seq.*, 6(1).
- Wang Y, Zheng SN, and X. Chen, 2019. Analytic aspects of Delannoy numbers, *Discrete Mathematics*, 42(8), 2270-2277.

Computing the Forgotten Topological Index for Zero Divisor Graphs of MV-Algebras

Necla KIRCALI GÜRSOY*

ABSTRACT: Topological indices are numerical values in graphs. Recently, they have been an attractive topic and multidisciplinary research area in mathematics, computer science, chemistry, pharmacy, and etc. In this work, we investigate the Forgotten index of zero divisor graphs of MV-algebra. Firstly, using isomorphism between L_n and n -element MV-chain, we generalize the Forgotten topological index for zero divisor graph of L_n where $n > 5$. Then, the Forgotten index of zero divisor graph for MV-algebras which have cardinality 5,6,7,8 is computed with supporting samples.

Keywords: Forgotten index, topological index, MV-algebra, zero divisor graph, graph theory

¹ Necla KIRCALI GÜRSOY ([Orcid ID: 0000-0002-1732-9676](https://orcid.org/0000-0002-1732-9676)), Ege Üniversitesi, Tire Kutsan Meslek Yüksekokulu, Tire, İzmir, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Necla KIRCALI GÜRSOY, e-mail: necla.kircali.gursoy@ege.edu.tr

INTRODUCTION

Recently, logical algebraic structures have been examined in new mathematical works. Researchers deeply concern with keen these structures since these structures have been tackled as an impressive instrument for data systems and various sections in computer sciences, such as fuzzy knowledge with soft and rough concepts (Ansari et al., 2018). In the last thirty years, one of the exciting research topics has been to study algebraic structures by using graphs. Zero divisor graphs of commutative rings as the area of algebraic combinatorics were studied firstly by I. Beck (Beck, 1988). He gives the definition of the zero-divisor graph such that two elements $x, y \in R$ where this graph has vertex set on R are adjacent whenever $xy = 0$. In (Anderson and Livingston, 1999), this definition of a zero-divisor graph of a commutative ring was later modified. After the presentation of zero-divisor graphs, different types of graphs related to commutative rings go out such as annihilating-ideal graphs, comaximal graphs, total graphs (Anderson and Badawi, 2008; Akbari et al., 2009; Shaveisi, 2016; Ye and Wu, 2012; Wang, 2008; Tehranian and Maimani, 2011; Aijaz and Pirzada, 2020; Salehifar et al., 2017; Sinha and Rao, 2018). More recently, Gan and Yang have studied on zero-divisor graphs of MV-algebras concerning both logical structure and graphs (Gan and Yang, 2020a). They prove that this graph G is connected with the $diam(G) \leq 3$. Then, using the zero divisor graph, they categorize all MV-algebras having a cardinality is less than eight. Lastly, as a continuation of this work, Gan and Yang have also introduced an annihilator graph of an MV-algebra (Gan and Yang, 2020b). They show that the annihilator graph includes the zero divisor graph as a spanning graph. Moreover, the girth $gr(AG(A)) = \{3, 4, \infty\}$ is obtained by them.

Researches on the topological indices of zero-divisor graphs attract many authors since before time. In chemistry, graph theory uses to make predicts the chemical properties of the molecule such that every molecule can be showed as a graph. These graphs present atoms as vertices and chemical bonds as edges. Topological indices are used in studies such as the structure-dependency of total π -electron energy, physico-chemical applicability, etc. These indices can be classified into distance-based and degree-based. The Wiener index which is a distance-based index was studied for zero-divisor graphs in (Asir and Rabikka, 2021; Singh and Bhat, 2020). The Zagreb index which is a degree-based index was studied in (Singh and Bhat, 2020). Nowadays, the Sombor index is introduced by Gutman in (Gutman, 2021a). This topological index is degree-based and has attracted researchers, and many kinds of research have been conducted about this index (Das et al., 2021; Gutman, 2021b; Ghanbari and Alikhani, 2021; Reti et al., 2021; Zhou et al., 2021).

It is very important that determining the pharmacological, chemical and biological characteristics in sciences based on molecular such as medicine manufacture, chemistry, nanomaterials, and pharmacy. For this reason, topological index computation is widely applied. In the last 50 years, many topological indices, such as Sombor index, Forgotten index, Zagreb index, and PI index have been introduced to determine and measure the characters of molecules. These topological indices play an important role in medicine mathematical modeling. Because of that, the motivation of this paper is to research the forgotten topological index.

In this paper, we examine the Forgotten topological index for zero-divisor graphs of MV-algebras. Initially, we calculate this index for zero divisor graphs of MV-algebras having the cardinality of less than 5. Then, we generalize the Forgotten topological index for zero divisor graph of L_n where $n > 5$ using isomorphism between L_n and n -element MV-chain. Lastly, while the Forgotten index of zero divisor graph for MV-algebras which have cardinality 5, 6, 7, and 8 is computed, theorems presented are strengthened by supporting examples.

MATERIALS AND METHODS

The notion of MV-algebra was presented as Lukasiewicz's many-valued logic by C. C. Chang (Chang, 1958). This definition is used recently as follows (Chartrand et al., 2016):

Definition 1.1 The $M = \langle M, \oplus, \neg, 0 \rangle$ is an MV-algebra if it satisfies the following axioms:

$$(MV1) \quad x \oplus 0 = x$$

$$(MV2) \quad \neg \neg x = x$$

$$(MV3) \quad x \oplus y = y \oplus x$$

$$(MV4) \quad (x \oplus y) \oplus z = x \oplus (y \oplus z)$$

$$(MV5) \quad \neg(\neg x \oplus y) \oplus y = \neg(\neg y \oplus x) \oplus x$$

Let $[0,1] = \{x \in \mathbb{R} | 0 \leq x \leq 1\}$ be a real unit interval and \oplus operation is defined by $x \oplus y =_{def} \min(1, x + y)$ and $\neg x =_{def} 1 - x$. So, $\langle [0,1], \oplus, \neg, 0 \rangle$ is an MV-algebra.

Definition 1.2 Let N be a subset of an MV-algebra M such that containing the zero element of M . If N is closed under the operations of M and equipped with the restriction to of N these operations then it is called subalgebra of an MV-algebra M .

On an MV-algebra M , the constant 1 and the operations could be defined as:

$$\neg 1 = 0 \text{ and } x \odot y =_{def} \neg(\neg x \oplus \neg y) \text{ and } x \ominus y =_{def} x \odot \neg y.$$

From above the definitions, $\langle [0,1], \odot, \neg, 0 \rangle$ is an MV-algebra such that $x \odot y = \max\{0, x + y - 1\}$.

For each $n \geq 2$ integer number,

$$L_n =_{def} \left\{ 0, \frac{1}{n-1}, \frac{2}{n-1}, \dots, \frac{n-2}{n-1}, 1 \right\} \quad (1)$$

indicates an n -element subalgebra of $[0,1]$.

Now, we give the well known following conclusions.

Lemma 1.3 (Singh and Bhat, 2020) Let $\langle M, \oplus, \neg, 0 \rangle$ be an MV-algebra. The following conditions

- (1) $\langle M, \odot, \neg, 0 \rangle$ is an MV-algebra,
- (2) The mapping $\neg: \langle M, \oplus, \neg, 0 \rangle \rightarrow \langle M, \odot, \neg, 0 \rangle$ is an isomorphism,
- (3) $x \oplus 1 = 1$,
- (4) $x \oplus \neg x = 1$,
- (5) $x \oplus y = \neg(\neg x \odot \neg y)$,
- (6) $x \odot \neg x = 0$

are verified.

Lemma 1.4 Suppose that $\langle M, \oplus, \neg, 0 \rangle$ is an MV-algebra. The following conditions

- (1) $x \leq y$,
- (2) There is an element $m \in M$ such that $x \oplus m = y$,
- (3) $x \oplus m \leq y \oplus m$ for all $m \in M$,
- (4) $\neg x \oplus y = 1$,
- (5) $\neg y \leq \neg x$,
- (6) $x \odot \neg y = 0$,
- (7) $x \odot m \leq y \odot m$ for all $m \in M$,
- (8) $x \vee y = y$

are equivalent to each other.

Lemma 1.5 (Chang, 1958; Mundici, 2007) The following conditions

- (1) $(x \oplus y) \oplus (x \odot y) = (x \oplus y)$,
- (2) If $x \odot y = x \odot z$ and $x \oplus y = x \oplus z$, then $y = z$,
- (3) $x \odot y \leq x \wedge y \leq x$, $y \leq x \vee y \leq x \oplus y$,
- (4) $x \oplus (y \wedge z) = (x \oplus y) \wedge (x \oplus z)$,

$$(5) x \odot (y \vee z) = (x \odot y) \vee (x \odot z)$$

are verified for every $x, y, z \in M$.

Lemma 1.6 (Chang, 1958; Cignoli et al., 2013) The below conditions are equivalent to each other for $x, y \in M$:

- (1) $x \oplus y = y$,
- (2) $x \odot y = x$,
- (3) $x \wedge \neg y = 0$,
- (4) $\neg x \vee y = 1$.

All types of MV-algebras are produced from the MV-algebra $[0,1]$. For this reason, the MV-algebra $[0,1]$ is significant. The Chang Completeness Theorem supports this situation where an equation provides in $[0,1]$ if and only if it provides in each MV-algebra. Moreover, L_n is isomorphic to MV-chain which has n elements (Mundici, 2007).

Now, we recall some notations in graph theory. $G = (V, E)$ indicates a graph where $V(G)$ expresses the set of vertices and $E(G)$ expresses the set of edges. A graph G' is named a subgraph of G if $V(G') \subseteq V(G)$, $E(G') \subseteq E(G)$ and $u, v \in V(G')$ while $(u, v) \in E(G')$. Moreover, G is a connected graph if G contains no isolated vertices i.e. there must a path among any two vertices u and v for $u, v \in V(G)$ and $u \neq v$ (Chartrand et al., 2016; Harary, 1999).

In a graph G , the set of all neighbors of vertex $v \in V(G)$ is demonstrated by $N_G(v)$ and $N_G(v) = \{u \mid (u, v) \in E(G)\}$. A degree of a vertex $v \in V(G)$ is the number of edges connected to v and indicated by d_v or $deg(v)$ where $d_v = |N_G(v)|$.

If G is a graph with an edge between every pair of distinct vertices, then G is called a complete graph. Also, G is called to be a path graph if G has a sequence of vertices as $v_1, v_2, \dots, v_{n-1}, v_n$ where $d_{v_1} = d_{v_n} = 1$ and $d(v_i) = 2$ for $i = 2, 3, \dots, n-1$ and $E(G) = \cup_{j=2,3,\dots,n-1} (v_j, v_{j+1})$. A graph G having n vertices and $E(G) = \cup_{i=2,3,\dots,n} (v_1, v_i)$ edge set is called star graph, where $d_{v_1} = n-1$, $d_{v_i} = 1$ for $i = 2, 3, \dots, n$. (Chartrand et al., 2016; Harary, 1999)

If $V(G)$ is able to be divided into two subsets V_1 and V_2 where $V_1 \cap V_2 = \emptyset$ and $V_1 \cup V_2 = V(G)$ and $u \in V_1$ and $v \in V_2$ for every $(u, v) \in E(G)$, then G is said to be a bipartite graph. In addition to that, if every vertex in V_1 is connected to every vertex in V_2 , then G is called a complete bipartite graph.

For $u, v \in V(G)$, the distance indicates the length of the shortest path between u and v and is denoted by $d(u, v)$. Besides, the diameter of G is the maximum length of the shortest paths in G , that is, $diam(G) = \max\{d(u, v) \mid u, v \in V(G)\}$.

Any two graphs G and H are isomorphic if a bijective mapping $f: V(G) \rightarrow V(H)$ exists where $(f(u), f(v)) \in E(H)$ when $(u, v) \in E(G)$, and indicated by $G \cong H$. Otherwise, G and H are called non-isomorphic.

During this paper, $\Gamma(M)$ expresses the zero divisor graph produced by an MV-algebra M where $V(\Gamma(M)) = \{x \in M \mid \exists y \in M \setminus \{0\}, x \odot y = 0\}$, and $E(\Gamma(M)) = \{(x, y) \mid x \neq y, x, y \in M, x \odot y = 0\}$.

Proposition 1.7 For any MV-algebra M satisfies $V(\Gamma(M)) = M \setminus \{0, 1\}$ where $V(\Gamma(M))$ indicates the set of vertices in zero divisor graph of M .

Gan and Yang characterized MV-algebra M such that $diam(\Gamma(M)) \in \{0, 1\}$. Moreover, $|M|$ shows the cardinal number of M (Gan and Yang, 2020a).

Theorem 1.8 Let M be an MV-algebra. The below statements are equivalent.

- (1) $diam(\Gamma(M)) = 0$,
- (2) $|M| = 3$,
- (3) $M \cong L_3$,
- (4) $\Gamma(M)$ is an empty graph.

Theorem 1.9 Suppose that M is an MV algebra. Then, the below statements are equivalent:

- (1) $diam(\Gamma(M)) = 1$,
- (2) $\Gamma(M) \cong K_2$,
- (3) $|M| = 4$,
- (4) $M \cong L_4$ or $M \cong B_4$ is the 4-element Boolean algebra.

In the same paper, Gan and Yang prove that if $|M| = n \neq 4$ and $\Gamma(M) \cong \Gamma(L_n)$, then $M \cong L_n$. However, for this important theorem, the following Lemma should be given.

Lemma 1.10 Suppose that $n \geq 5$ be an integer number. For vertex degrees of $\Gamma(L_n)$,

- (1) If n is an odd number, then

$$\deg\left(\frac{i}{n-1}\right) = \begin{cases} n-1-i & \text{if } \frac{n-1}{2} < i < n-2 \\ n-2-i & \text{if } 1 \leq i \leq \frac{n-1}{2} \end{cases} \quad (2)$$

- (2) If n is an even number, then

$$\deg\left(\frac{i}{n-1}\right) = \begin{cases} n-1-i & \text{if } \frac{n}{2} < i < n-2 \\ n-2-i & \text{if } 1 \leq i \leq \frac{n}{2} \end{cases} \quad (3)$$

Theorem 1.11 If $|M| = n \geq 5$ and $\deg(\Gamma(M)) = \deg(\Gamma(L_n))$, then $M \cong L_n$.

Corollary 1.12 Suppose that n is an integer number and $|M| = n \neq 4$. Then $\Gamma(M) \cong \Gamma(L_n)$ if and only if $M \cong L_n$.

Then, the authors classified MV-algebras as having cardinality up to seven where $n \in \{5, 6, 7\}$. They used the zero divisor graph of MV-algebras (Gan and Yang, 2020a).

Theorem 1.13 Let M be an MV-algebra such that

- i. $|M| = 5$, then $M \cong L_5$,
- ii. $|M| = 6$, then $M \cong L_6$ or $M \cong L_2 \times L_3$,
- iii. $|M| = 7$, then $M \cong L_7$.

Topological indices, also known as molecular structure descriptors in natural sciences, are numerical values in graph theory, and these indices are inter disciplinary research areas related to mathematics, natural sciences, computer science and etc. The Forgotten topological index is also a degree-based topological index and is described as

$$FT(G) = \sum_{u \in V(G)} d_u^3 = \sum_{uv \in E(G)} \sqrt{d_u^2 + d_v^2} \quad (4)$$

where $G = (V(G), E(G))$ represents a graph (Furtula and Gutman, 2015).

RESULTS AND DISCUSSION

In this section, we calculate the Forgotten index of zero divisor graphs in MV-algebras. While doing these calculations, we use $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_n) \Leftrightarrow A \cong L_n$, where L_n is the MV-chain containing n elements. During this paper, A will be considered as an MV-algebra.

Theorem 2.1 If an MV-algebra A holds one of the below properties, then the Forgotten index of $\Gamma(A)$ equals zero.

- i. $\text{diam}(\Gamma(A)) = 0$,
- ii. $|A| = 3$,
- iii. $A \cong L_3$,
- iv. $\Gamma(A)$ is a null graph.

Proof We assume that $|A| = 3$. Then, we have $|V(\Gamma(A))| = 1$ from the definition of zero divisor graph of MV-algebra. Therefore, we obtain

$$FT(\Gamma(A)) = \sum_{u \in V(\Gamma(A))} d_u^3 = 0^3 = 0.$$

The other statement's proof is clear because of Theorem 1.8.

Theorem 2.2 If an MV-algebra A holds one of the following properties, then the Forgotten index of $\Gamma(A)$ equals 2.

- i. $\text{diam}(\Gamma(A)) = 1$,
- ii. $|A| = 4$,
- iii. $\Gamma(A) \cong K_2$,
- iv. $A \cong L_4$ or $A \cong B_4$ where B_4 is the 4-element Boolean algebra.

Proof We assume that $\Gamma(A) \cong K_2$. In this case, we have a graph such as figure 1.



Figure 1. Complete graph K_2

Then, the Forgotten index of this graph K_2 is

$$FT(\Gamma(A)) = \sum_{u \in V(K_2)} d_u^3 = d_{u_1}^3 + d_{u_2}^3 = 1^3 + 1^3 = 2.$$

All statements are equivalent to each other since Theorem 1.9.

Theorem 2.3 Let L_n be the n -element MV-chain such that $n \geq 5$. Then, Forgotten index of $\Gamma(L_n)$ is

$$FT(\Gamma(L_n)) = \begin{cases} \frac{(n-3)^2(2n-5)(n-1)}{8}, & n \text{ is odd} \\ \frac{(n-2)^2(2n^2-11n+16)}{8}, & n \text{ is even} \end{cases}. \quad (5)$$

Proof: Firstly, we prove that the degree of each vertex in $\Gamma(L_n)$. We have

$$L_n = \left\{ 0, \frac{1}{n-1}, \frac{2}{n-1}, \dots, \frac{n-2}{n-1}, 1 \right\} \text{ and } x \odot y = \frac{i}{n-1} \odot \frac{j}{n-1} = \max \left\{ 0, \frac{i+j}{n-1} - 1 \right\}$$

for any x and $y \in V(\Gamma(L_n))$ such that $x = \frac{i}{n-1}$, $y = \frac{j}{n-1}$, for $n \geq 5$.

We suppose that n is an odd integer number. For each $\frac{i}{n-1}$ vertex of $\Gamma(L_n)$ where $i > 0$ and $i \leq n - 2$ is adjacent to $\frac{j}{n-1}$ vertex where $i + j \leq n - 1$. So, the degree of vertex $\frac{i}{n-1}$ is $n - 2 - i$ where $i = 1, \dots, \frac{n-1}{2}$. On the other hand, the degree of vertex $\frac{i}{n-1}$ is $n - 1 - i$ where $i = \frac{n+1}{2}, \dots, n - 2$. So, we obtain Forgotten index of $\Gamma(L_n)$ is

$$\begin{aligned}
 FT(\Gamma(L_n)) &= \sum_{i=1}^{\frac{n-1}{2}} (n - 2 - i)^3 + \sum_{i=\frac{n+1}{2}}^{\frac{n-2}{2}} (n - 1 - i)^3 \\
 &= \frac{(n - 3)^2(2n - 5)(n - 1)}{8}.
 \end{aligned}$$

Now, we suppose that n is an even integer number. For each $\frac{i}{n-1}$ vertex of $\Gamma(L_n)$ where $i > 0$ and $i \leq n - 2$ is also adjacent to $\frac{j}{n-1}$ vertex where $i + j \leq n - 1$. Therefore, the degree of the vertex $\frac{i}{n-1}$ is $n - 2 - i$ where $i = 1, \dots, \frac{n}{2} - 1$. On the other hand, the degree of the vertex $\frac{i}{n-1}$ is $n - 1 - i$ where $i = \frac{n}{2}, \dots, n - 2$. So, we obtain

$$\begin{aligned}
 FT(\Gamma(L_n)) &= \sum_{i=1}^{\frac{n}{2}-1} (n - 2 - i)^3 + \sum_{i=\frac{n}{2}}^{n-2} (n - 1 - i)^3 \\
 &= \frac{(n - 2)^2(2n^2 - 11n + 16)}{8}.
 \end{aligned}$$

Example 2.4 The graphs $\Gamma(L_{14})$ and $\Gamma(L_{15})$ as follows:

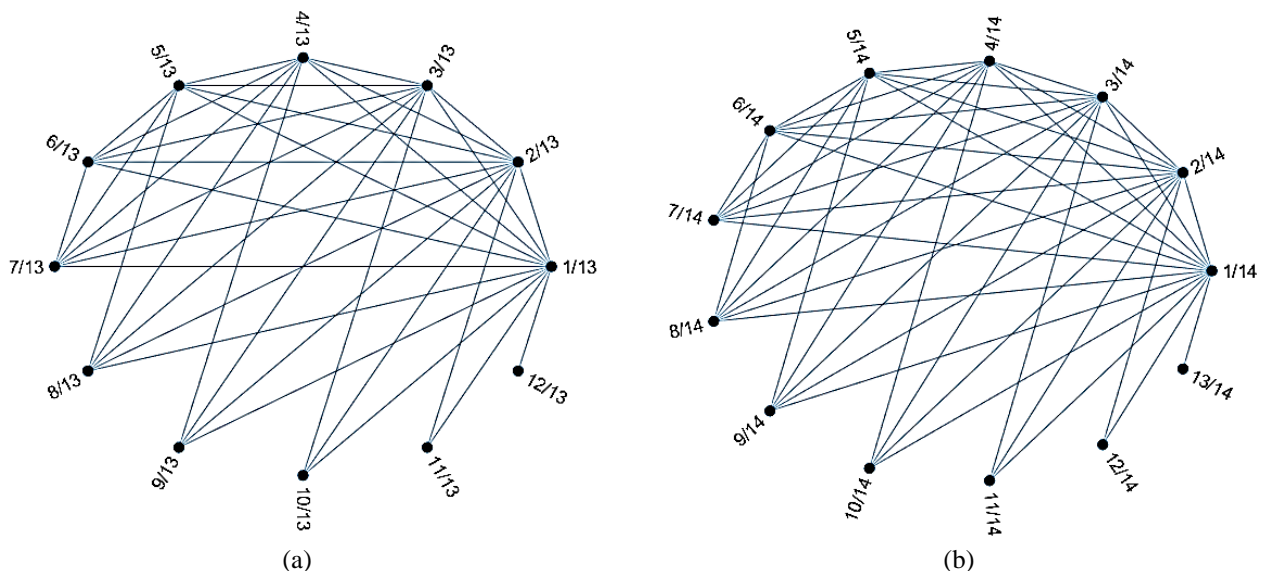


Figure 2. The graphs $\Gamma(L_{14})$ and $\Gamma(L_{15})$

The degrees of vertices of the graphs $\Gamma(L_{14})$ and $\Gamma(L_{15})$ are presented in Table 1 and Table 2.

Table 1. Vertices and their degrees of $\Gamma(L_{14})$.

Vertex	$\frac{1}{13}$	$\frac{2}{13}$	$\frac{3}{13}$	$\frac{4}{13}$	$\frac{5}{13}$	$\frac{6}{13}$	$\frac{7}{13}$	$\frac{8}{13}$	$\frac{9}{13}$	$\frac{10}{13}$	$\frac{11}{13}$	$\frac{12}{13}$
Degree	11	10	9	8	7	6	6	5	4	3	2	1

Table 2. Vertices and their degrees of $\Gamma(L_{15})$.

Vertex	$\frac{1}{14}$	$\frac{2}{14}$	$\frac{3}{14}$	$\frac{4}{14}$	$\frac{5}{14}$	$\frac{6}{14}$	$\frac{7}{14}$	$\frac{8}{14}$	$\frac{9}{14}$	$\frac{10}{14}$	$\frac{11}{14}$	$\frac{12}{14}$	$\frac{13}{14}$
Degree	12	11	10	9	8	7	6	6	5	4	3	2	1

And using the above tables, one can conclude the Forgotten index of these graphs as follows:

$$FT(\Gamma(L_{14})) = \sum_{u \in \Gamma(L_{14})} d_u^3 = \frac{(14 - 2)^2(2 \cdot 14^2 - 11 \cdot 14 + 16)}{8} = 4572$$

$$FT(\Gamma(L_{15})) = \sum_{u \in \Gamma(L_{15})} d_u^3 = \frac{(15 - 3)^2(2 \cdot 15 - 5)(15 - 1)}{8} = 6300$$

Theorem 2.5 Suppose that A is an MV-algebra and $|A| = n \neq 4$ and $n \in \mathbb{Z}$. If $A \cong L_n$ then $FT(\Gamma(A)) = FT(\Gamma(L_n))$.

Proof We assume that $A \cong L_n$ and $|A| = n \neq 4$.where $L_n = \{0, \frac{1}{n-1}, \frac{2}{n-1}, \dots, \frac{n-2}{n-1}, 1\}$ and $A = \{0, a_1, a_2, \dots, a_{n-2}, 1\}$. Since the function $f = 0 \mapsto 0, \dots, a_i \mapsto \frac{i}{n-1}, \dots, 1 \mapsto 1$ where $i = 1, \dots, n - 2$ is an isomorphism from L_n to A . If $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_n)$, then we have a bijection from $V(\Gamma(A))$ to $V(\Gamma(L_n))$. So that, for any $a_i, a_j \in V(\Gamma(A))$, if there exists an edge between vertices a_i and a_j , then there must be an edge between vertices $f(a_i)$ and $f(a_j)$ where $f(a_i), f(a_j) \in \Gamma(L_n)$.

If $n = 2$ or $n = 3$, then $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_n)$, obviously.

We suppose that $n \geq 5$ and $a_i, a_j \in V(\Gamma(A))$. For $f(a_i), f(a_j) \in \Gamma(L_n)$, we have $f(a_i) \odot f(a_j) = \frac{i}{n-1} \odot \frac{j}{n-1}$ and from the definition of L_n we obtain $\max\{0, \frac{i+j}{n-1} - 1\} = \max\{0, \frac{i+j-n+1}{n-1}\}$. Now, let $\frac{i+j-n+1}{n-1} > 0$, then $i + j - n + 1 > 0$ and we attain $j > n - i - 1$. This is contradiction. Therefore, $i + j - n + 1 \leq 0$ and $\max\{0, \frac{i+j-n+1}{n-1}\} = 0$. So, we have an edge between vertices $f(a_i)$ and $f(a_j)$, and $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_n)$.

Since we have $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_n)$, then $deg(\Gamma(A)) = deg(\Gamma(L_n))$. Therefore,

$$FT(\Gamma(A)) = \sum_{a_i \in V(\Gamma(A))} d_{a_i}^3 = \sum_{f(a_i) \in V(\Gamma(L_n))} d_{f(a_i)}^3 = FT(\Gamma(L_n)).$$

Theorem 2.6 Assume that A is an MV-algebra and $|A| = 5$. Then the Forgotten index of $\Gamma(A)$ is $FT(\Gamma(A)) = 10$.

Proof If $|A| = 5$, then $A \cong L_5$ and $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_5)$ from Corollary 1.12. For $n = 5$, $deg(\Gamma(L_5)) = \{1,1,2\}$. Therefore, we obtain

$$FT(\Gamma(L_5)) = \sum_{u \in \Gamma(L_5)} d_u^3 = \frac{(n - 3)^2(2n - 5)(n - 1)}{8} = 10$$

for $n = 5$.

Theorem 2.7 Assume that A is an MV-algebra and $|A| = 6$. Then the Forgotten index of $\Gamma(A)$ is $FT(\Gamma(A)) = 44$ or $FT(\Gamma(A)) = 18$.

Proof If $|A| = 6$, then we get $A \cong L_6$ or $A \cong L_2 \times L_3$ and $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_6)$ or $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_2 \times L_3)$ from Theorem 1.13. For $n = 6$, $deg(\Gamma(L_6)) = \{1, 2, 2, 3\}$. Therefore, we obtain

$$FT(\Gamma(L_6)) = \sum_{u \in \Gamma(L_6)} d_u^3 = \frac{(n-2)^2(2n^2 - 11n + 16)}{8} = 44$$

for $n = 6$.

On the other hand, $deg(\Gamma(L_2 \times L_3)) = \{1, 1, 2, 2\}$. Therefore, we obtain

$$FT(\Gamma(L_2 \times L_3)) = 1^3 + 1^3 + 2^3 + 2^3 = 18.$$

Theorem 2.8 Assume that A is an MV-algebra and $|A| = 7$. Then the Forgotten index of $\Gamma(A)$ is $FT(\Gamma(A)) = 10$.

Proof If $|A| = 7$, then $A \cong L_7$ and $\Gamma(A) \cong \Gamma(L_7)$. For $n = 7$, $deg(\Gamma(L_7)) = \{1, 1, 2\}$. Therefore, we obtain

$$FT(\Gamma(L_7)) = \sum_{u \in \Gamma(L_7)} d_u^3 = \frac{(n-3)^2(2n-5)(n-1)}{8} = 108$$

for $n = 7$.

Theorem 2.9 Assume that A is an MV-algebra and $|A| = 8$. Then, the Forgotten index of $\Gamma(A)$ can only be equal to one of the followings:

- $FT(\Gamma(A)) = 252$
- $FT(\Gamma(A)) = 128$
- $FT(\Gamma(A)) = 84$

Proof When enumerating all 8-element MV-algebras, we get 22 different samples in three cases (Fig.3, Fig.5, and Fig.7).

Case 1: In this case, we have 6 different samples for MV-algebra with 8-element.

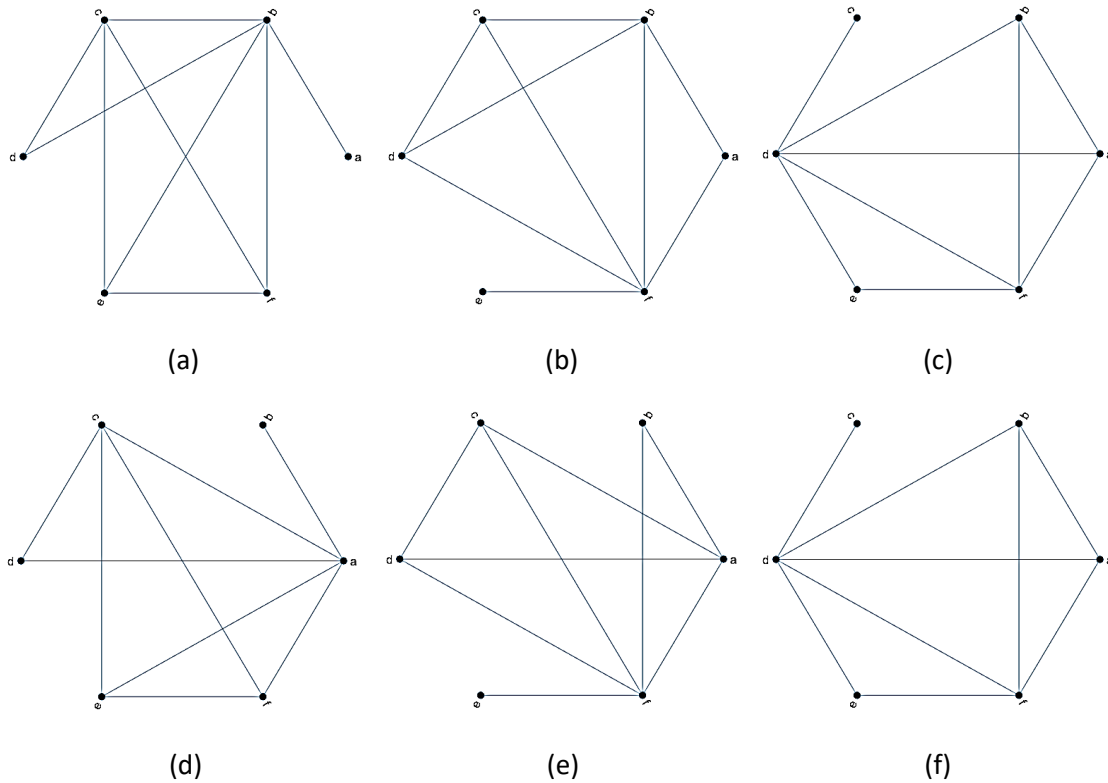


Figure 3. MV-algebras with 8-element in case 1

Also, zero divisor graphs $\Gamma(A)$ in Fig.3.a-f are isomorphic to $\Gamma(L_8)$ in Fig.4. Therefore, $FT(\Gamma(A)) = FT(\Gamma(L_8))$ and

$$FT(\Gamma(L_8)) = \sum_{u \in \Gamma(L_8)} d_u^3 = 252.$$

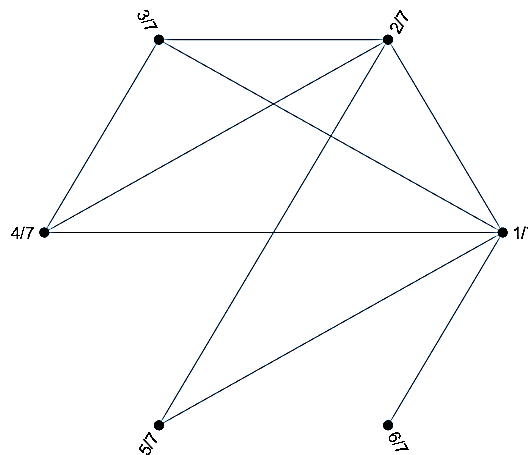


Figure 4. $\Gamma(L_8)$.

Case 2: In this case, we have 12 different samples for MV-algebra with 8-element.

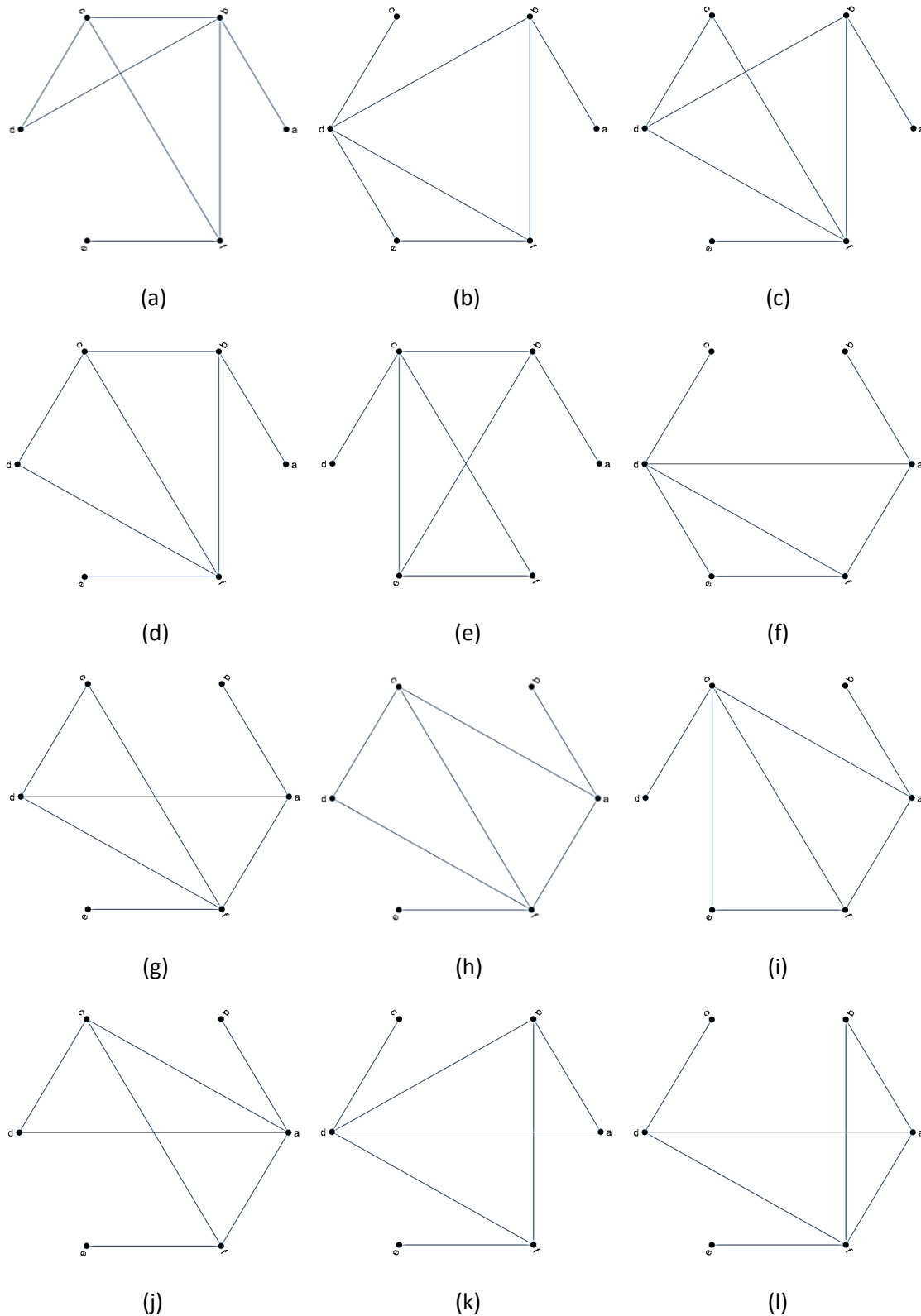


Figure 5. MV-algebras with 8-element in case 2

In addition, zero divisor graphs $\Gamma(A)$ in Fig.5.a-l are isomorphic to $\Gamma(L_2 \times L_4)$ in Fig.6. Therefore, $FT(\Gamma(A)) = FT(\Gamma(L_2 \times L_4))$ and

$$FT(\Gamma(L_2 \times L_4)) = \sum_{u \in \Gamma(L_2 \times L_4)} d_u^3 = 128.$$

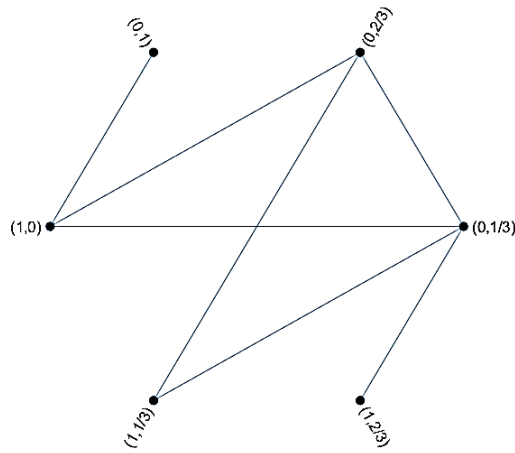


Figure 6. $\Gamma(L_2 \times L_4)$

Case 3: In the final case, we have the remaining 4 different samples for MV-algebra with 8-element.

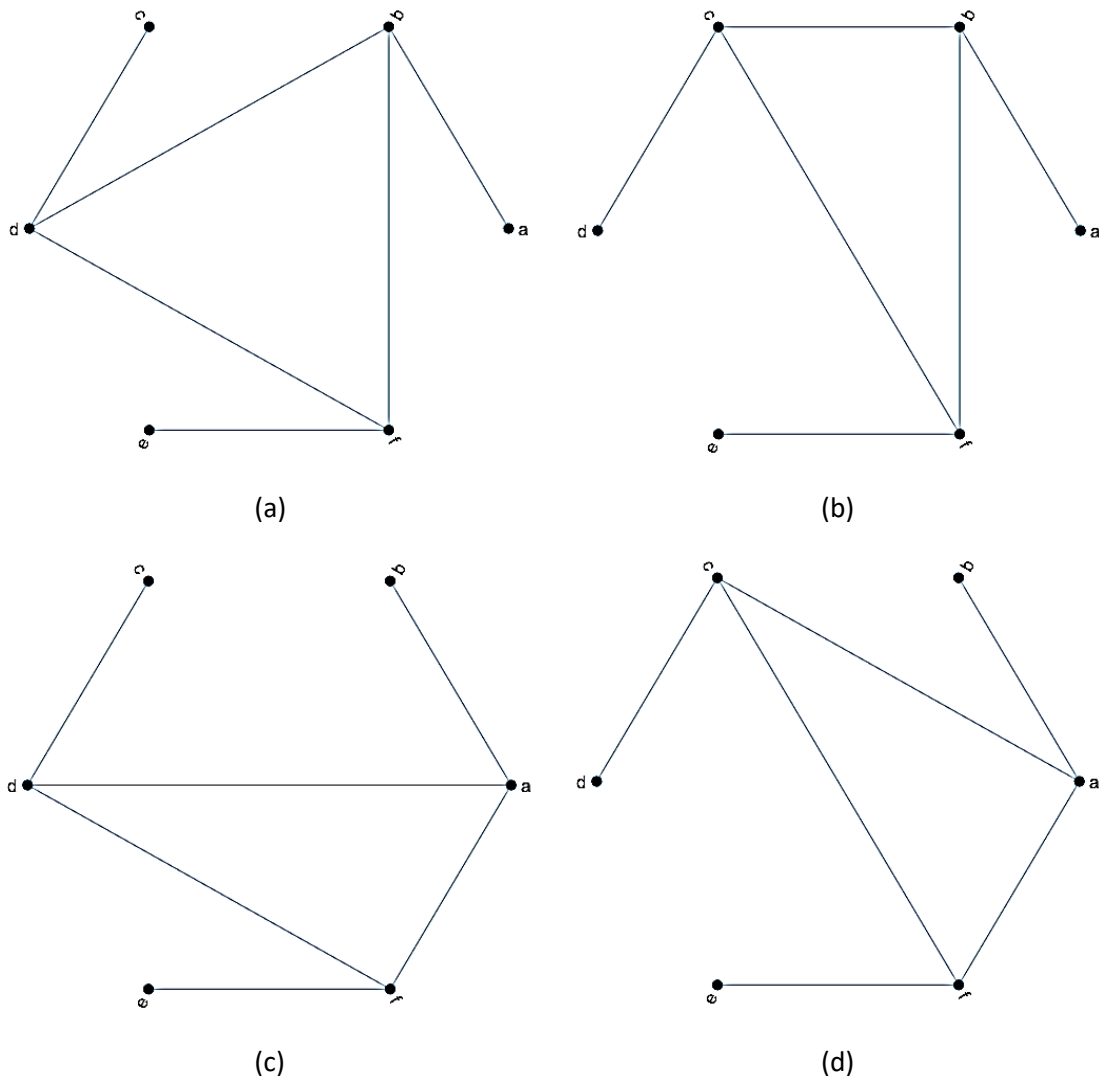


Figure 7. MV-algebras with 8-element in case 3

Besides, zero divisor graphs $\Gamma(A)$ in Fig.7.a-d are isomorphic to $\Gamma(L_2 \times L_2 \times L_2)$ in Fig.8. Therefore, $FT(\Gamma(A)) = FT(\Gamma(L_2 \times L_2 \times L_2))$ and

$$FT(\Gamma(L_2 \times L_2 \times L_2)) = \sum_{u \in \Gamma(L_2 \times L_2 \times L_2)} d_u^3 = 84.$$

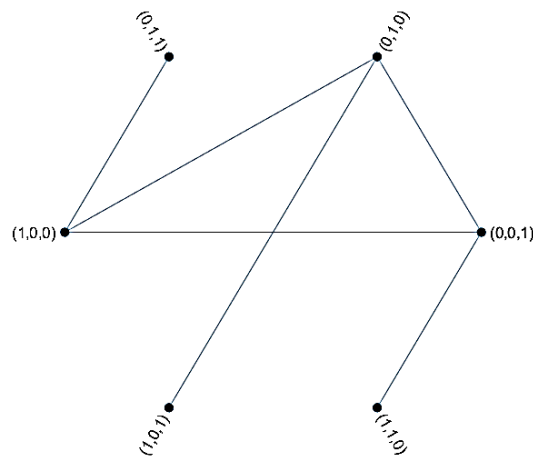


Figure 8. $\Gamma(L_2 \times L_2 \times L_2)$

CONCLUSION

Topological indices, which are also known as molecular structure descriptors, are numerical values in graphs, and they are multidisciplinary research topics that can be concerned with the chemical constitution for correlation of chemical structure with various physical characteristics, biological activity, or chemical reactivity. The forgotten index is a degree-based topological index and is described as the sum of cubes of the degrees of each vertex in a graph. In this study, it is investigated the Forgotten topological index for zero divisor graphs of MV-algebras having a cardinality of less than 5. Also, the Forgotten topological index for zero divisor graph of L_n where $n > 5$ using isomorphism between L_n and n -element MV-chain is concluded. Moreover, the Forgotten index of zero divisor graph for MV-algebras which have cardinality 5, 6, 7, and 8 is examined.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank the anonymous reviewers for their valuable comments and helpful suggestions which helped to improve the presentation of this paper.

REFERENCES

- Aijaz M, Pirzada S, 2020. Annihilating-ideal graphs of commutative rings, Asian-Eur. J. Math. 13(1), 1-12.
- Akbari S, Kiani D, Mohammadi F, Moradi S, 2009. The total graph and regular graph of a commutative ring, J. Pure Appl. Algebra 213, 2224-2228.
- Anderson DF, Livingston PS, 1999. The zero-divisor graph of a commutative ring, J Algebra 217, 434-447.
- Anderson DF, Badawi A, 2008. Total graph of a commutative ring, J. Algebra 320, 2706-2719.
- Ansari MA, Haidar A, Koam AN, 2018. On a graph associated to up-algebras. Mathematical and Computational Applications 23(4), 61.
- Asir T, Rabikka V, 2021. The Wiener index of the zero-divisor graph of Z_n , Discrete Appl. Math., 1-11.

- Beck I, 1988. Coloring of commutative rings, *J Algebra* 116(1), 208-226.
- Chang CC, 1958. Algebraic analysis of many valued logics. *Transactions of the American Mathematical society*, 88(2), 467-490.
- Chartrand G, Lesniak L, Zhang P, 2016. *Graphs & digraphs*, sixth edition. Textbooks in mathematics. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Cignoli RL, d'Ottaviano IM, Mundici D, 2013. *Algebraic foundations of many-valued reasoning* (Vol. 7). Springer Science & Business Media.
- Das K, Cevik AS, Cangul IN, Shang Y, 2021. On Sombor Index, *Symmetry* 13(1), 1-12.
- Furtula B, Gutman I, 2015. A forgotten topological index. *J. Math. Chem.* 53 (4), 1184–1190.
- Gan A, Yang Y, 2020a. The zero-divisor graphs of mv-algebras. *Soft Computing* 24(8), 6059-6068.
- Gan A, Yang Y, 2020b. Annihilator graphs of mv-algebras. *Journal of Algebra and its Applications* p. 1-18.
- Ghanbari N, Alikhani S, 2021. Sombor index of certain graphs, arXiv preprint.
- Gutman I, 2021a. Geometric approach to degree-based topological indices: Sombor indices, *MATCH Commun. Math. Comput. Chem.* 86, 11-16.
- Gutman I, 2021b. Some basic properties of Sombor indices, *Open J. Discrete Appl. Math.* 4(1), 1-3.
- Harary F, 1999. *Graph Theory*. Reading, MA: Perseus Books.
- Mundici D, 2007. MV-algebras. URL https://www.matematica.uns.edu.ar/IXCongresoMonteiro/Comunicaciones/Mundici_tutorial.pdf
- Reti T, Doslic T, Ali A, 2021. On the Sombor index of graphs, *Contrib. Math.* 3, 11-18.
- Salehifar S, Khashyarmanesh K, Afkhami M, 2017. On the annihilator-ideal graph of commutative rings, *Ricerche mat.*66, 431-447.
- Shaveisi F, 2016. Some Results on Annihilating-ideal Graphs, *Canad. Math. Bull.* 59(3), 641-651.
- Singh P, Bhat VK, 2020. Adjacency matrix and Wiener index of zero divisor graph $\Gamma(Z_n)$, *J. Appl. Math. Comput.*, 1-16.
- Sinha D, Rao AK, 2018. A note on co-maximal graphs of commutative, *AKCE Int. J. Graphs Comb.* 15(1), 112-114.
- Tehrani A, Maimani HR, 2011. A Study of the Total Graph, *Iran. J. Math. Sci. Inform.* 6(2), 75-80.
- Wang HJ, 2008. Graphs associated to co-maximal ideals of commutative rings, *J. Algebra* 320, 2917-2933.
- Ye M, Wu T, 2012. Co-maximal ideal graphs of commutative rings, *J. Algebra Appl.* 11(6), 1-14.
- Zhou T, Lin Z, Miao L, 2021. The Sombor index of trees and unicyclic graphs with given matching number, preprint.

To Cite: Kırıcı Ö, Aktürk T, Bulut H, 2021. Simulation of Wave Solutions of a Mathematical Model Representing Communication Signals, Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3086-3097.

Simulation of Wave Solutions of a Mathematical Model Representing Communication Signals

Özlem KIRCI^{1*}, Tolga AKTÜRK², Hasan BULUT³

ABSTRACT: In this study, the Lonngren-wave equation is considered to be analyzed for its wave solutions. To implement this purpose the modified exponential function method is used and ultimately new hyperbolic, trigonometric and rational forms of the exact solutions are obtained. Furthermore, it was tested whether these forms satisfy the Lonngren-wave equation or not and it was seen that they verify the equation. Besides this, the two and three dimensional graphics together with the contour and density plots are presented.

Keywords: Lonngren-wave equation, the modified exponential function method, exact wave solutions, nonlinear partial differential equation, the hyperbolic, trigonometric and rational functions

¹ Özlem KIRCI ([Orcid ID: 0000-0003-2986-952X](https://orcid.org/0000-0003-2986-952X)), Kırklareli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Matematik Bölümü, Kırklareli, Türkiye

² Tolga AKTÜRK ([Orcid ID: 0000-0002-8873-0424](https://orcid.org/0000-0002-8873-0424)), Ordu Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Ordu, Türkiye

³Hasan BULUT ([Orcid ID:0000-0002-6089-1517](https://orcid.org/0000-0002-6089-1517)), Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, Elazığ, Türkiye

*Corresponding Author: Özlem KIRCI, e-mail: ozlem.isik@klu.edu.tr

INTRODUCTION

The nonlinear partial differential equations (NLPDEs) interest a wide range of applied scientists due to their potential of being extensively arisen in all the fields of engineering and science. Thus various powerful and effective methods are implemented for the exact solutions of the evolution equations owing to their importance in nonlinear science and their broad usage area. The solutions obtained as a result of applying these techniques allow commenting on the behavior of mathematical models. Some of them are the (G'/G) -expansion technique and its modifications (Wang et al., 2008; Naher, 2012; Naher and Abdullah, 2013; Akbar et al., 2016; Duran, 2020; Duran, 2021), the $(1/G')$ -expansion method (Duran, 2021), sine-Gordon expansion method and $(m + G'/G)$ -expansion method (Ismael et al., 2020), the improved Bernoulli sub-equation function method (Bulut et al., 2016; Duran et al., 2021), the Riccati-Bernoulli sub-ODE method (Yang et al., 2015), the $\exp(-\phi(\xi))$ -expansion method and its improved forms (Misirli and Gurefe, 2011; Arshed et al., 2019; Chen et al., 2019; Yel et al., 2019; Baskonus, 2021; Duran, 2021), the generalized Kudryashov method (Demiray et al., 2015; Mahmud et al., 2017; Rahman et al., 2019), the new function method (Aktürk et al., 2017), the Hirota's bilinear transformation (Hietarinta, 2005), the Backlund transformation method (Hirota and Satsuma, 1977; Lu et al., 2006), rational sine-cosine method (Marwan et al. 2011; Qawasmeh and Alquran, 2014) the tanh method and its various extension (Fan, 2000; Elwakil et al., 2005; Yang and Hon, 2006), the tanh-coth expansion method (Wazwaz, 2007a, 2007b; Parkes, 2010), the homotopy perturbation method (He, 2006a, 2006b, 2008; Biazar et al., 2009), the simplified Hirota's method (Wazwaz, 2016), the extended sinh-Gordon equation expansion method (Kumar et al., 2018; Gao et al., 2019), Lie transformation method and singular manifold method (Saleh et al., 2021), the power index method (Shrauner, 2019), ϕ^6 -model expansion method (Seadawy et al., 2021), the truncated Painleve expansion (Radha et al., 2007), the Jacobi elliptic-function method (Parkes et al., 2002), etc.

In this study the Lonngren wave Equation (1), which is one of the NLPDEs, is considered and the new forms of the exact solutions are obtained by modified exponential function method (MEFM).

$$(u_{xx} - \alpha u + \beta u^2)_{tt} + u_{xx} = 0. \quad (1)$$

The Lonngren wave equation is used in the field of telecommunication and network engineering. For this equation, Akcagil and Aydemir have presented (G'/G) -expansion method, the modified extended tanh method and the unified method to reveal the new exact solutions (Akcagil and Aydemir, 2016; Akcagil and Aydemir, 2018). Kayum et al. have investigated the soliton solutions through the modified simple equation method (Kayum et al., 2020). Then it comes out that the Lonngren-wave equation is not taken into consideration by the modified exponential function method. In the light of those papers, the aim of this study is to present the new form of solutions to this equation. The flow of the manuscript is as follows: The materials and methods section includes the description of the MEFM and the application of the method for the Lonngren-wave equation, in results and discussion section the graphical results are given, finally it is ended with the conclusion part.

MATERIALS AND METHODS

Methodology

In this section, the application of the modified exponential function method to a NLPDE will be described. According to the method, the general form of a nonlinear evolution equation is written as follows;

$$P(U, U_x, U_t, U_{xx}, U_{xt}, U_{tt}, U_{xxtt}, \dots) = 0, \quad (2)$$

where P is a function of $U = U(x, t)$ and its partial derivatives in which the highest order derivatives and nonlinear terms are involved.

Step1: In order to obtain the solution functions of a NLPDE, the equation must be reduced into a nonlinear ordinary differential equation (NLODE) module. Therefore according to the method the wave transformation given below can be used for equation (1)

$$U(x, t) = U(\xi), \xi = k(x - ct), \tag{3}$$

where k represents the wave height and c represents the wave frequency. The derivative terms required in equation (1) are obtained using the wave transformation (3) above. These terms are then substituted in equation (1) and as a result (1) reduced to a NLODE whose general form can be given as in the following,

$$N(U, U^2, U', U'', \dots) = 0. \tag{4}$$

Step2: According to the method the solution of Equation (1) is

$$U(\xi) = \frac{\sum_{i=0}^n A_i [\exp(-\Omega(\xi))]^i}{\sum_{j=0}^m B_j [\exp(-\Omega(\xi))]^j} = \frac{A_0 + A_1 \exp(-\Omega(\xi)) + \dots + A_n \exp(-n\Omega(\xi))}{B_0 + B_1 \exp(-\Omega(\xi)) + \dots + B_m \exp(-m\Omega(\xi))} \tag{5}$$

where $A_i, B_j, (0 \leq i \leq n, 0 \leq j \leq m)$ are constants to be determined.

In order to state equation (5) clearly, it is necessary to determine the upper limits of the summation symbols, the omega function and the coefficients, respectively. The balancing principle is used in the process of determining the upper limits, namely m and n . For this, a relation is obtained between m and n by balancing the term containing the highest order derivative and the highest order nonlinear term in equation (4). Then, the upper limits of the summation symbols are determined by giving values to the parameters so that they can provide the correlation. The expansion of the sums in (5) are provided up to the upper limit values after determination of m and n . After explicitly expressing $U(\xi)$ in (5), the derivative terms required in Equation (4) are obtained from here. Substituting (5) together with the required derivatives into (4) creates the need of the omega function and its first order derivative. Therefore it is utilized from the following ordinary differential equation whose solution is $\Omega(\xi)$.

$$\Omega'(\xi) = \exp(-\Omega(\xi)) + \mu \exp(\Omega(\xi)) + \lambda. \tag{6}$$

Step3: The substitution of (5) into (4), taking into consideration (6), results in a system of algebraic equation. From this system the coefficients are determined using the package program. By writing the obtained coefficients in equation (4), the solution functions are investigated according to the following family states (Bulut and Baskonus, 2016).

Family1: When $\mu \neq 0, \lambda^2 - 4\mu > 0,$

$$\Omega(\xi) = \ln \left(\frac{-\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}}{2\mu} \tanh \left(\frac{\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}}{2} (\xi + E) \right) - \frac{\lambda}{2\mu} \right). \tag{7}$$

Family2: When $\mu \neq 0, \lambda^2 - 4\mu < 0,$

$$\Omega(\xi) = \ln \left(\frac{\sqrt{-\lambda^2 + 4\mu}}{2\mu} \tan \left(\frac{\sqrt{-\lambda^2 + 4\mu}}{2} (\xi + E) \right) - \frac{\lambda}{2\mu} \right). \tag{8}$$

Family3: When $\mu = 0, \lambda \neq 0$ and $\lambda^2 - 4\mu > 0,$

$$\Omega(\xi) = -\ln \left(\frac{\lambda}{\exp(\lambda(\xi + E)) - 1} \right). \tag{9}$$

Family4: When $\mu \neq 0, \lambda \neq 0$ and $\lambda^2 - 4\mu = 0,$

$$\Omega(\xi) = \ln \left(-\frac{2\lambda(\xi + E) + 4}{\lambda^2(\xi + E)} \right). \tag{10}$$

Family5: When $\mu = 0, \lambda = 0$ and $\lambda^2 - 4\mu = 0,$

$$\Omega(\xi) = \ln(\xi + E), \tag{11}$$

where $A_0, A_1, \dots, A_n, B_0, B_1, \dots, B_m, E, \lambda, \mu$ are constants.

Application of MEFM to Lonngren-wave equation

If the wave transformation (3) is applied to the equation (1), the following NLODE model is obtained,

$$c^2 k^2 U'' + (1 - \alpha c^2)U + \beta c^2 U^2 + R = 0, \tag{12}$$

where R is the integral constant. Balancing the terms including the highest order derivative U'' and the highest power nonlinear term U^2 in (12) results in the following equation

$$n = m + 2. \tag{13}$$

According to this equation for the values $m = 1, n = 3$, the solution function and the derivatives sought for equation (12) are as follows;

$$U(\xi) = \frac{\psi}{\varphi} = \frac{A_0 + A_1 e^{-\Omega(\xi)} + A_2 e^{-2\Omega(\xi)} + A_3 e^{-3\Omega(\xi)}}{B_0 + B_1 e^{-\Omega(\xi)}}, U'(\xi) = \frac{\psi' \varphi - \psi \varphi'}{\varphi^2},$$

$$U''(\xi) = \frac{\psi'' \varphi^3 - \varphi^2 \psi' \varphi' - (\psi \varphi'' + \psi' \varphi') \varphi^2 + 2(\psi')^2 \psi \varphi}{\varphi^4}. \tag{14}$$

If the derivative concepts obtained above are written into equation (4), the following coefficient states and the solution functions depending on them are obtained.

Case1:

$$A_0 = \frac{(1 + c^2(-\alpha + k^2(\lambda^2 + 8\mu)))A_2 B_0}{12c^2 k^2 (B_0 + \lambda B_1)}, A_1 = \frac{A_2 (B_1 + c^2(12k^2 \lambda B_0 + (-\alpha + k^2(\lambda^2 + 8\mu))B_1))}{12c^2 k^2 (B_0 + \lambda B_1)},$$

$$A_3 = \frac{A_2 B_1}{B_0 + \lambda B_1}, \beta = -\frac{6k^2 (B_0 + \lambda B_1)}{A_2}, R = \frac{(-1 + 2c^2 \alpha + c^4(-\alpha^2 + k^4(\lambda^2 - 4\mu)^2))A_2}{24c^2 k^2 (B_0 + \lambda B_1)}. \tag{15}$$

The coefficients obtained by solving the algebraic equation system, are written in (5) and the solution function of equation (1) is analyzed according to the families as mentioned in step3. Graphical results that belong to the solution forms of (1) according to case1 are presented.

Family1:

$$U_{1,1}(\xi) = \frac{\text{Sech}[\vartheta]^2 (2(1 - c^2(\alpha + 5k^2(\lambda^2 - 4\mu)))\mu + (1 - c^2(\alpha - k^2(\lambda^2 - 4\mu)))(\lambda^2 - 2\mu)\text{Cosh}[2\vartheta] + \lambda\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\text{Sinh}[2\vartheta])A_2}{12c^2 k^2 (B_0 + \lambda B_1) (\lambda + \sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\text{Tanh}[\vartheta])^2},$$

where $\vartheta = \frac{1}{2}\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}(E + \xi)$, (Figure1).

Family2:

$$U_{1,2}(\xi) = \frac{\text{Sec}[\psi]^2 (2(1 - c^2(\alpha + 5k^2(\lambda^2 - 4\mu)))\mu + (1 - c^2(\alpha - k^2(\lambda^2 - 4\mu)))(\lambda^2 - 2\mu)\text{Cosh}[\psi] - \lambda\sqrt{-\lambda^2 + 4\mu}\text{Sinh}[2\psi])A_2}{12c^2 k^2 (B_0 + \lambda B_1) (\lambda - \sqrt{-\lambda^2 + 4\mu}\text{Tan}[\psi])^2},$$

where $\psi = \frac{1}{2}(E + \xi)\sqrt{-\lambda^2 + 4\mu}$, (Figure2).

Family3:

$$U_{1,3}(\xi) = \frac{e^{(E+\xi)\lambda}(-1 + c^2(\alpha + 5k^2\lambda^2) + (1 + c^2(-\alpha + k^2\lambda^2))\text{Cosh}[(E + \xi)\lambda])A_2}{6c^2(-1 + e^{(E+\xi)\lambda})^2 k^2 (B_0 + \lambda B_1)}.$$

(Figure3).

Family 4:

$$U_{1,4}(\xi) = \frac{-(((-\theta^2 + c^2(\alpha\theta^2 + 2k^2(\lambda^2(-2 + \phi(\theta + 2)) - 4\theta^2\mu)))A_2)}{12c^2 k^2 \theta^2 (B_0 + \lambda B_1)},$$

where $\phi = E\lambda + \xi\lambda, \theta = 2 + \phi$, (Figure4).

Family5:

$$U_{1,5}(\xi) = \frac{\left(\frac{12}{(E + \xi)^2} + \frac{1}{c^2} - \alpha \right) A_2}{12B_0}.$$

(Figure5).

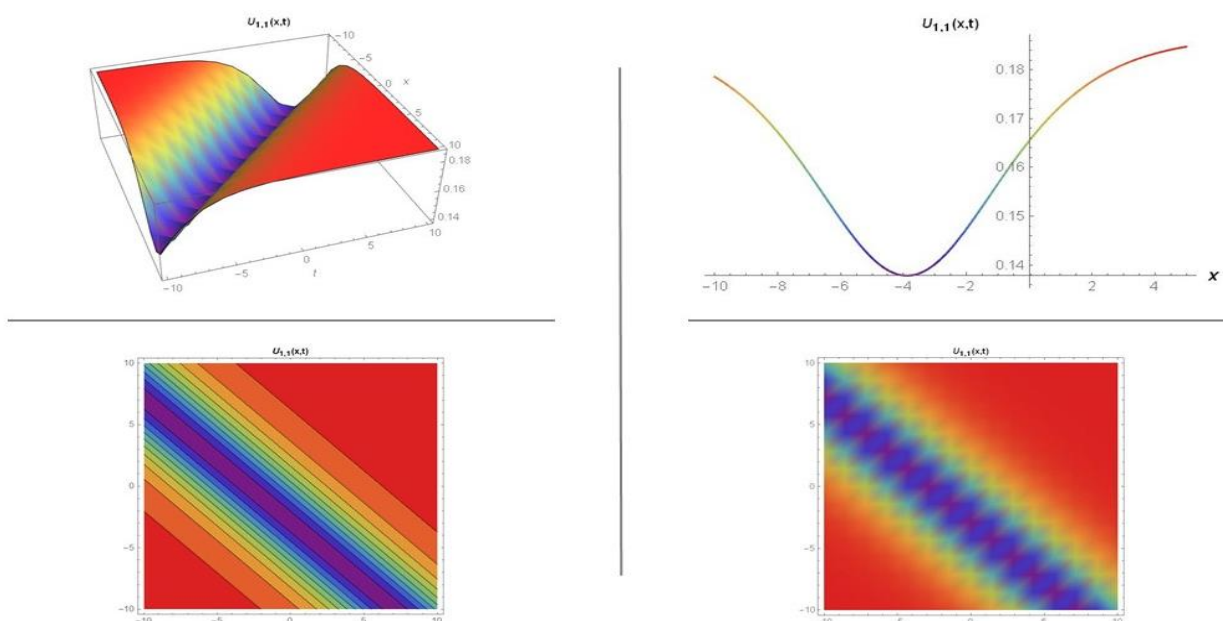


Figure 1. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{1,1}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 2, \lambda = 3, \mu = 2, A_2 = 1.25, B_0 = 0.35, \alpha = -1.6, A_0 = 0.203248, A_1 = 1.36811, A_3 = 0.393701, \beta = -7.62, R = -0.219734, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

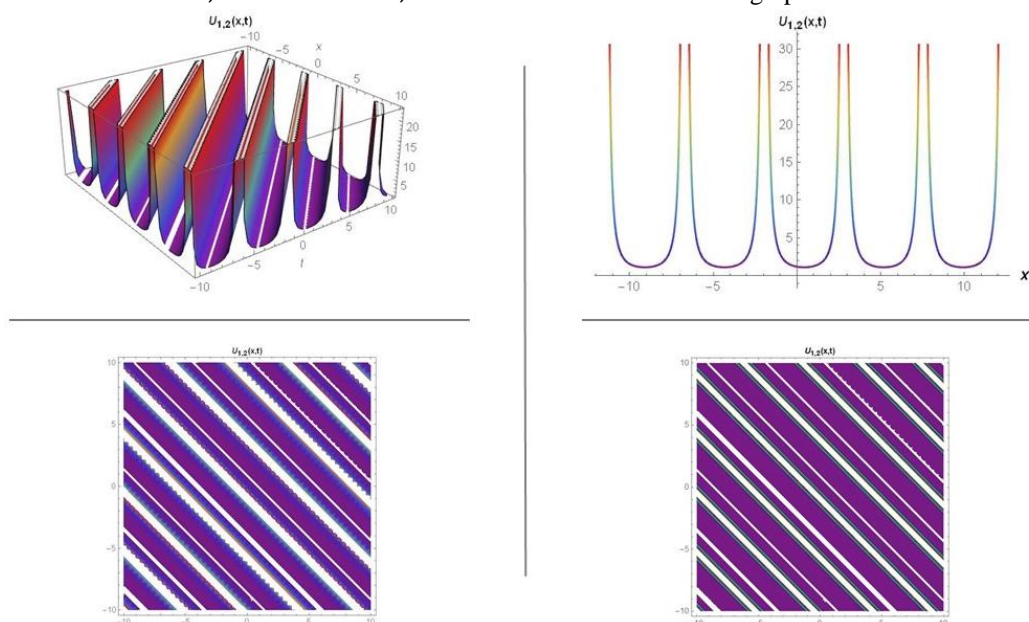


Figure 2. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{1,2}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 2, \lambda = 1, \mu = 2, A_2 = 1.25, B_0 = 0.35, \alpha = -1.6, A_0 = 0.42089, A_1 = 2.61525, A_3 = 1.06383, \beta = -2.82, R = -0.327793, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

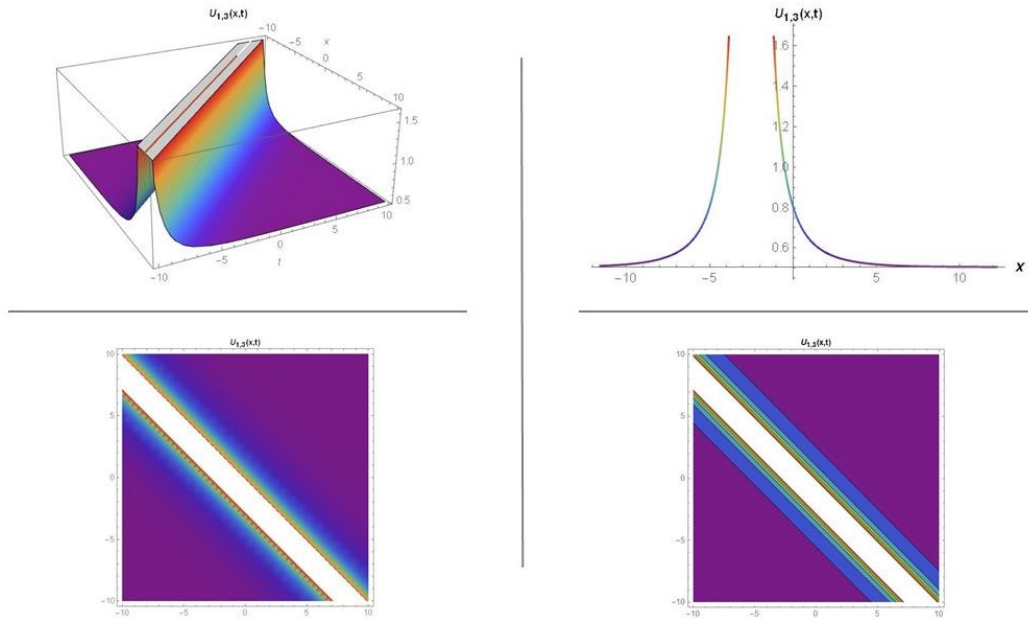


Figure 3. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{1,3}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 2, \lambda = 1, \mu = 0, A_2 = 1.25, B_0 = 0.35, \alpha = -1.6, A_0 = 0.176862, A_1 = 1.19681, A_3 = 1.06383, \beta = -2.82, R = -0.59375, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

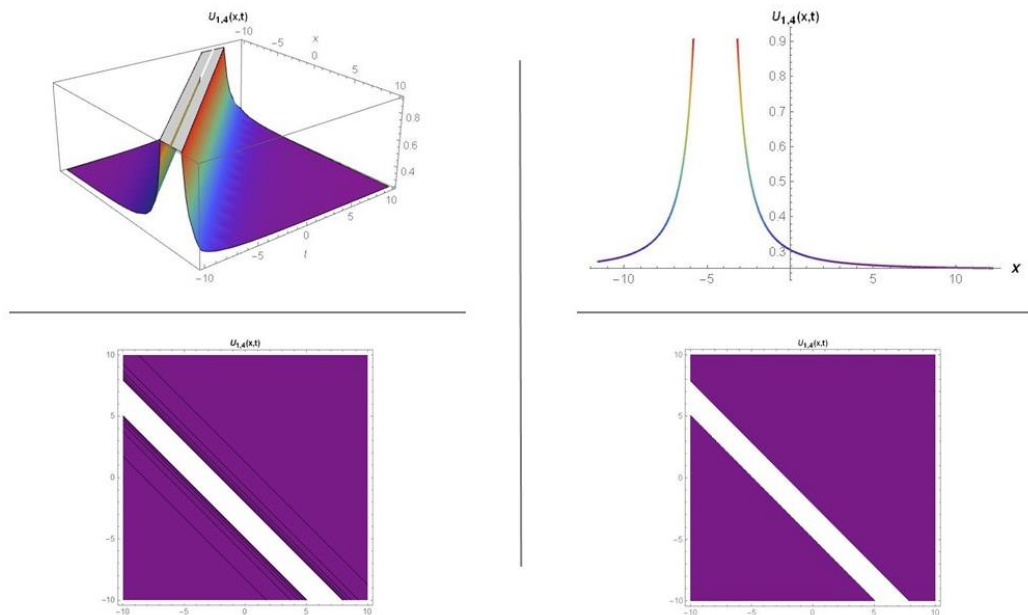


Figure 4. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{1,4}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 2, \lambda = 2, \mu = 1, A_2 = 1.25, B_0 = 0.35, \alpha = -1.6, A_0 = 0.187739, A_1 = 1.27395, A_3 = 0.574713, \beta = -5.22, R = -0.323755, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

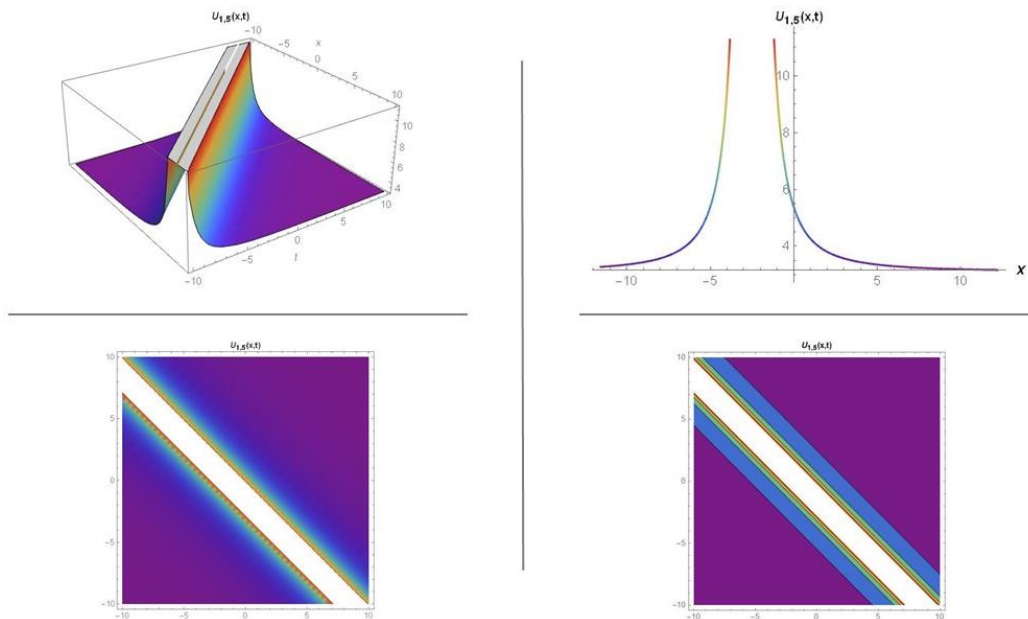


Figure 5. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{1,5}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 2, \lambda = 0, \mu = 0, A_2 = 1.25, B_0 = 0.35, \alpha = -1.6, A_0 = 1.08333, A_1 = 6.19048, A_3 = 7.14286, \beta = -0.42, R = -4.02381, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

Another group of coefficient called as case2 is presented below.

Case2:

$$A_0 = \frac{(\sqrt{4R\beta + c^2k^4(\lambda^2 - 4\mu)^2} - ck^2(\lambda^2 + 8\mu))B_0}{2c\beta}, A_1 = \frac{(-\sqrt{4R\beta + c^2k^4(\lambda^2 - 4\mu)^2} + ck^2(\lambda^2 + 8\mu))A_3}{12ck^2} - \frac{6k^2\lambda B_0}{\beta}$$

$$A_2 = \lambda A_3 - \frac{6k^2B_0}{\beta}, B_1 = -\frac{\beta A_3}{6k^2}, \alpha = \frac{1 + c\sqrt{4R\beta + c^2k^4(\lambda^2 - 4\mu)^2}}{c^2}.$$

Now the wave solutions of equation (1) are investigated according to case2 which is a result of the algebraic equation system emerged from MEFM.

Family1:

$U_{2,1}(\xi)$

$$= \frac{\text{Sech}[\vartheta]^2(2(\eta + 5ck^2(\lambda^2 - 4\mu))\mu + (\eta - ck^2(\lambda^2 - 4\mu))((\lambda^2 - 2\mu)\text{Cosh}[2\vartheta] + \lambda\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\text{Sinh}[2\vartheta]))}{2c\beta(\lambda + \sqrt{\lambda^2 - 4\mu}\text{Tanh}[\vartheta])^2},$$

where $\vartheta = \frac{1}{2}\sqrt{\lambda^2 - 4\mu}(E + \xi), \eta = \sqrt{4R\beta + c^2k^4(\lambda^2 - 4\mu)^2}$, (Figure6).

Family2:

$$U_{2,2}(\xi) = \frac{\text{Sec}[\psi]^2(2(\eta - 5ck^2\sigma^2)\mu + (\eta + ck^2\sigma^2)((\lambda^2 - 2\mu)\text{Cos}[2\vartheta] - \lambda\sigma\text{Sin}[2\psi]))}{2c\beta(\lambda - \sigma\text{Tan}[\psi])^2},$$

where $\psi = \frac{1}{2}\sqrt{-\lambda^2 + 4\mu}(E + \xi), \eta = \sqrt{4R\beta + c^2k^4(\lambda^2 - 4\mu)^2}, \sigma = \sqrt{-\lambda^2 + 4\mu}$, (Figure7).

Family3:

$$U_{2,3}(\xi) = \frac{\frac{\sqrt{4R\beta + c^2k^4\lambda^4}}{c} - k^2\lambda^2(1 + 3\text{Csch}[\omega]^2)}{2\beta},$$

where $\omega = \frac{1}{2}\lambda(E + \xi)$, (Figure8).

Family4:

$$U_{2,4}(\xi) = \frac{\frac{\eta}{c} + 2k^2(\lambda^2(1 - \frac{6}{\phi^2}) - 4\mu)}{2\beta},$$

where $\eta = \sqrt{4R\beta + c^2k^4(\lambda^2 - 4\mu)^2}$, $\phi = E\lambda + \xi\lambda$, $\theta = 2 + \phi$, (Figure9).

Family 5:

$$U_{2,5}(\xi) = \frac{-\frac{6k^2}{(E + \xi)^2} + \frac{\sqrt{R\beta}}{c}}{\beta}.$$

(Figure10).

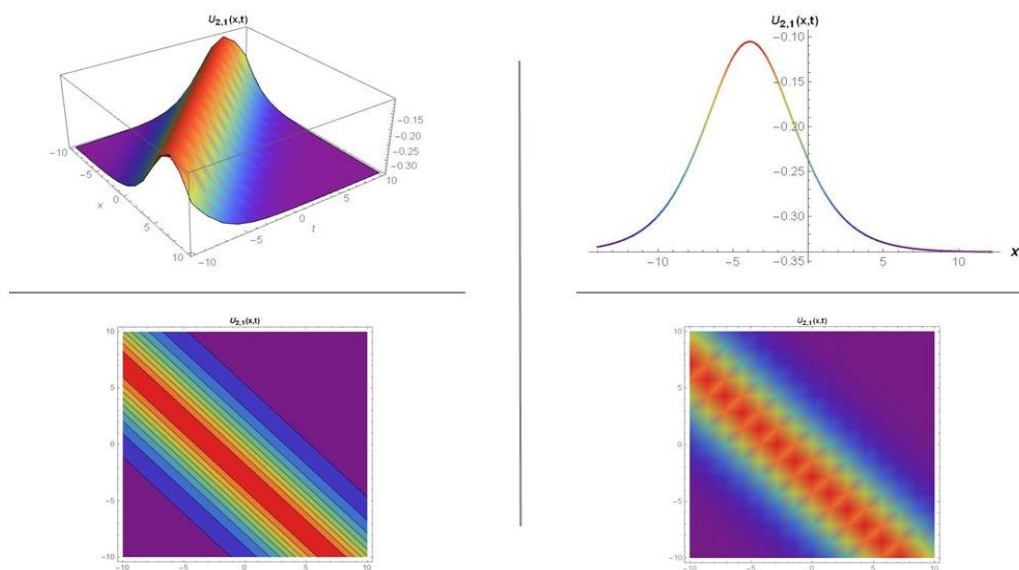


Figure 6. The three dimensional graph, contour graph, density graphs of solution $U_{2,1}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 1.33333, \lambda = 3, \mu = 2, A_2 = 3.42188, B_0 = 0.35, \alpha = 0.161847, A_0 = -0.775267, A_1 = 1.96902, A_3 = 1.25, \beta = 1.6, R = 0.1, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

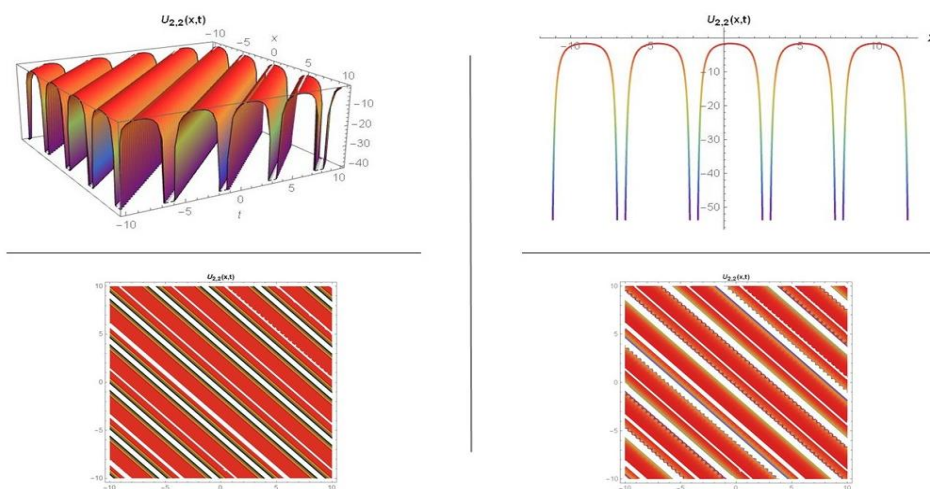


Figure 7. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{2,2}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 1.33333, \lambda = 1, \mu = 2, A_2 = 0.921875, B_0 = 0.35, \alpha = -0.924188, A_0 = -0.675302, A_1 = 2.24445, A_3 = 1.25, \beta = 1.6, R = 0.1, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

2

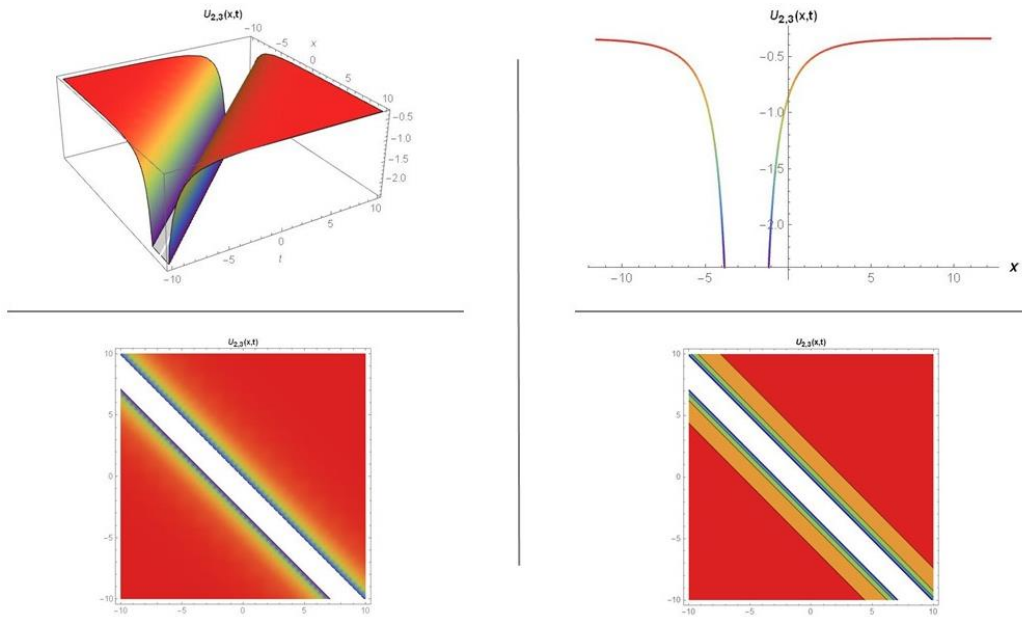


Figure 8. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{2,3}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 1.33333, \lambda = 1, \mu = 0, A_2 = 0.921875, B_0 = 0.35, \alpha = 0.161847, A_0 = -0.119017, A_1 = 0.125272, A_3 = 1.25, \beta = 1.6, R = 0.1, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

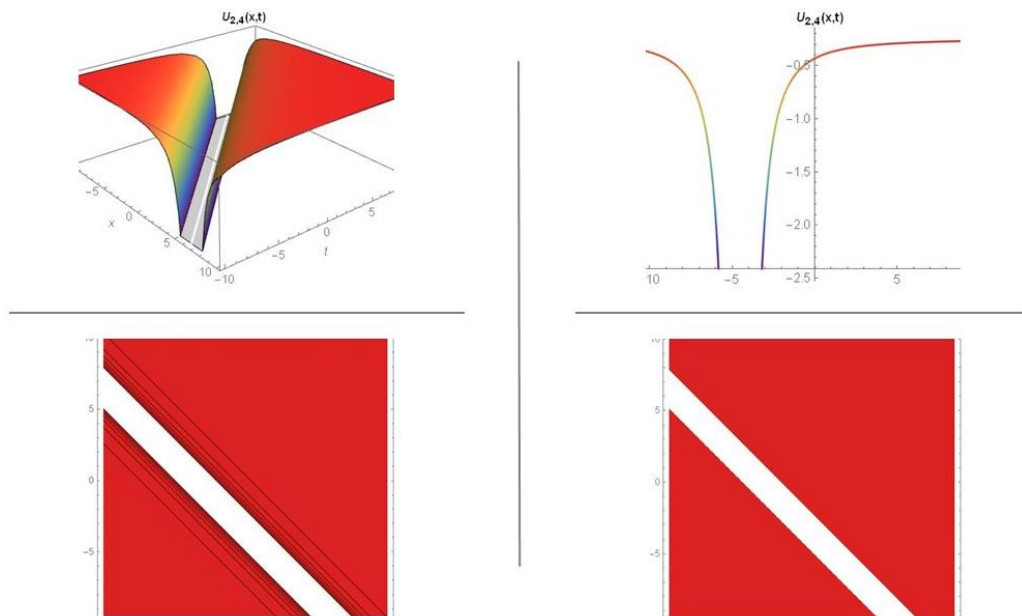


Figure 9. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{2,4}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 1.33333, \lambda = 2, \mu = 1, A_2 = 2.17188, B_0 = 0.35, \alpha = 0.2, A_0 = -0.415625, A_1 = 0.927083, A_3 = 1.25, \beta = 1.6, R = 0.1, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

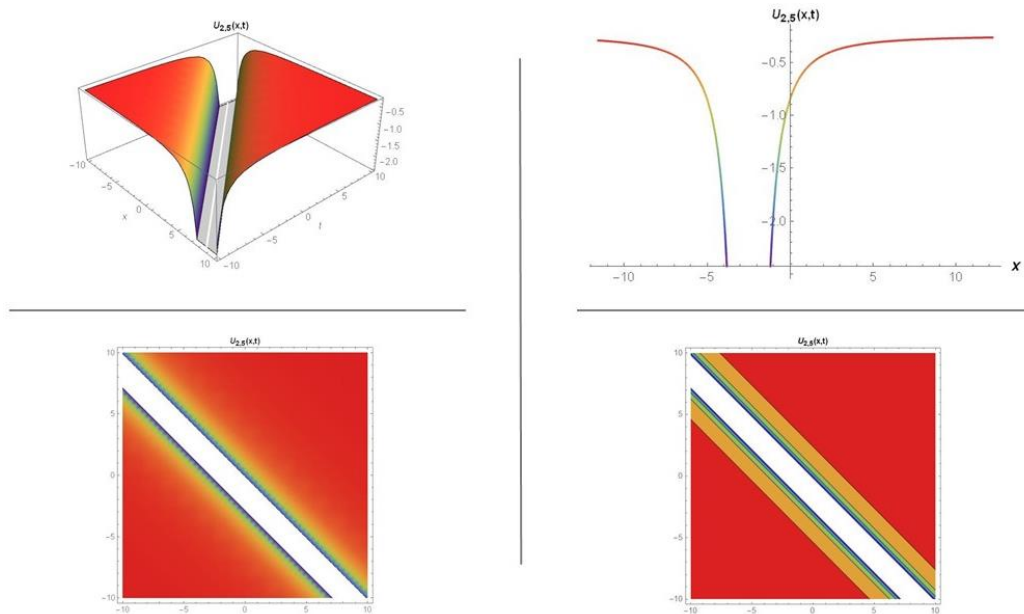


Figure 10. The three dimensional graph, contour graph, density graph of solution $U_{2,5}(\xi)$ for the values $c = -1, k = 0.5, B_1 = 1.33333, \lambda = 0, \mu = 0, A_2 = -0.328125, B_0 = 0.35, \alpha = 0.2, A_0 = -0.0875, A_1 = 0.33333, A_3 = 1.25, \beta = 1.6, R = 0.1, E = 0.75$ and two-dimensional graph for $t = 1$

RESULTS AND DISCUSSION

The graphs representing the behavior of the mathematical model are obtained by determining the appropriate parameters, for the solution forms. The 3D, 2D graphs together with the contour and the density plots of $U_{1,1}, U_{1,2}, U_{1,3}, U_{1,4}, U_{1,5}, U_{2,1}, U_{2,2}, U_{2,3}, U_{2,4}, U_{2,5}$ are illustrated in Figures 1-10. Additionally, these forms are tested whether they are the exact solution of (1) or not with the help of a package program and verification is acquired.

CONCLUSION

We have determined the new exact solution forms of the Lonngren-wave equation as hyperbolic, trigonometric and rational functions via the modified exponential function method which is an effective and functioning method. It is observed that the MEFM is not applied for this equation before. The process of plotting the graphs and the computations are overcome with the aid of a package program. The Lonngren wave equation is used in the field of telecommunication and network engineering. Therefore the newly obtained wave solutions may be useful for analyzing and understanding the information as signals for transmission. This shows that the method is a very effective technique for the NLPDEs.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Akbar MA, Alam MdN, Hafez MdG, 2016. Application of the novel (G'/G) -expansion method to construct traveling wave solutions to the positive Gardner-KP equation. *Indian Journal of Pure Applied Mathematics*, 47(1):85-96.
- Akcagil S, Aydemir T, 2016. Comparison between the (G'/G) -expansion method and the modified extended tanh method. *Open Physics*, 14(1):88-94.
- Akcagil S, Aydemir T, 2018. A new application of the unified method. *New Trends in Mathematical Sciences*, 6(1):185-199.

- Aktürk T, Gurefe Y, Pandır Y, 2017. An application of the new function method to the Zhiber-Shabat equation. An International Journal of Optimization and Control: Theories & Applications, 7(3):271-274.
- Arshed S, Biswas A, Zhou Q, Khan S, Adesynya S, Moshokoa SP, et al., 2019. Optical Solitons perturbation with Fokas-Lenells equation by $\exp(-\phi(\xi))$ -expansion method. Optik, 179:341–345.
- Baskonus HM, 2021. Dark and trigonometric soliton solutions in asymmetrical Nizhnik-Novikov-Veselov equation with $(2+1)$ -dimensional. An International Journal of Optimization and Control: Theories & Applications, 11(1):92-99.
- Biazar J, Badpeima F, Azimi F, 2009. Application of the homotopy perturbation method to Zakharov–Kuznetsov equations. Computers&Mathematics with Applications 58(11-12):2391-2394.
- Bulut H, Baskonus HM, 2016. Exponential prototype structures for $(2+1)$ -dimensional Boiti-Leon-Pempinelli systems in mathematical physics. Waves in Random and Complex Media, 26(2):189-196.
- Bulut H, Baskonus HM, 2016. New Complex Hyperbolic Function Solutions for the $(2+1)$ -Dimensional Dispersive Long Water-Wave System. Mathematical and Computational Applications, 21(2): 6.
- Chen G, Xin X, Liu H, 2019. The Improved $\exp(-\phi(\xi))$ -Expansion Method and New Exact Solutions of Nonlinear Evolution Equations in Mathematical Physics. Advances in Mathematical Physics, Article ID 4354310.
- Demiray ST, Pandır Y, Bulut H, 2015. New solitary wave solutions of Maccari system. Ocean Engineering, 103:153-159.
- Duran S, 2020. Solitary Wave Solutions of the Coupled Konno-Oono Equation by using the Functional Variable Method and the Two Variables $(G'/G, 1/G)$ -Expansion Method. Adiyaman University Journal of Science, 10(2):585-594.
- Duran S, 2021. Dynamic interaction of behaviors of time-fractional shallow water wave equation system. Modern Physics Letters B, 35(22):2150353.
- Duran S, 2021. Travelling wave solutions and simulation of the Lonngren wave equation for tunnel diode. Optical and Quantum Electronics, 53, Article number: 458.
- Duran S, 2021. Breaking theory of solitary waves for the Riemann wave equation in fluid dynamics. International Journal of Modern Physics B, 35(9): 2150130.
- Duran S, Karabulut B, 2021. Nematicons in liquid crystals with Kerr Law by sub-equation method. Alexandria Engineering Journal, <https://doi.org/10.1016/j.aej.2021.06.077>.
- Elwakil SA, El-Labany SK, Zahran MA, Sabry R, 2005. Modified extended tanh-function method and its applications to nonlinear equations. Applied Mathematics and Computation, 161(2):403–412.
- Fan E, 2000. Extended tanh-function method and its applications to nonlinear equations. Physics Letters A, 277(4-5):212-218.
- Gao W, Ismael H F, Mohammed SA, Baskonus HM, Bulut H, 2019. Complex and real optical soliton properties of the paraxial non-linear Schrödinger equation in Kerr media with M -fractional. Frontiers in Physics, <https://doi.org/10.3389/fphy.2019.00197>.
- He JH, 2006a. Addendum: new interpretation of homotopy perturbation method. International Journal of Modern Physics B, 20(18): 2561-2568.
- He JH, 2006b. Homotopy perturbation method for solving boundary value problems. Physics Letters A, 350(1): 87-88.
- He JH, 2008. Recent development of the homotopy perturbation method. Topological Methods in Nonlinear Analysis, 31(2):205-209.
- Hietarinta J, 2005. Hirota's bilinear method and soliton solutions. Physics AUC, 15(1):31-37.
- Hirota R, Satsuma J, 1977. Nonlinear Evolution Equations Generated from the Bäcklund Transformation for the Boussinesq Equation. Progress of Theoretical Physics, 57(3):797-807.
- Ismael HF, Bulut H, Baskonus HM, 2020. Optical soliton solutions to the Fokas–Lenells equation via sine-Gordon expansion method and $(m + (G'/G))$ -expansion method. Pramana-Journal of Physics, 94:35.
- Kayum MdA, Ara S, Barman HK, Akbar MA, 2020. Soliton solutions to voltage analysis in nonlinear electrical transmission lines and electric signals in telegraph lines. Results in Physics, 18:103269.
- Kumar D, Manafian J, Hawlader F, Ranjbaran A, 2018. New closed form soliton and other solutions of the Kundu–Eckhaus equation via the extended sinh-Gordon equation expansion method. Optik, 160:159-167.

- Lu D, Hong B, Tian L, 2006. Backlund transformation and N-soliton-like Solutions to the Combined KdV-Burgers Equation with Variable Coefficients. *International Journal of Nonlinear Sciences*, 2(1):3–10.
- Mahmud F, Samsuzzoha Md, Akbar MA, 2017. The generalized Kudryashov method to obtain exact traveling wave solutions of the PHI-four equation and Fisher equation. *Results in Physics*, 7:4296-4302.
- Marwan A, Al-Khaled K, Ananbeh H, 2011. New Soliton Solutions for Systems of Nonlinear Evolution Equations by the Rational Sine-Cosine Method. *Studies in Mathematical Sciences*, 3(1): 1-9.
- Misirli E, Gurefe Y, 2011. Exp-Function Method for Solving Nonlinear Evolution Equations. *Mathematical and Computational Applications*, 16(1): 258-266.
- Naher H, 2012. The Basic (G'/G)-Expansion Method for the Fourth Order Boussinesq Equation. *Applied Mathematics*, 3(10):1144-1152.
- Naher H, Abdullah FA, 2013. New approach of (G'/G)-expansion method and new approach of generalized (G'/G)-expansion method for nonlinear evolution equation. *American Institute of Physics Advances*, 3(3):032116.
- Parkes EJ, Duffy BR, Abbott PC, 2002. The Jacobi elliptic-function method for finding periodic-wave solutions to nonlinear evolution equations. *Physics Letters A*, 295(5-6):280-286.
- Parkes EJ, 2010. Observations on the tanh-coth expansion method for finding solutions to nonlinear evolution equations. *Applied Mathematics and Computations*, 217(4):1749-1754.
- Qawasmeh A, Alquran M, 2014. Reliable Study of Some New Fifth-Order Nonlinear Equations by Means of G'/G Expansion Method and Rational Sine-Cosine Method. *Applied Mathematical Sciences*, 8(120):5985-5994.
- Radha R, Tang XY, Lou SY, 2007. Truncated Painleve Expansion – A Unified Approach to Exact Solutions and Dromion Interactions of (2+1)-Dimensional Nonlinear Systems. *Zeitschrift für Naturforsch a*, 62(3):107-116.
- Rahman MM, Habib MA, Ali HMS, Miah MM, 2019. The Generalized Kudryashov Method: a Renewed Mechanism for Performing Exact Solitary Wave Solutions of Some NLEEs. *Journal of Mechanics of Continua and Mathematical Sciences*, 14(1):323-339.
- Saleh R, Mabrouk SM, Wazwaz AM, 2021. Lie symmetry analysis of a stochastic gene evolution in double-chain deoxyribonucleic acid system. *Waves in Random and Complex Media*, <https://doi.org/10.1080/17455030.2020.1871109>.
- Seadawy AR, Bilal M, Younis M, Rizvi STR, Althobaiti S, Makhlof MM, 2021. Analytical mathematical approaches for the double-chain model of DNA by a novel computational technique. *Chaos, Solitons and Fractals*, 144(17):110669.
- Shrauner BA, 2019. Exact traveling wave solutions of nonlinear evolution equations: indeterminate homogeneous balance and linearizability. *Mathematics and Statistics*, 7(1):10–13.
- Wang ML, Li X, Zhang JL, 2008. The G'/G -expansion method and travelling wave solutions of nonlinear evolution equations in mathematical physics. *Physics Letters A*, 372(4):417–423.
- Wazwaz AM, 2007a. Multiple-soliton solutions for the KP equation by Hirota's bilinear method and by the tanh-coth method. *Applied Mathematics and Computation*, 190(1):633–640.
- Wazwaz AM, 2007b. The tanh-coth method for solitons and kink solutions for nonlinear parabolic equations. *Applied Mathematics and Computation*, 188(2):1467-1475.
- Wazwaz AM, 2016. The simplified Hirota's method for studying three extended higher-order KdV-type equations. *Journal of Ocean Engineering and Sciences*, 1(3):181-185.
- Yang XF, Deng ZC, Wei Y, 2015. A Riccati-Bernoulli sub-ODE method for nonlinear partial differential equations and its application. *Advances in Difference Equations*, 117(2015).
- Yang Z, Hon YC, 2006. An Improved Modified Extended tanh-Function Method. *Zeitschrift für Naturforsch*, 61a:103-115.
- Yel G, Baskonus HM, 2019. Solitons in conformable time-fractional Wu-Zhang system arising in coastal design. *Pramana*, 93(4):1-10.

Atf İçin: Çakıroğlu R, Duman A, Aydın K, 2021. İkinci Mertebeden Fark Denklemlerin Schur Kararlılığı ve Salınımlılığı Üzerine. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3098-3110.

To Cite: Çakıroğlu R, Duman A, Aydın K, 2021. On Schur Stability and Oscillation of Second Order Difference Equations. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3098-3110.

İkinci Mertebeden Fark Denklemlerin Schur Kararlılığı ve Salınımlılığı Üzerine

Ramazan ÇAKIROĞLU¹, Ahmet DUMAN^{2*}, Kemal AYDIN³

ÖZET: Bu çalışmada, ikinci mertebeden fark denklemlerin çözümlerinin Schur kararlı ve salınımlı olup olmadığı durumlar incelendi. Ayrıca Schur kararlı ve salınımlı olan ikinci mertebeden fark denklemlerinin hangi bozunumlar altında Schur kararlı ve salınımlı kaldığı bölgeler belirlendi. Elde edilen sonuçlar nümerik örnekler ile desteklendi.

Anahtar Kelimeler: Fark denklemleri, Schur kararlılık, salınımlılık, hassasiyet, bozunum sistemleri

On Schur Stability and Oscillation of Second Order Difference Equations

ABSTRACT: In this study, the solutions of second order difference equations were examined with respect to whether they were Schur stable and oscillatory or not. The results determining under which perturbation the solutions retain their characteristics were given. The obtained results were analyzed with numerical examples.

Keywords: Difference equations, Schur stability, oscillation, sensitivity, perturbation systems

¹ Ramazan ÇAKIROĞLU ([Orcid ID: 0000-0001-9242-9784](https://orcid.org/0000-0001-9242-9784)) Gazi Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, ÇANKIRI, Türkiye

² Ahmet DUMAN ([Orcid ID: 0000-0002-4022-5285](https://orcid.org/0000-0002-4022-5285)), Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik ve Bilgisayar Bilimleri Bölümü, Konya, Türkiye

³ Kemal AYDIN ([Orcid ID: 0000-0002-5843-3058](https://orcid.org/0000-0002-5843-3058)), Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, Konya, Türkiye

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ahmet DUMAN, e-mail: aduman@erbakan.edu.tr

Bu çalışma Ramazan ÇAKIROĞLU'nun yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

INTRODUCTION

Difference equations have been used in modelling the problems given in many fields such as the study of number of living population in biology, in examining the stock market movements in economy and in the study of cell movement in medical science (Daganzo, 1994; Elaydi, 2005; Neusser, 2019). Hence how the solutions of difference equations behave is important in field of application.

In recent years, numerous studies have been conducted on the behavior of solutions of difference equations, focusing on Schur stability or oscillation characteristics. For example, sensitivity analysis of Schur stability was studied depending on the stability parameter, which indicates the quality of Schur stability of linear difference equation systems and the stability regions of the given systems were determined with the results obtained from these studies (Duman and Aydın, 2011; Duman and Aydın, 2014; Duman et al., 2016; Duman et al., 2018). Additionally, the results focused on oscillation characteristics were obtained on the oscillation of the difference equations (Braverman and Karpuz, 2011; Asteris and Chatzarakis, 2017; Chatzarakis and Shaikhet, 2017).

However, to our knowledge, there has not been sufficient studies conducted in which oscillation and Schur stability of difference equations are provided together. Therefore, the conditions under which homogeneous second order difference equations with constant coefficients are both Schur stable and oscillatory (SSO) are examined depending on the spectral criterion in this study and the behavior of solutions is investigated as a result of perturbing such conditions.

Consider the second order difference equations with constant coefficients

$$x(n+2) + p_1x(n+1) + p_2x(n) = 0, \quad (1)$$

where $p_1, p_2 \in \mathbb{R}$. Let roots of characteristic equation of (1) be r_1 and r_2 . (1) equation can be written as;

$$x(n+2) - (r_1 + r_2)x(n+1) + r_1 \cdot r_2x(n) = 0. \quad (2)$$

Now let us give the definitions of Schur stability and oscillatory.

Definition 1. A non-trivial solution of (1) is said to be *oscillatory* (around zero) if for every positive integer n there exists $k \in \mathbb{N}$ such that $x(n)x(n+k) < 0$. Otherwise, the solution of (1) is said to be non oscillatory. In other words, the solution of (1) is oscillatory if it is neither eventually positive nor eventually negative (Györi and Ladas, 1991; Agarwal, 2000; Elaydi, 2005).

Definition 2. Under the initial condition $x(n_0)$, (1) equation can be given as;

$$x(n+2) + p_1x(n+1) + p_2x(n) = 0, x(n_0) = a, n \geq n_0. \quad (3)$$

The system (3) is stable if any $\varepsilon > 0$ there exists a $\delta = \delta(\varepsilon) > 0$ such that $\|x(n_0)\| < \delta$ implies $\|x(n)\| < \varepsilon$ for all $n > n_0$. If the solution $x(n)$ of (3) is not stable, then it is called unstable. The system (3) is asymptotically (Schur) stable if it is stable and $\lim_{n \rightarrow \infty} \|x(n)\| = 0$ (Györi and Ladas, 1991; Akın and Bulgak, 1998; Agarwal, 2000; Elaydi, 2005).

MATERIALS AND METHODS

SSO second order linear homogenous difference equations (1) with constant coefficients are considered. It is determined under which perturbation these equations remain SSO. While doing examination, the roots of the characteristic equation of (1) are considered as real and then complex.

If The Roots of Characteristic Equation are Real

In this section when the roots $r_{1,2}$ of the characteristic equation of (1) are real, the conditions under which (1) is SSO are examined. In addition, with the help of iterative perturbation equations, sensitivity analysis is performed in order to preserve the properties of the given equations.

Now let us give the following theorem determining SSO of (1).

Theorem 1. Let $r_1, r_2 \in \mathbb{R}$. The following statements hold:

i. All solutions of (1) oscillate (about zero) if and only if the characteristic equation has no positive real roots ($r_1, r_2 < 0$),

ii. All solution of (1) converge to zero (i.e., all solutions are Schur stable) if and only if $|r_{1,2}| < 1$ (Elaydi, 2005).

Note 1. Theorem 1 (ii) is called Spectral criterion in the literature.

Remark 1. The equation (1) is SSO if and only if $-1 < r_{1,2} < 0$.

It is clear that Remark 1 is true when *i*) and *ii*) of Theorem 1 are considered together.

Definition 3. r_1 and r_2 are distinct real roots. $x_1(n) = r_1^n$ and $x_2(n) = r_2^n$ are linearly independent solutions of (2). If $|r_1| > |r_2|$, then we call $x_1(n)$ the dominant solution, r_1 the dominant characteristic root (Elaydi, 2005).

The general solution of (2) is $x(n) = a_1 r_1^n + a_2 r_2^n$. Let $|r_1| > |r_2|$. Then

$$x(n) = r_1^n \left[1 + \left(\frac{r_2}{r_1}\right)^n \right].$$

Since $\left|\frac{r_2}{r_1}\right| < 1$, it follows that $\left(\frac{r_2}{r_1}\right)^n \rightarrow 0$ as $n \rightarrow \infty$.

Consequently, $\lim_{n \rightarrow \infty} x(n) = \lim_{n \rightarrow \infty} r_1^n$ (Elaydi, 2005).

If The Roots of Characteristic Equation are Complex

Consider the second order difference equations with constant coefficients

$$x(n + 2) - (r_1 + r_2)x(n + 1) + r_1 \cdot r_2 x(n) = 0, \tag{4}$$

where $r_1, r_2 \in \mathbb{C}$. Suppose that $r_{1,2} = \alpha \pm i\beta$, where $\alpha, \beta \in \mathbb{R}, \beta \neq 0$. The solution of (4) is given by

$$x(n) = ar^n \cos(n\theta - b),$$

where $r = \sqrt{\alpha^2 + \beta^2}$, $\theta = \arctan\left(\frac{\beta}{\alpha}\right)$ and $a, b \in \mathbb{R}$ (Elaydi, 2005).

Now, consider the following perturbation equation of (4)

$$y(n + 2) - (\hat{r}_1 + \hat{r}_2)y(n + 1) + \hat{r}_1 \cdot \hat{r}_2 y(n) = 0. \tag{5}$$

The roots of the characteristic equation of (5) are $\hat{r}_1 = r_1 + h = (\alpha + x) + i(\beta + y) = \hat{\alpha} + i\hat{\beta}$, $\hat{r}_2 = r_2 + h = (\alpha + x) - i(\beta + y) = \hat{\alpha} - i\hat{\beta}$, where $h = x \pm iy$. The general solution of (5) is $y(n) = a\hat{r}^n \cos(n\hat{\theta} - b)$, where $\hat{r} = \sqrt{(\alpha + x)^2 + (\beta + y)^2}$, $\hat{\theta} = \arctan\left(\frac{\beta + y}{\alpha + x}\right)$, $(\beta + y) \neq 0$ and $a, b \in \mathbb{R}$.

Let's assume that $a = 1, b = 0$ for the sake of convenience in our study. Thus the general solution of (4) and (5) are $x(n) = r^n \cos(n\theta)$ and $y(n) = \hat{r}^n \cos(n\hat{\theta})$, respectively. Note that here $|r_1| = |r_2| = r = \sqrt{\alpha^2 + \beta^2}$.

The general solution of (4) oscillates, since the cosine function oscillates. However, $x(n)$ oscillates in three different ways depending on the location of the conjugate characteristic roots:

1. $r < 1 \Rightarrow r_{1,2}$ lie inside unit disk. The solution $x(n)$ oscillates but converges to zero;
2. $r = 1 \Rightarrow r_{1,2}$ lie on the unit circle. The solution $x(n)$ is oscillating but constant in magnitude;
3. $r > 1 \Rightarrow r_{1,2}$ are outside the unit circle. $x(n)$ is oscillating but increasing in magnitude

(Elaydi, 2005).

Note 2. Considering Theorem 1 and three different cases given above, the solution of equation (4) is SSO if and only if $|r_{1,2}| = r < 1$.

RESULTS AND DISCUSSION

Sensitivity of SSO of Equation (1) when The Roots of Characteristic Equation are Real

Let us determine under which perturbation SSO (1) equation remains SSO. In other words let us determine the sensitivity of SSO of equation (1).

Let $\hat{r}_1 = r_1 + h_1, \hat{r}_2 = r_2 + h_2$ ve $h_1, h_2 \in \mathbb{R}$. Consider the following difference equations

$$y(n + 2) - (\hat{r}_1 + \hat{r}_2)y(n + 1) + \hat{r}_1 \cdot \hat{r}_2 y(n) = 0. \tag{6}$$

The difference equation (6) is the perturbation difference equation of (2) (or (1)). The general solution of (6) is $y(n) = c_1 \hat{r}_1^n + c_2 \hat{r}_2^n$, where $c_1, c_2 \in \mathbb{R}$ (Elaydi, 2005). Let's assume that $c_1 = c_2 = 1$ for the sake of convenience in our study. Hence, the general solution of (2) and (6) are $x(n) = r_1^n + r_2^n$ and $y(n) = \hat{r}_1^n + \hat{r}_2^n$, respectively.

Theorem 2. Let (2) is SSO ($-1 < r_1, r_2 < 0$). If h_1 and h_2 satisfy the following inequality

$$-1 - r_1 < h_1 < -r_1, -1 - r_2 < h_2 < -r_2$$

then the equation (6) is SSO.

Proof. Let the roots of the characteristic equation of (6) are $\hat{r}_1 = r_1 + h_1, \hat{r}_2 = r_2 + h_2$, where $h_1, h_2 \in \mathbb{R}$. The equation (2) is SSO ($-1 < r_{1,2} < 0$) hence in order for perturbation equation (6) to be SSO, it should satisfy the following inequality $-1 < h_1 + r_1 < 0$ or $-1 < h_2 + r_2 < 0$.

It is clearly seen that the equation (6) is SSO for h_1 and h_2 which satisfy the following inequality

$$-1 - r_1 < h_1 < -r_1, -1 - r_2 < h_2 < -r_2.$$

Example 1. Let (2) be SSO i.e., ($-1 < r_1, r_2 < 0$). According the Theorem 2, let us examine h_1 and h_2 numerically, which make perturbation equation (6) SSO.

$$\text{For } r_1 = -\frac{1}{2}, -1 - \left(-\frac{1}{2}\right) < h_1 < -\left(-\frac{1}{2}\right) \Rightarrow -\frac{1}{2} < h_1 < \frac{1}{2}.$$

$$\text{For } r_2 = -\frac{1}{3}, -1 - \left(-\frac{1}{3}\right) < h_2 < -\left(-\frac{1}{3}\right) \Rightarrow -\frac{2}{3} < h_2 < \frac{1}{3}.$$

Let $l_i = \frac{i}{10}, (i = 1, 2, \dots, 9)$. The following table is given.

Table 1. The general and dominant solution of equation (6) with $\hat{r}_1 = r_1 + h_1$ and $\hat{r}_2 = r_2 + h_2$, for $r_1 = -\frac{1}{2}$ and $r_2 = -\frac{1}{3}$

h_1	$\hat{r}_1 = r_1 + h_1$	h_2	$\hat{r}_2 = r_2 + h_2$	$y(n) = \hat{r}_1 + \hat{r}_2$	Dominant Solution
$h_1 \rightarrow \left(-\frac{1}{2}\right)^+$	-1^+	$h_2 \rightarrow \left(\frac{1}{3}\right)^-$	0^-	$y(n) = (-1^+)^n + (0^-)^n$	$y(n) = (-1^+)^n$
$-\frac{1}{2} + l_1$	-0.9	$\frac{1}{3} - l_1$	-0.1	$y(n) = (-0.9)^n + (-0.1)^n$	$y(n) = (-0.9)^n$
$-\frac{1}{2} + l_2$	-0.8	$\frac{1}{3} - l_2$	-0.2	$y(n) = (-0.8)^n + (-0.2)^n$	$y(n) = (-0.8)^n$
$-\frac{1}{2} + l_3$	-0.7	$\frac{1}{3} - l_3$	-0.3	$y(n) = (-0.7)^n + (-0.3)^n$	$y(n) = (-0.7)^n$
$-\frac{1}{2} + l_4$	-0.6	$\frac{1}{3} - l_4$	-0.4	$y(n) = (-0.6)^n + (-0.4)^n$	$y(n) = (-0.6)^n$
$-\frac{1}{2} + l_5$	-0.5	$\frac{1}{3} - l_5$	-0.5	$y(n) = (-0.5)^n + (-0.5)^n$	$y(n) = (-0.5)^n$
$-\frac{1}{2} + l_6$	-0.4	$\frac{1}{3} - l_6$	-0.6	$y(n) = (-0.4)^n + (-0.6)^n$	$y(n) = (-0.6)^n$
$-\frac{1}{2} + l_7$	-0.3	$\frac{1}{3} - l_7$	-0.7	$y(n) = (-0.3)^n + (-0.7)^n$	$y(n) = (-0.7)^n$
$-\frac{1}{2} + l_8$	-0.2	$\frac{1}{3} - l_8$	-0.8	$y(n) = (-0.2)^n + (-0.8)^n$	$y(n) = (-0.8)^n$
$-\frac{1}{2} + l_9$	-0.1	$\frac{1}{3} - l_9$	-0.9	$y(n) = (-0.1)^n + (-0.9)^n$	$y(n) = (-0.9)^n$
$h_1 \rightarrow \left(\frac{1}{2}\right)^-$	0^-	$h_2 \rightarrow \left(-\frac{2}{3}\right)^+$	-1^+	$y(n) = (0^-)^n + (-1^+)^n$	$y(n) = (-1^+)^n$

When the graph which will be given below according to Table 1 are examined, it will be seen how SSO of equation (6) changes as the values h_1 and h_2 approach towards the left and right ends in their intervals.

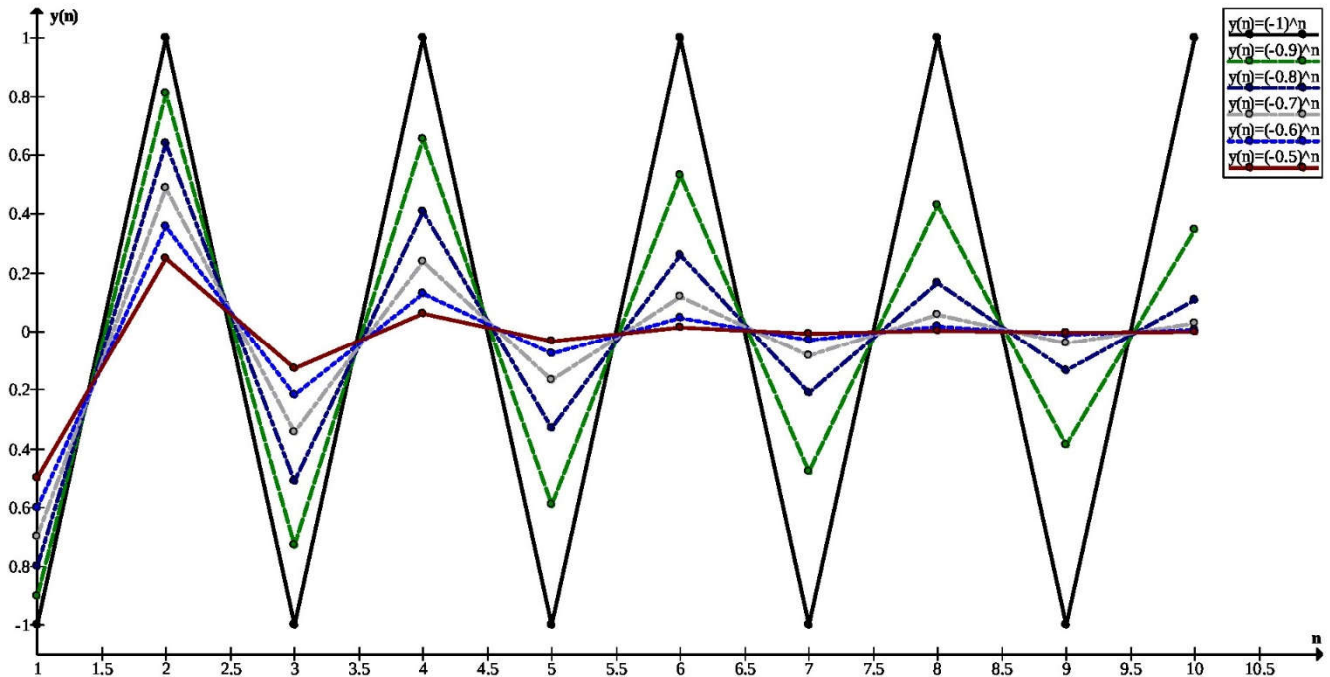


Figure 1. A graphical representation of dominant solutions of $y(n) = \hat{r}_1^n + \hat{r}_2^n$ for $r_1 = -0.5$ and $r_2 = -0.3333333333$.

Now, let us examine the results that we have obtained by accepting the characteristic roots of second order difference equation as real, considering the characteristic roots as complex.

Sensitivity of SSO of Equation (1) when The Roots of Characteristic Equation are Complex

Now, when the equation (4) is oscillatory, let us give the sets that show the cases where the oscillation of equation (5) is provided.

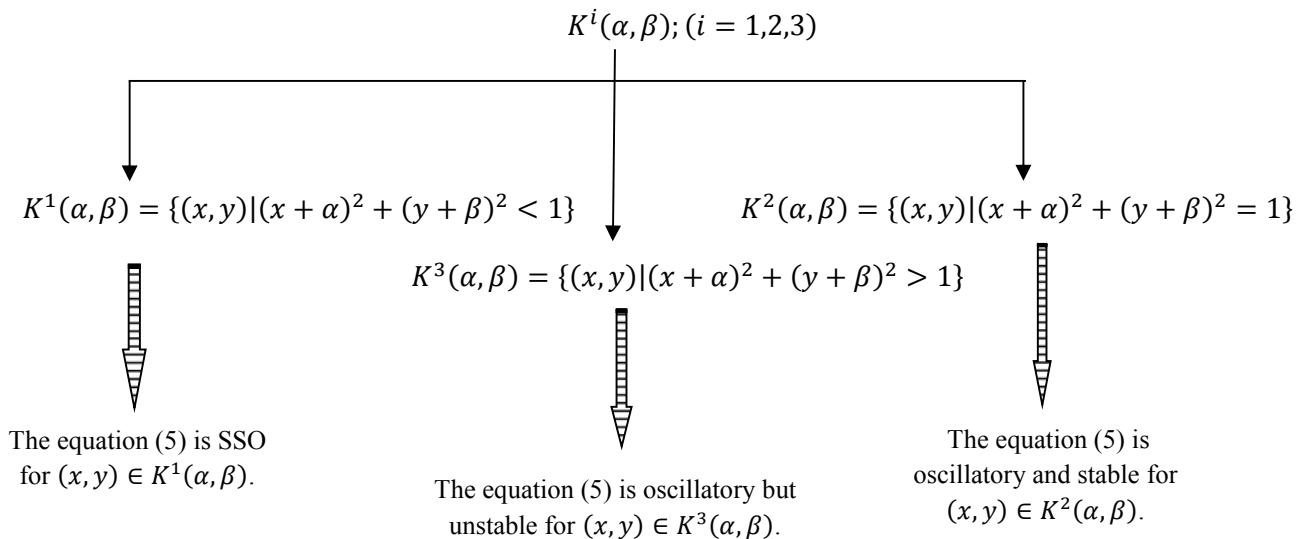


Figure 2. The sets giving the oscillation of the equation (5) are $K^i(\alpha, \beta); (i = 1, 2, 3)$.

The following theorem shows that for which perturbation equation (5) is SSO when equation (4) is SSO.

Theorem 3. Let the equation (4) be SSO. For $(x, y) \in K^1(\alpha, \beta)$, the perturbation equation (5) is SSO too.

Proof. Let the roots of the characteristic equation of (4) are $r_1 = \alpha + i\beta, r_2 = \alpha - i\beta$ and $(x, y) \in K^1(\alpha, \beta)$, where $\alpha, \beta \in \mathbb{R} (\beta \neq 0)$. The equation (4) is SSO, hence $|r_{1,2}| = \alpha^2 + \beta^2 < 1$. The roots of the characteristic equation of (5) are $\hat{r}_1 = (\alpha + x) + i(\beta + y), \hat{r}_2 = (\alpha + x) - i(\beta + y)$, for $(x, y) \in K^1(\alpha, \beta)$

$$(x + \alpha)^2 + (y + \beta)^2 < 1 \Rightarrow |\hat{r}_{1,2}| < 1.$$

Thus, according to the spectral criterion, the perturbation equation (5) is SSO.

Now, according to Theorem 3, let us examine $(x, y) \in K^1(\alpha, \beta)$ numerically for $(|r_{1,2}| = r < 1)$.

Example 2. Let $r_1 = 0.5 + 0.5i, r_2 = 0.5 - 0.5i$. Therefore

$$K^1(0.5,0.5) = \{(x, y) | (x + 0.5)^2 + (y + 0.5)^2 < 1\}.$$

Let show $K^1(0.5,0.5)$ region below:

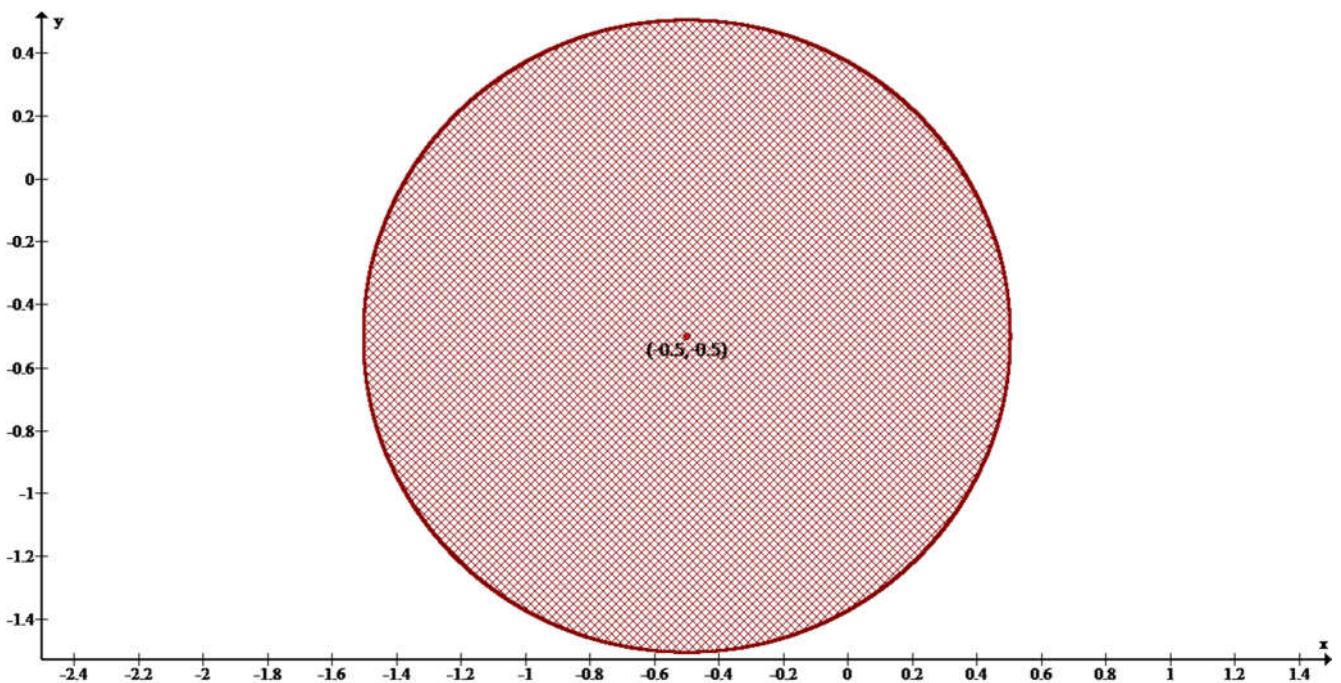


Figure 3. The graph of $K^1(0.5,0.5) = \{(x, y) | (x + 0.5)^2 + (y + 0.5)^2 < 1\}$ for $r_{1,2} = 0.5 \pm 0.5i$.

According to Theorem 3; while the equation (4) is SSO, the perturbation equation (5) is SSO for $(x, y) \in K^1(\alpha, \beta)$.

Now, while the equation is SSO, the $K^1(\alpha, \beta)$ regions are determined for different α and β that make the perturbation equation is SSO.

- Let $r_1 = \alpha_j + i\beta_j, r_2 = \alpha_j - i\beta_j$ for $\alpha_j = \frac{j}{10}, \beta_j = \frac{j}{10}; (j = 1, 2, \dots, 9)$. The following graph $K^1(\alpha, \beta) = \{(x, y) | (x + \alpha_j)^2 + (y + \beta_j)^2 < 1\}$ shows that under which perturbation the equation (5) is SSO when the equation (4) is SSO.

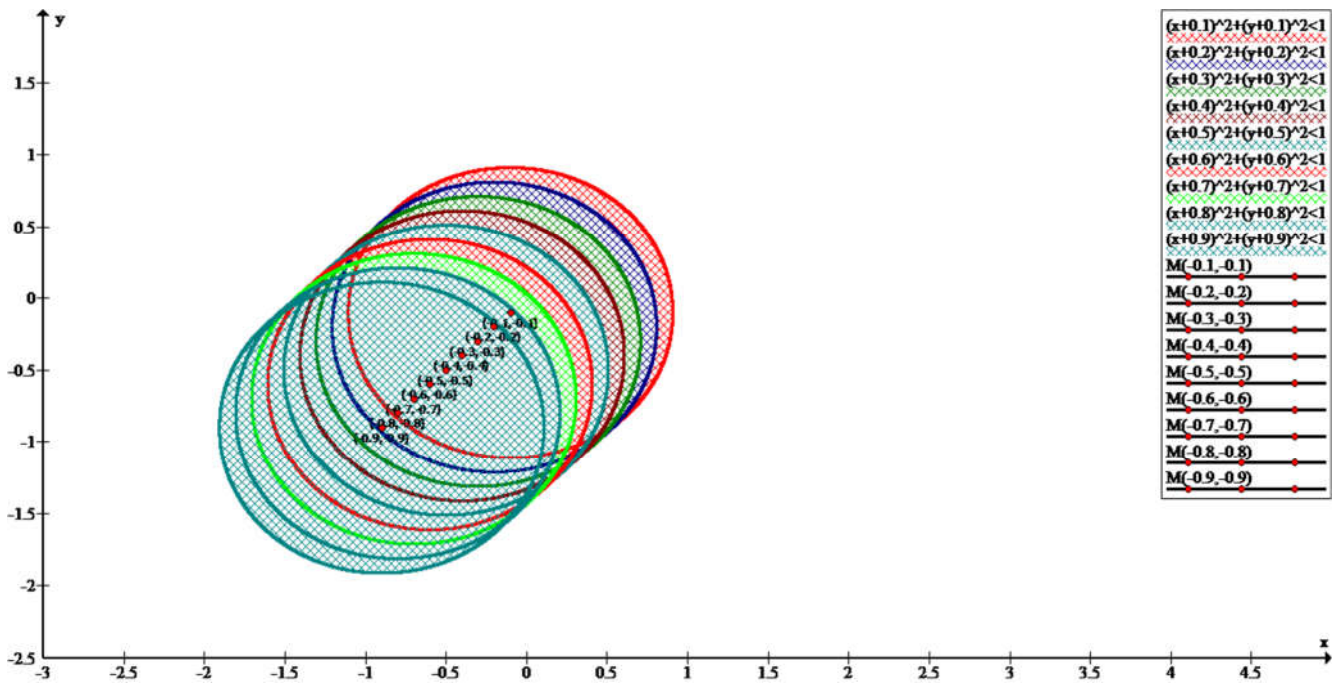


Figure 4. The graph of the unit disk $K^1(\alpha, \beta) = \{(x, y) \mid (x + \alpha_j)^2 + (y + \beta_j)^2 < 1\}$ for $\alpha_j, \beta_j = \frac{j}{10}$ ($j = 1, 2, \dots, 9$).

➤ Let $r_1 = \alpha_j + i\beta_j, r_2 = \alpha_j - i\beta_j$ for $\alpha_j = -\frac{j}{10}, \beta_j = -\frac{j}{10}$; ($j = 1, 2, \dots, 9$). The following graph $K^1(\alpha, \beta) = \{(x, y) \mid (x + \alpha_j)^2 + (y + \beta_j)^2 < 1\}$ shows that under which perturbation the equation (5) is SSO when the equation (4) is SSO.

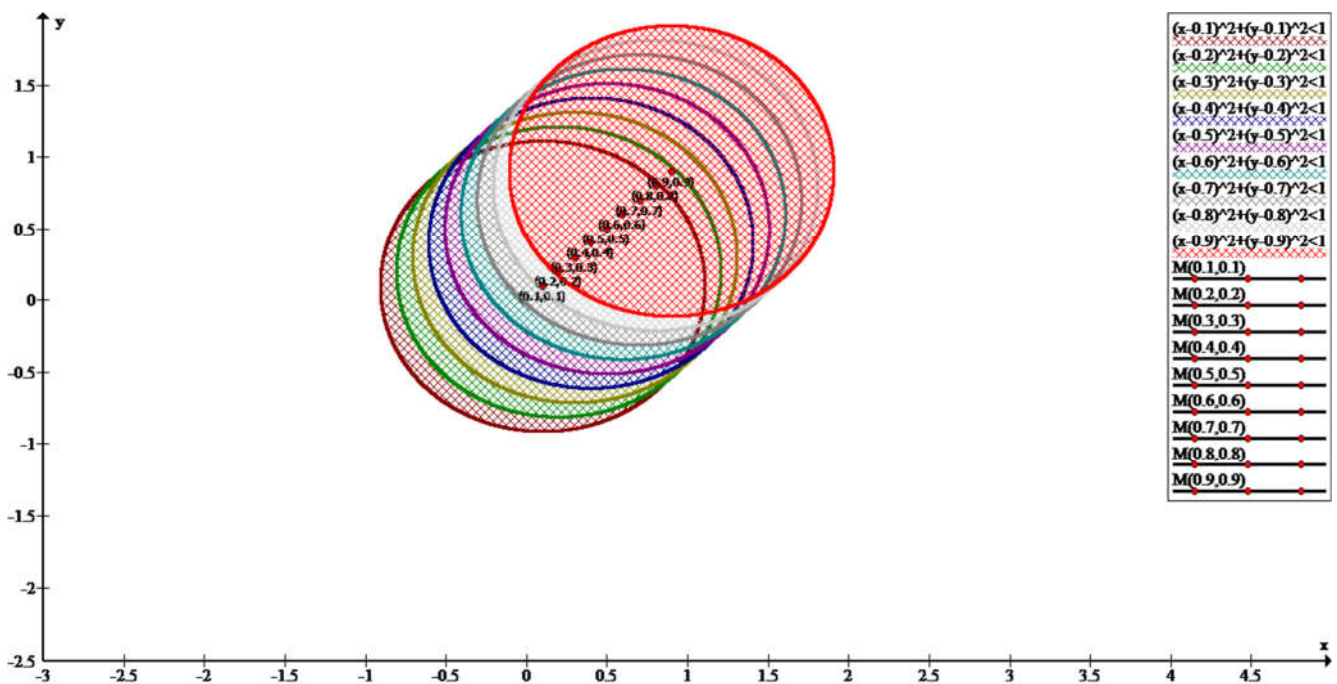


Figure 5. The graph of the unit disk $K^1(\alpha, \beta) = \{(x, y) \mid (x + \alpha_j)^2 + (y + \beta_j)^2 < 1\}$ for $\alpha_j, \beta_j = -\frac{j}{10}$ ($j = 1, 2, \dots, 9$).

- Let $r_1 = \alpha_j + i\beta_j, r_2 = \alpha_j - i\beta_j$ for $\alpha_j = -\frac{j}{10}, \beta_j = \frac{j}{10}; (j = 1, 2, \dots, 9)$. The following graph $K^1(\alpha, \beta) = \{(x, y) \mid (x + \alpha_j)^2 + (y + \beta_j)^2 < 1\}$ shows that under which perturbation the equation (5) is SSO when the equation (4) is SSO.

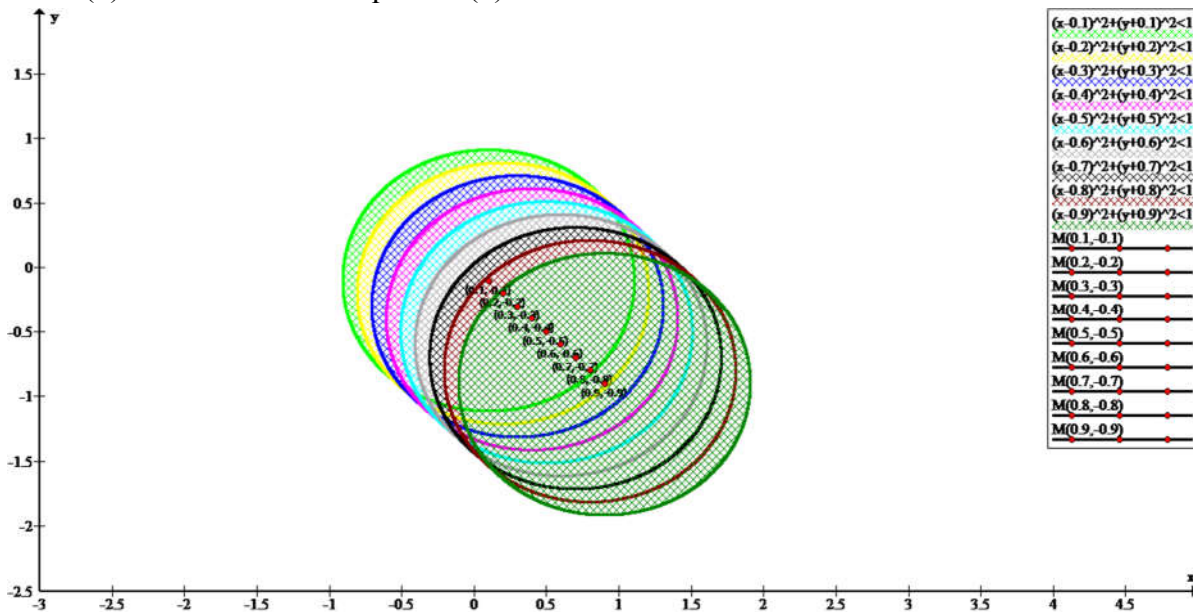


Figure 6. The graph of the unit disk $K^1(\alpha, \beta) = \{(x, y) \mid (x + \alpha_j)^2 + (y + \beta_j)^2 < 1\}$ for $\alpha_j = -\frac{j}{10}, \beta_j = \frac{j}{10}; (j = 1, 2, \dots, 9)$.

- Let $r_1 = \alpha_j + i\beta_j, r_2 = \alpha_j - i\beta_j$ for $\alpha_j = \frac{j}{10}, \beta_j = -\frac{j}{10}; (j = 1, 2, \dots, 9)$. The following graph $K^1(\alpha, \beta) = \{(x, y) \mid (x + \alpha_j)^2 + (y + \beta_j)^2 < 1\}$ shows that under which perturbation the equation (5) is SSO when the equation (4) is SSO.

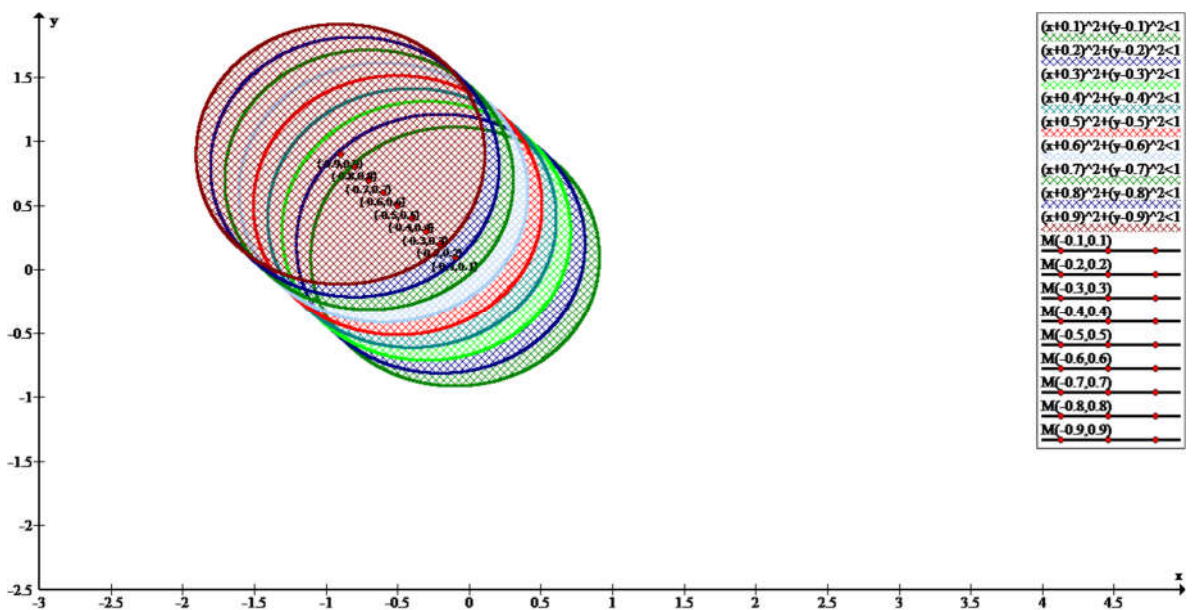


Figure 7. The graph of the unit disk $K^1(\alpha, \beta) = \{(x, y) \mid (x + \alpha_j)^2 + (y + \beta_j)^2 < 1\}$ for $\alpha_j = \frac{j}{10}, \beta_j = -\frac{j}{10}; (j = 1, 2, \dots, 9)$.

The obtained unit discs given in Figure 4-7 are shown in the same graph in Figure 8. The equation (5) is SSO for the points that are taken from the inside of each unit discs.

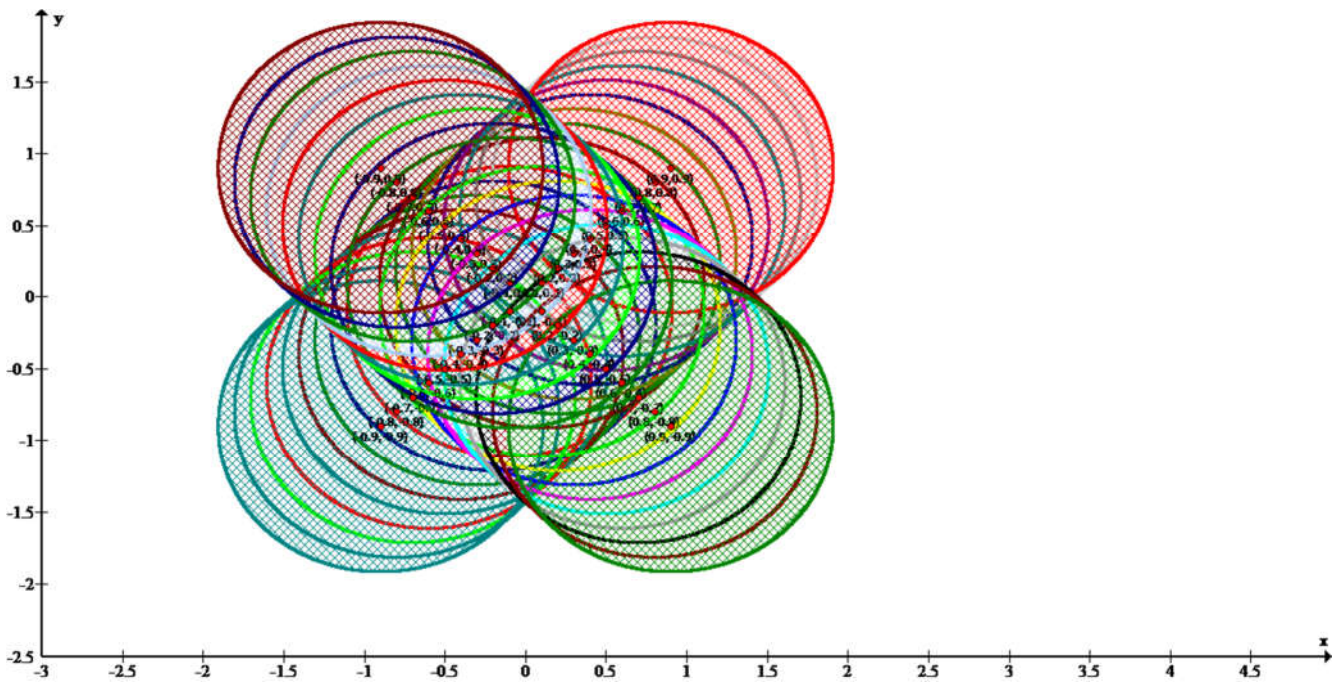


Figure 8. A graphical representation of the unit discs $K^1(\alpha, \beta)$ given in Figure 4-7 for $r_1 = \alpha_j + i\beta_j$, $r_2 = \alpha_j - i\beta_j$. According to Figure 3, the roots \hat{r}_1, \hat{r}_2 of the characteristic equation of (5) are given in Table 2, where $z_i = \frac{i}{10}, (i = 1, 2, \dots, 5)$.

Table 2. The values $\hat{r}_1, \hat{r}_2, \hat{r}$ and $\hat{\theta}$ for $r_1 = 0.5 + 0.5i$ and $r_2 = 0.5 - 0.5i$.

$(x, y) = (z_i, -z_i)$	$\hat{r}_1 = (\alpha + x) + i(\beta + y)$	$\hat{r}_2 = (\alpha + x) - i(\beta + y)$	$\hat{r} = \sqrt{(\alpha + x)^2 + (\beta + y)^2}$	$\hat{\theta} = \arctan\left(\frac{\beta + y}{\alpha + x}\right)$
$(z_1, -z_1)$	$0.6 + i0.4$	$0.6 - i0.4$	0,7211102551	33,690067526
$(z_2, -z_2)$	$0.7 + i0.3$	$0.7 - i0.3$	0,7615773106	23,1985905136
$(z_3, -z_3)$	$0.8 + i0.2$	$0.8 - i0.2$	0,8246211251	14,0362434679
$(z_4, -z_4)$	$0.9 + i0.1$	$0.9 - i0.1$	0,9055385138	6,3401917459
$(z_5, -z_5)$	$1 + i0$	$1 - i0$	1	0

In Figure 9, SSO variation of the equation (5) is given according to points, where $(x, y) \in K^1(\alpha, \beta)$ that are taken in from the inside of unit discs whose center is $M(-0.5, -0.5)$.

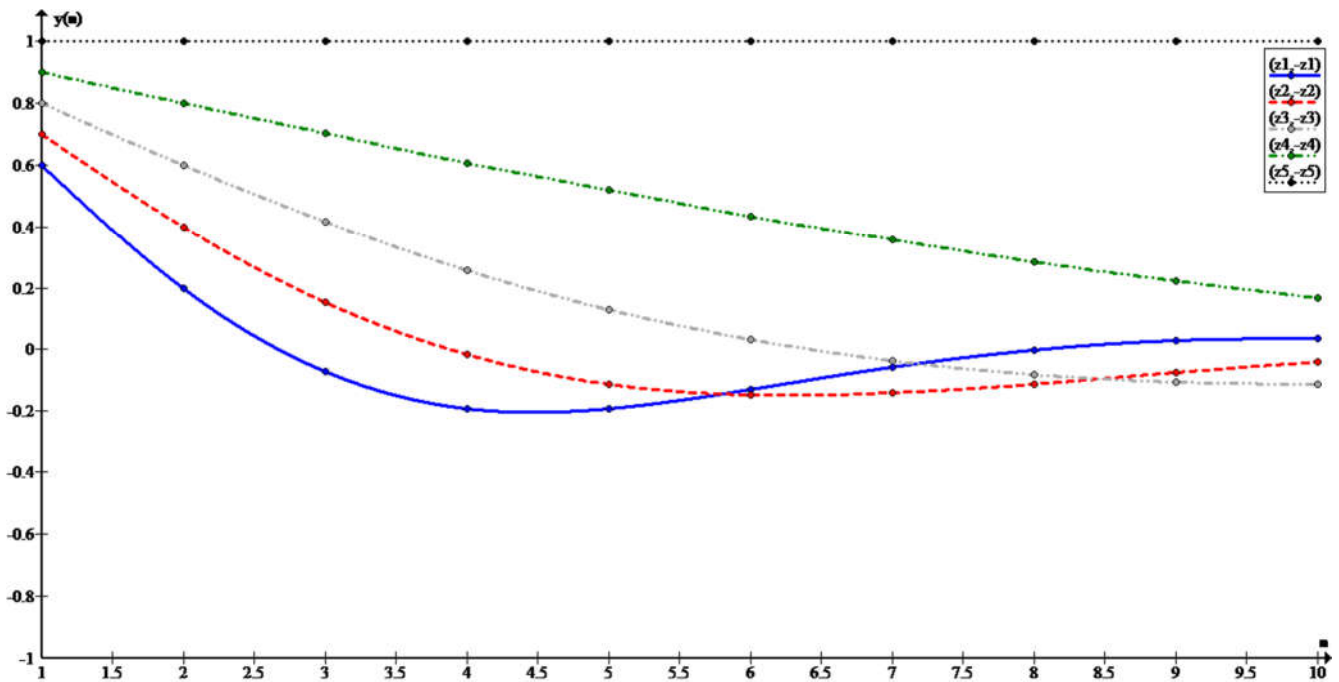


Figure 9. The representation of $y(n) = \hat{r}^n \cos(n\hat{\theta})$ for $r_1 = 0.5 + 0.5i, r_2 = 0.5 - 0.5i, x \in [1,10]$ and $y \in [-1,1]$.

Iterative Perturbation Equations of Second Order Difference Equations

In this section, let the difference equation that is SSO be given. Let us determine under which conditions each perturbation equation remains SSO when this equation is subjected to iterative perturbations.

Consider the following perturbation equation of (5)

$$\tilde{y}(n + 2) - (\tilde{r}_1 + \tilde{r}_2)\tilde{y}(n + 1) + \tilde{r}_1 \cdot \tilde{r}_2\tilde{y}(n) = 0. \tag{7}$$

The roots of the characteristic equation of (7) are $\tilde{r}_1 = \hat{r}_1 + h = (\hat{\alpha} + x) + i(\hat{\beta} + y) = \tilde{\alpha} + i\tilde{\beta}$, $\tilde{r}_2 = \hat{r}_2 + h = (\hat{\alpha} + x) - i(\hat{\beta} + y) = \tilde{\alpha} - i\tilde{\beta}$, where $h = x \pm iy$. The general solution of (7) is $\tilde{y}(n) = \tilde{r}^n \cos(n\tilde{\theta})$, where $\tilde{r} = \sqrt{(\hat{\alpha} + x)^2 + (\hat{\beta} + y)^2}$, $\tilde{\theta} = \tan^{-1}(\frac{\hat{\beta} + y}{\hat{\alpha} + x})$, $(\hat{\beta} + y) \neq 0$.

Note 3. Perturbation of equation (4) gives equation (5) and perturbation of equation (5) gives equation (7). If the perturbation is repeated in the same way, iterative perturbation equations are obtained.

The following theorem shows that for which perturbation equation (7) is SSO when equation (5) is SSO.

Theorem 4. Let the equation (5) be SSO. For $(x, y) \in \hat{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \hat{\alpha})^2 + (y + \hat{\beta})^2 < 1\}$, the perturbation equation (7) is SSO too.

Proof. Let the roots of the characteristic equation of (5) are $\hat{r}_1 = \hat{\alpha} + i\hat{\beta}$, $\hat{r}_2 = \hat{\alpha} - i\hat{\beta}$ and $(x, y) \in \hat{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta})$, where $\alpha, \beta \in \mathbb{R} (\beta \neq 0)$. The equation (5) is SSO, hence $|\hat{r}_{1,2}| = \hat{\alpha}^2 + \hat{\beta}^2 < 1$. The roots of the characteristic equation of (7) are $\tilde{r}_1 = (\hat{\alpha} + x) + i(\hat{\beta} + y)$, $\tilde{r}_2 = (\hat{\alpha} + x) - i(\hat{\beta} + y)$, for $(x, y) \in \hat{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta})$

$$(x + \hat{\alpha})^2 + (y + \hat{\beta})^2 < 1 \Rightarrow |\tilde{r}_{1,2}| < 1.$$

Thus, according the spectral criterion, the perturbation equation (7) is SSO.

Let us examine $(x, y) \in \hat{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta})$ numerically for $(|\hat{r}_{1,2}| = r < 1)$.

Example 3. Let $r_1 = 0.5 + 0.5i, r_2 = 0.5 - 0.5i, \alpha = 0.5$ and $\beta = 0.5$. Therefore

$$\hat{K}^1(0.5 + x, 0.5 + y) = \{(x, y) \mid (2x + 0.5)^2 + (2y + 0.5)^2 < 1\}.$$

Let us show $\widehat{K}^1(0.5 + x, 0.5 + y)$ region below:

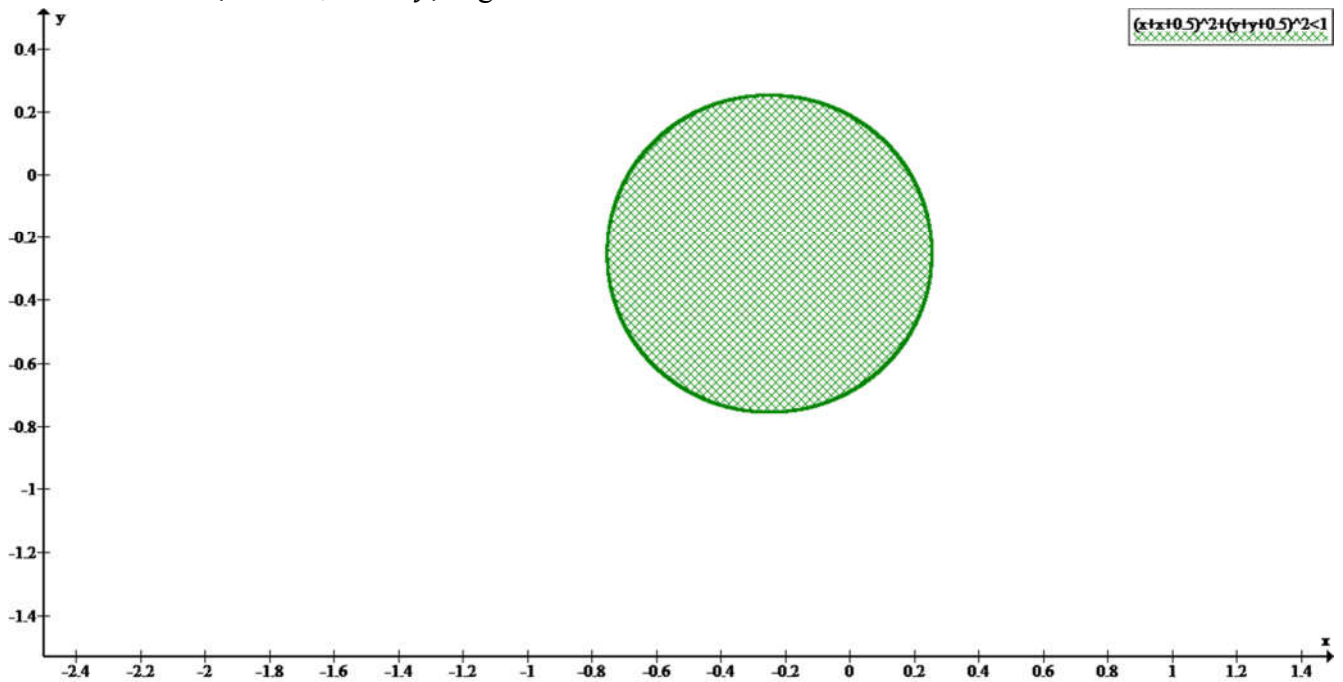


Figure 10. The graph of the unit disk $\widehat{K}^1(0.5 + x, 0.5 + y) = \{(x, y) | (x + 0.5)^2 + (y + 0.5)^2 < 1\}$ for $r_1 = 0.5 + 0.5i, r_2 = 0.5 - 0.5i$.

Now, the unit discs obtained in Figure 3 and Figure 10 are given in the same graph in Figure 11.

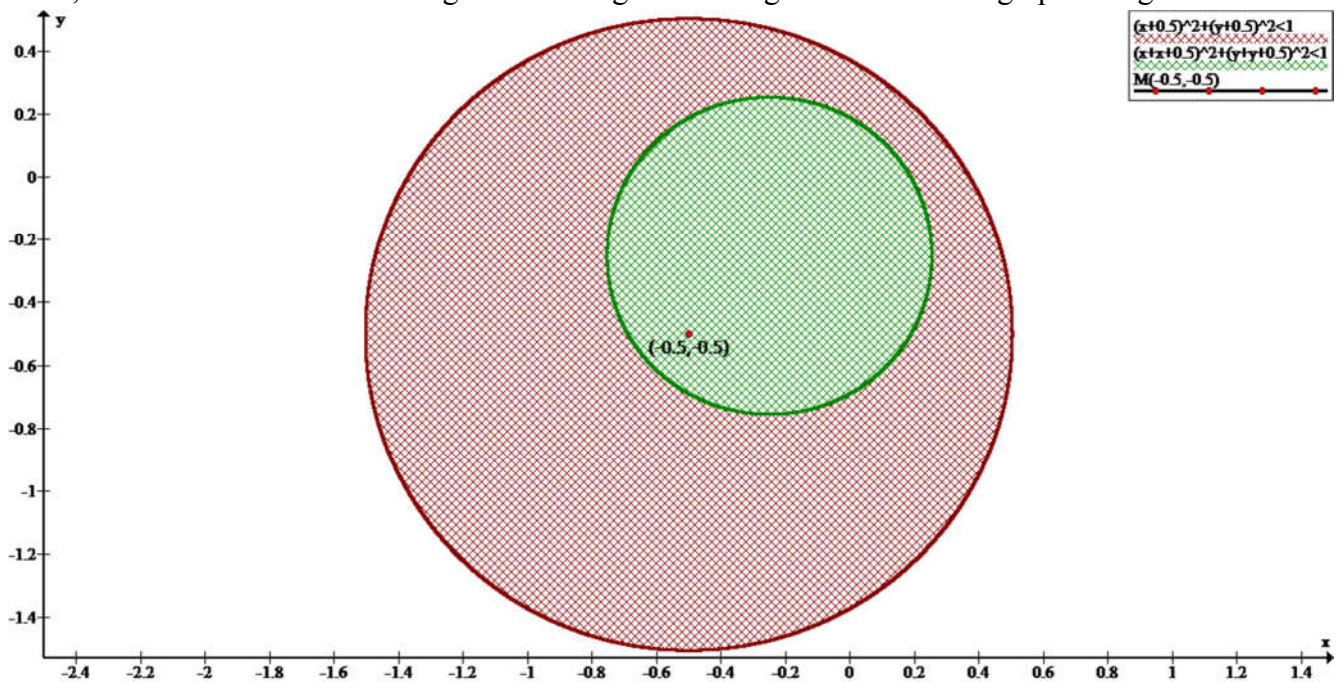


Figure 11. The unit discs obtained in Figure 3 and Figure 10 for $r_1 = 0.5 + 0.5i, r_2 = 0.5 - 0.5i$ are given in the same figure.

It is clearly seen from Figure 11, $\widehat{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta}) \subseteq K^1(\alpha, \beta)$.

By repeating perturbation of the equation (4), let's obtain the equations which are perturbation of each other and show them in Table 3-4 and Figure 12.

Table 3. The equations and perturbation equations of these equations.

	<i>Equation</i>	<i>Perturbation Equation</i>
1.	$x(n+2) - (r_1 + r_2)x(n+1) + r_1.r_2x(n) = 0$	$y(n+2) - (\hat{r}_1 + \hat{r}_2)y(n+1) + \hat{r}_1.\hat{r}_2y(n) = 0$
2.	$y(n+2) - (\hat{r}_1 + \hat{r}_2)y(n+1) + \hat{r}_1.\hat{r}_2y(n) = 0$	$\tilde{y}(n+2) - (\tilde{r}_1 + \tilde{r}_2)\tilde{y}(n+1) + \tilde{r}_1.\tilde{r}_2\tilde{y}(n) = 0$
3.	$\tilde{y}(n+2) - (\tilde{r}_1 + \tilde{r}_2)\tilde{y}(n+1) + \tilde{r}_1.\tilde{r}_2\tilde{y}(n) = 0$	$\bar{y}(n+2) - (\bar{r}_1 + \bar{r}_2)\bar{y}(n+1) + \bar{r}_1.\bar{r}_2\bar{y}(n) = 0$
4.	$\bar{y}(n+2) - (\bar{r}_1 + \bar{r}_2)\bar{y}(n+1) + \bar{r}_1.\bar{r}_2\bar{y}(n) = 0$	$\check{y}(n+2) - (\check{r}_1 + \check{r}_2)\check{y}(n+1) + \check{r}_1.\check{r}_2\check{y}(n) = 0$
5.	$\check{y}(n+2) - (\check{r}_1 + \check{r}_2)\check{y}(n+1) + \check{r}_1.\check{r}_2\check{y}(n) = 0$	$\dot{y}(n+2) - (\dot{r}_1 + \dot{r}_2)\dot{y}(n+1) + \dot{r}_1.\dot{r}_2\dot{y}(n) = 0$
6.	$\dot{y}(n+2) - (\dot{r}_1 + \dot{r}_2)\dot{y}(n+1) + \dot{r}_1.\dot{r}_2\dot{y}(n) = 0$	$\ddot{y}(n+2) - (\ddot{r}_1 + \ddot{r}_2)\ddot{y}(n+1) + \ddot{r}_1.\ddot{r}_2\ddot{y}(n) = 0$
7.	$\ddot{y}(n+2) - (\ddot{r}_1 + \ddot{r}_2)\ddot{y}(n+1) + \ddot{r}_1.\ddot{r}_2\ddot{y}(n) = 0$	$\vec{y}(n+2) - (\vec{r}_1 + \vec{r}_2)\vec{y}(n+1) + \vec{r}_1.\vec{r}_2\vec{y}(n) = 0$
8.	$\vec{y}(n+2) - (\vec{r}_1 + \vec{r}_2)\vec{y}(n+1) + \vec{r}_1.\vec{r}_2\vec{y}(n) = 0$	$\hat{y}(n+2) - (\hat{r}_1 + \hat{r}_2)\hat{y}(n+1) + \hat{r}_1.\hat{r}_2\hat{y}(n) = 0$
9.	$\hat{y}(n+2) - (\hat{r}_1 + \hat{r}_2)\hat{y}(n+1) + \hat{r}_1.\hat{r}_2\hat{y}(n) = 0$	$\bar{y}(n+2) - (\bar{r}_1 + \bar{r}_2)\bar{y}(n+1) + \bar{r}_1.\bar{r}_2\bar{y}(n) = 0$

Table 4. The characteristic roots and the unit discs regions of perturbation equations given in Table 3.

<i>The perturbed roots of characteristic equation for $h = x \pm iy$</i>	<i>The unit disk $\bar{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta})$</i>
$\hat{r}_1 = r_1 + h = (\alpha + x) + i(\beta + y) = \hat{\alpha} + i\hat{\beta}$, $\hat{r}_2 = r_2 + h = (\alpha + x) - i(\beta + y) = \hat{\alpha} - i\hat{\beta}$	$\bar{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \hat{\alpha})^2 + (y + \hat{\beta})^2 < 1\}$
$\tilde{r}_1 = \hat{r}_1 + h = (\hat{\alpha} + x) + i(\hat{\beta} + y) = \tilde{\alpha} + i\tilde{\beta}$, $\tilde{r}_2 = \hat{r}_2 + h = (\hat{\alpha} + x) - i(\hat{\beta} + y) = \tilde{\alpha} - i\tilde{\beta}$	$\bar{K}^1(\tilde{\alpha}, \tilde{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \tilde{\alpha})^2 + (y + \tilde{\beta})^2 < 1\}$
$\bar{r}_1 = \tilde{r}_1 + h = (\tilde{\alpha} + x) + i(\tilde{\beta} + y) = \bar{\alpha} + i\bar{\beta}$, $\bar{r}_2 = \tilde{r}_2 + h = (\tilde{\alpha} + x) - i(\tilde{\beta} + y) = \bar{\alpha} - i\bar{\beta}$	$\bar{K}^1(\bar{\alpha}, \bar{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \bar{\alpha})^2 + (y + \bar{\beta})^2 < 1\}$
$\check{r}_1 = \bar{r}_1 + h = (\bar{\alpha} + x) + i(\bar{\beta} + y) = \check{\alpha} + i\check{\beta}$, $\check{r}_2 = \bar{r}_2 + h = (\bar{\alpha} + x) - i(\bar{\beta} + y) = \check{\alpha} - i\check{\beta}$	$\bar{K}^1(\check{\alpha}, \check{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \check{\alpha})^2 + (y + \check{\beta})^2 < 1\}$
$\dot{r}_1 = \check{r}_1 + h = (\check{\alpha} + x) + i(\check{\beta} + y) = \dot{\alpha} + i\dot{\beta}$, $\dot{r}_2 = \check{r}_2 + h = (\check{\alpha} + x) - i(\check{\beta} + y) = \dot{\alpha} - i\dot{\beta}$	$\bar{K}^1(\dot{\alpha}, \dot{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \dot{\alpha})^2 + (y + \dot{\beta})^2 < 1\}$
$\ddot{r}_1 = \dot{r}_1 + h = (\dot{\alpha} + x) + i(\dot{\beta} + y) = \ddot{\alpha} + i\ddot{\beta}$, $\ddot{r}_2 = \dot{r}_2 + h = (\dot{\alpha} + x) - i(\dot{\beta} + y) = \ddot{\alpha} - i\ddot{\beta}$	$\bar{K}^1(\ddot{\alpha}, \ddot{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \ddot{\alpha})^2 + (y + \ddot{\beta})^2 < 1\}$
$\vec{r}_1 = \ddot{r}_1 + h = (\ddot{\alpha} + x) + i(\ddot{\beta} + y) = \vec{\alpha} + i\vec{\beta}$, $\vec{r}_2 = \ddot{r}_2 + h = (\ddot{\alpha} + x) - i(\ddot{\beta} + y) = \vec{\alpha} - i\vec{\beta}$	$\bar{K}^1(\vec{\alpha}, \vec{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \vec{\alpha})^2 + (y + \vec{\beta})^2 < 1\}$
$\hat{r}_1 = \vec{r}_1 + h = (\vec{\alpha} + x) + i(\vec{\beta} + y) = \hat{\alpha} + i\hat{\beta}$, $\hat{r}_2 = \vec{r}_2 + h = (\vec{\alpha} + x) - i(\vec{\beta} + y) = \hat{\alpha} - i\hat{\beta}$	$\bar{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \hat{\alpha})^2 + (y + \hat{\beta})^2 < 1\}$
$\bar{r}_1 = \hat{r}_1 + h = (\hat{\alpha} + x) + i(\hat{\beta} + y) = \bar{\alpha} + i\bar{\beta}$, $\bar{r}_2 = \hat{r}_2 + h = (\hat{\alpha} + x) - i(\hat{\beta} + y) = \bar{\alpha} - i\bar{\beta}$	$\bar{K}^1(\bar{\alpha}, \bar{\beta}) = \{(x, y) \mid (x + \bar{\alpha})^2 + (y + \bar{\beta})^2 < 1\}$

Let's show the unit discs regions obtained from Table 3 and Table 4 in the graph below.

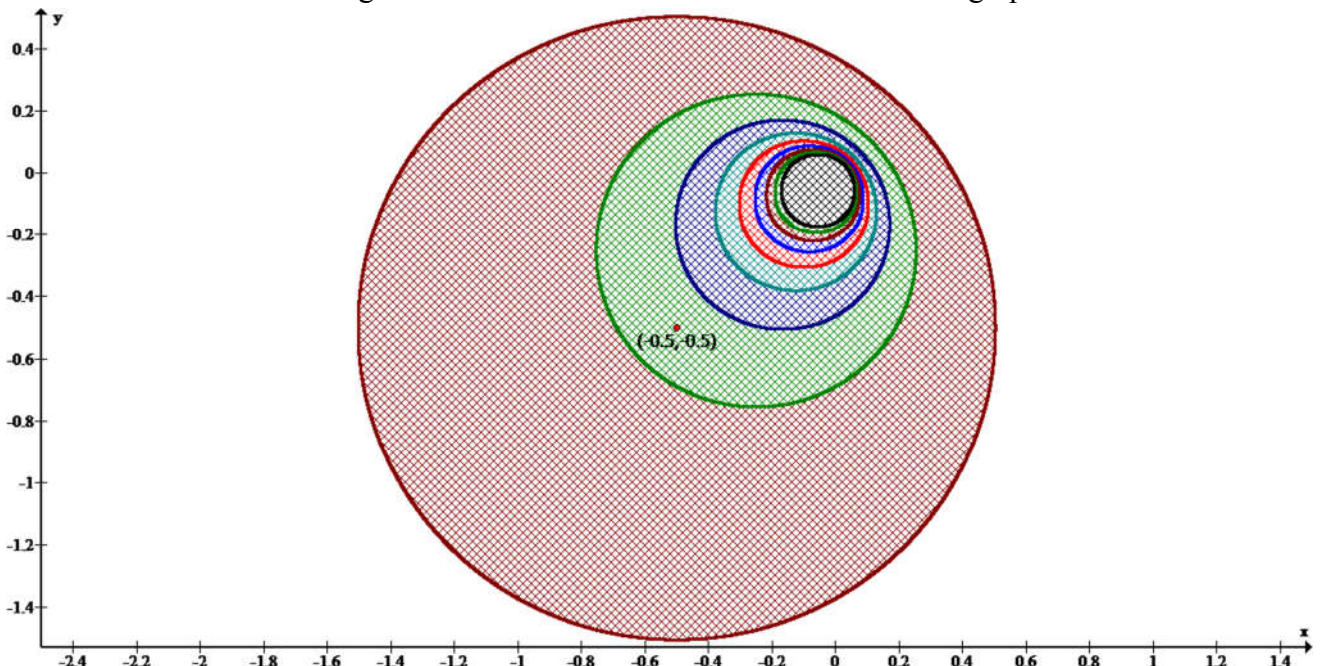


Figure 12. The unit discs regions formed by the perturbation equations obtained in Table 3 and Table 4.

It is clearly seen from Figure 12, $\bar{K}^1(\bar{\alpha}, \bar{\beta}) \subseteq \dots \subseteq \bar{K}^1(\tilde{\alpha}, \tilde{\beta}) \subseteq \bar{K}^1(\hat{\alpha}, \hat{\beta}) \subseteq K^1(\alpha, \beta)$.

CONCLUSION

In this study, the conditions under which second order difference equations are both Schur stable and oscillatory (SSO) are examined. Since it is easier to calculate the roots of the characteristic equation for systems of second-order difference equations than to calculate the Schur stability parameter, the results in this study are examined depending on the spectral criteria. Additionally, the stability regions of the second-order difference equations are determined. The obtained results are analyzed with numerical examples.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their sincere thanks for the reviewer's suggestions and comments.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Agarwal RP, 2000. Difference equations and inequalities. Marcel Dekker. New York.
- Akın Ö, Bulgak H, 1998. Linear difference equations and stability theory. Selçuk University Research Centre of Applied Mathematics. Konya. (Turkish).
- Asteris PG, Chatzarakis GE, 2017. Oscillation tests for difference equations with non-monotone arguments. Dynamics Continuous Discrete and Impulsive Systems Series A Mathematical Analysis 24(4): 287–302.
- Braverman E, Karpuz B, 2011. On oscillation of differential and difference equations with non-monotone delays. Applied Mathematics and Computation 218: 3880– 3887.
- Chatzarakis GE, Shaikhet L, 2017. Oscillation criteria for difference equations with non-monotone arguments. Advances in Difference Equations 62: 16pages.
- Daganzo CF, 1994. The cell transmission model: a dynamic representation of highway traffic consistent with the hydrodynamic theory. Transportation Research Part B. 28(4): 269-287.
- Duman A, Aydın K, 2011. Sensitivity of Schur stability of monodromy matrix. Applied Mathematics and Computation 217: 6663–6670.
- Duman A, Aydın K, 2011. Sensitivity of Schur stability of systems of linear difference equations with constant coefficients. Scientific Research and Essays 6(28): 5846–5854.
- Duman A, Aydın K, 2014. Some results on the sensitivity of Schur stability of linear difference equations with constant coefficients. Konuralp Journal of Mathematics 2(2): 22–34.
- Duman A, Çelik GK, Aydın K, 2016. Sensitivity of Schur stability of systems of linear difference equations with periodic coefficients. New Trends in Mathematical Sciences 4(2): 159-173.
- Duman A, Çelik GK, Aydın K, 2018. Sensitivity of Schur Stability of the k-th order difference equation system $y(n + k) = Cy(n)$. Konuralp Journal of Mathematics 6(1): 7-13.
- Elaydi SN, Sacker RJ, 2005. Global stability of periodic orbits of non-autonomous difference equations and population biology. Journal of Differential Equations 208(1): 258–273.
- Elaydi SN, 2005. An introduction to difference equations. Springer. New York.
- Györi I, Ladas G, 1991. Oscillation theory of delay differential equations. Clarendon press. Oxford.
- Neusser K, 2019. Difference equations for economist. [http://neusser.ch/downloads/Difference Equations.pdf](http://neusser.ch/downloads/Difference%20Equations.pdf). (Accessed 11 November 2020)

Determination of Total Xylanase Activities of Various Thermophilic Bacteria

Orhan ULUCAY^{1*}, Arzu GORMEZ², Cem OZIC³

ABSTRACT: Enzymes, which have important metabolic functions in living organisms, make important contributions to human beings by using them for different purposes in many areas such as economy, food, agriculture, and industry as part of the daily lives. Today, enzymes, whose production and usage purposes, are increasing, were generally obtained from plant, animal, and microorganisms. In this study; the enzyme producing isolates and their total xylanase activities of various thermophilic bacteria (*Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp. and *Geobacillus kaustophilus*) isolated from previously hot springs in Eastern and Southeastern Anatolia regions were determined. In the enzyme activity of the isolates, 47 isolates showed xylanase activity less than 0.1 U/ml, 31 isolates were between 0.1 U/ml and 0.2 U/ml. However, 5 isolates of *B. subtilis* [BTX3 (0.206 U/ml), BTX6 (0.286 U/ml), BTX22 (0.2 U/ml), BTX27 (0.203 U/ml) and BTX32 (0.206 U/ml)] were exhibited highest activity for xylanase enzyme production.

Keywords: *Bacillus subtilis*, xylanase, enzyme activity, hot springs, thermophilic bacteria

¹Orhan ULUCAY ([Orcid ID: 0000-0002-0820-5372](https://orcid.org/0000-0002-0820-5372)), Department of Bioengineering, Kafkas University, 36100, Kars, Turkey

²Arzu GORMEZ ([Orcid ID: 0000-0003-3246-1824](https://orcid.org/0000-0003-3246-1824)), Department of Molecular Biology and Genetics, Erzurum Technical University, 25050, Erzurum, Turkey

³Cem OZIC ([Orcid ID: 0000-0002-2086-8515](https://orcid.org/0000-0002-2086-8515)), Department of Medical Biology, Kafkas University, Medicine Faculty, 36100, Kars, Turkey.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Orhan ULUCAY, e-mail: orhanulucay@gmail.com;

*This study was produced from Orhan ULUCAY's PhD thesis.

INTRODUCTION

The bacteria are a unique group of microorganisms that thrive under extreme environmental conditions such as high/low temperature that most life forms difficult to survive in. It is thus not surprising that these microorganisms have developed important strategies and mechanisms to survive in different temperature conditions. In this context, the bacteria are categorized as psychrophiles, mesophile, thermophiles and hyperthermophiles according to temperature requirements. (Baltaci et al., 2017). Thermophilic bacteria are commonly found in soil, hot spring sources and volcanic habitats (Zeikus, 1979). They, capable of optimal reproduction at a growing temperature above 60°C, are more resistant to both stable protein structures and various chemicals (Madigan et al., 2006). Thus, the thermophilic bacteria and their enzymes are often used in many industrial areas.

Commercial enzyme production is a popular research area because of their faster reproduction, easy production, ability to reproduce in extreme conditions, alternative to chemicals and cell structures is a very popular in study by scientists (Aehle, 2007; Hubbe, 2016). The usage of enzyme as biocatalysts in industrial processes protects both nature and human beings from the costs and harms of many toxic compounds and solvents. In general, mesophilic enzymes are used in some studies that can cause various degradation such as substrate solubility, low viscosity, disruption of high temperature steps and the risk of contamination (Demarche et al., 2012; Kiran et al., 2006). However, the use of enzymes that are active at high temperatures compared to mesophilic ones are more compatible in pre-processing and reduces the cost by eliminating the need for cooling processes required for enzymatic processes. The usage of thermophilic enzymes increase interest in industrial processes because of their activity and stability at high temperatures and lead to the development of a biologically based economy.

Cellulose, hemicellulose and lignin are the key components of plant cell walls, and at the same time these components have the potential to be converted into useful final products such as bioethanol, xylitol, and other simple sugars (Ding et al., 2018; Kulkarni et al., 1999; Subramaniyan and Prema, 2002). Hemicellulosic structures are the secondary component derived from lignocellulosic agricultural residues. Hemicellulose forms over 30% of the dry weight of terrestrial plants and consist mainly of xylans used in the production of xylooligosaccharides (Krengel and Dijkstra, 1996). Xylans are polysaccharides composed of β -1,4-coupled xylopyranose units. One of the most important enzymes that can hydrolyze this structure is the 1,4- β -endo xylanase (EC 3.2.1.8) enzymes. Xylans, one of the main components of plant cell walls, especially constitute the main food source of farm animals. In addition, they are the raw material of industrial products encountered in baking bread making, paper pulp making and bleaching processes in the industrial and food sector. Therefore nowadays, the use of microbial enzymes that degrade xylans has become very popular and the thermophilic xylanase enzyme has also a highly commercially important position at this point (Drout et al., 2019).

In this study, it was aimed to determine the 1,4- β -endo xylanase enzyme activities of 83 thermophilic bacteria obtained from some Eastern and Southeastern Anatolia hot springs (Pasinler, Hasanabdal, Hista, Diyadin, Davut, Köprü, Dargecit and Guclukonak), that were isolated and identified in previous studies (Ulucay et al., 2021). Thus, the xylanases obtained from these thermophilic microorganisms will be have the opportunity to be used in industrial processes and fields that are carried out in high temperature and pH processes with further studies.

MATERIAL AND METHODS

Bacterial Isolates

The bacteria isolated and identified earlier from thermal hot springs in the Eastern and Southeastern provinces of Turkey including Agri (Diyadin, Davut, and Kopru), Erzurum (Pasinler), Van

(Hasanabdal), Siirt (Hista), Mardin (Dargecit) and Sirnak (Guclukonak) were used in this study (Ulucay, 2018; Ulucay et al., 2021).

Determination of Enzyme Activities

All of the isolates were streaked on an agar medium containing 10 g xylan, 2 g tryptone, 15 g agar, 2 g yeast extract, 2 g KH_2PO_4 , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and the xylanase activity of the isolates that form a transparent zone on the agar plate was recorded as positive (Ding et al., 2004).

Enzyme Assays

Xylanase activities of isolates were determined spectrophotometrically by measuring the number of water-soluble compounds as a result of the hydrolysis of azurine cross-linked birch xylan (Megazyme, Ireland). The liquid LB medium containing xylan was inoculated with fresh culture at pH 7.0, and cultures were developed for 24 hours at 55°C, 250 rpm. Bacterial isolates were centrifuged at +4°C and 6000 rpm for 20 minutes. The culture supernatant precipitated by the addition of v/v cold ethanol (96%) at -20°C overnight and then, it was centrifuged at +4°C and 8000 rpm for 20 minutes. The enzyme precipitate collected at the bottom was dissolved in sodium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8) and it was obtained a total enzyme solution of 250 ml (Srivastava et al., 1987). According to dinitro salicylic acid (DNS) method was used to determine enzyme activity (Miller GL, 1959). The assay mixture containing 0.9 ml substrate solution and 0.1 ml suitably diluted enzyme solution with oat spelt xylan 1% (w/v) in the Hungate tube was incubated at 65°C for 1 hour and the reaction was stopped by addition of 1 ml DNS reagent. Then, the reaction was boiled for 5 min, and when the mixture was reached room temperature, the absorption was measured at 540 nm with spectrophotometer (ACTG Gene UVS-99). One unit (U) of xylanase activity was defined as the amount of enzyme that catalyzes the release of 1 μmol of the xylose equivalent per minute (Ding et al., 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, firstly, the xylanase enzyme activities of the isolates were determined and it was seen that all isolates had xylanase activity (Table 1). The bacterial isolates exhibiting xylanase activity grew optimally at 60°C and pH 7. Therefore, these isolates were evaluated as thermophile xylanases (Ulucay et al., 2021).

The enzyme activity results of the isolates have been presented in Fig.1. As seen in Fig.1, 47 isolates were exhibited xylanase activity less than 0.1 U/ml, 31 isolates were between 0.1 U/ml and 0.2 U/ml, 5 isolates [BTX3 (0.206 U/ml), BTX6 (0.286 U/ml), BTX22 (0.2 U/ml), BTX27 (0.203 U/ml) and BTX32 (0.206 U/ml)] were greater than 0.2 U/ml.

Table 1 The bacterial isolates used for assay of enzyme activities (Ulucay et al., 2021)

Isolate Code	Bacterial Isolates
BTX1, BTX2, BTX3, BTX4, BTX5, BTX6, BTX7, BTX8, BTX9, BTX10, BTX11, BTX12, BTX13, BTX14, BTX15, BTX22, BTX23, BTX24, BTX25, BTX26, BTX27, BTX28, BTX30, BTX31, BTX32, BTX33, BTX34, BTX35, BTX48, BTX60, BTX61, BTX81, BTX78	<i>Bacillus subtilis</i>
BTX16, BTX17, BTX18, BTX19, BTX20, BTX21, BTX29, BTX36, BTX37, BTX38, BTX39, BTX40, BTX41, BTX82	<i>Bacillus licheniformis</i>
BTX42, BTX43, BTX44, BTX45, BTX46, BTX47, BTX49, BTX50, BTX51, BTX52, BTX69, BTX70, BTX71, BTX77, BTX80	<i>Geobacillus kaustophilus</i>
BTX53, BTX54, BTX55, BTX56, BTX57, BTX58, BTX59, BTX72, BTX73, BTX79	<i>Bacillus</i> sp.
BTX62, BTX63, BTX64, BTX65, BTX66, BTX67, BTX68, BTX74, BTX75, BTX76, BTX83	<i>Bacillus coagulans</i>

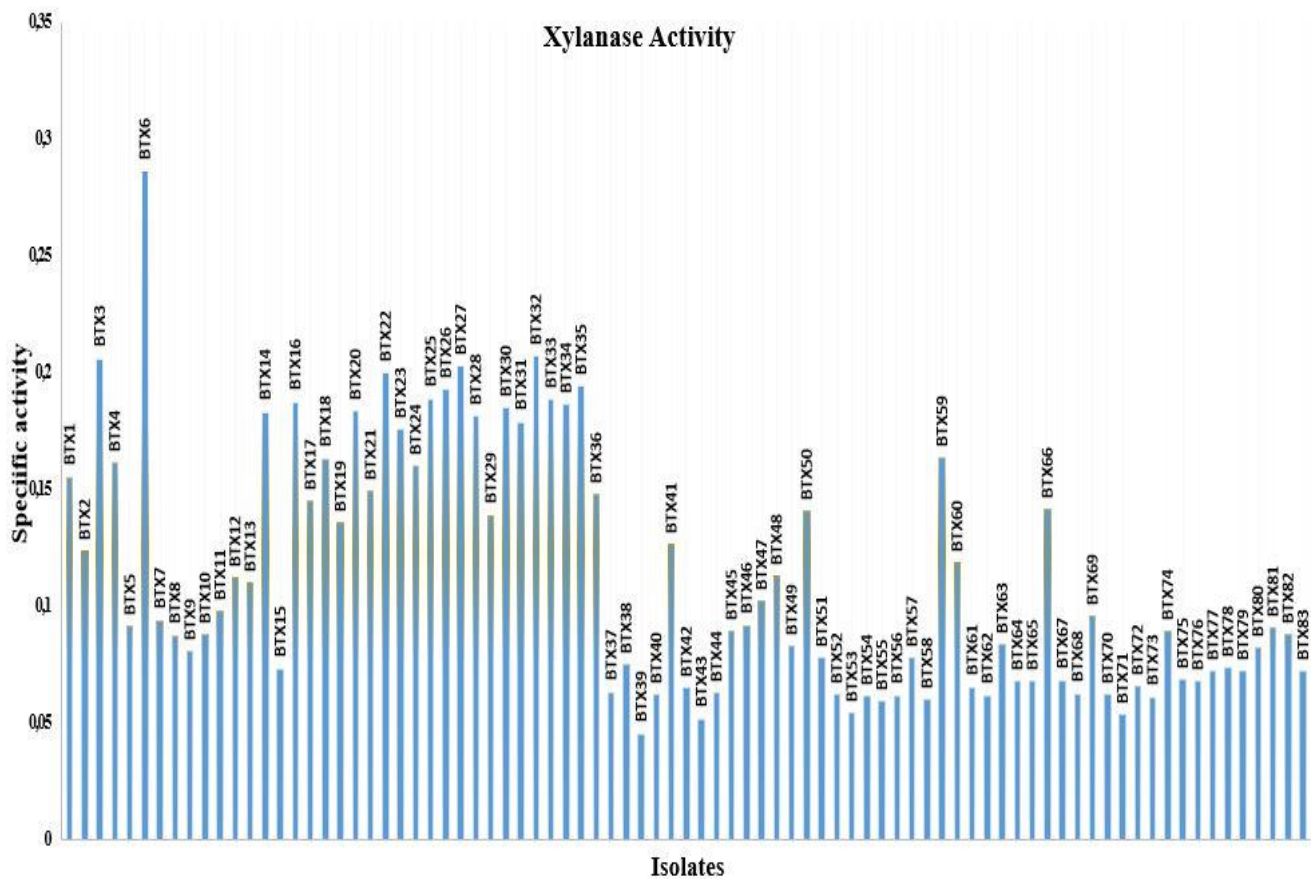


Figure 1 Total xylanase activities of isolates

Microbial enzymes are in a very important position in terms of being resistant to extreme (such as high temperature) conditions. Enzymes obtained from thermophilic microorganisms are widely used in fields such as industry. Because extremophile organisms are not affected by the pH, temperature and other negative factors of the environment, the stability and activities of the enzymes produced by them are also very high. Thermophilic microorganisms have the ability to reproduce under extreme conditions. Therefore, they can produce a wide variety of usable products even under unfavorable conditions. Many enzymes such as cellulase, xylanase, catalase, lactase, lipase, sucrase, pullunase, pectinase, amylase, and protease are obtained recombinantly from thermophilic microorganisms and are widely used in the industry. These stable and durable enzymes are widely used in many fields such as textile, food, detergent, bread dough, paper bleaching, beverage industry and health (pharmaceutical) (Niehaus et al., 1999). The high temperature values of the hot springs in the regions discussed in this study also make the enzymes to be preferred at this point important. Therefore, in the study; the focus has been on the xylanase enzyme, which is frequently used and sought in the industry, and higher efficiency xylanases that can be used commercially in the market have been determined.

Bacillus species are a common microorganism that can be isolated from many environments, including hot springs. Especially considering the enzyme stability and growth performance in extreme conditions, they attract the attention of researchers in enzyme production. Besides these enzymes obtained from *Bacillus* spp. meet the enzyme needs in many industrial fields such as starch, pastry, bread, detergent, fruit juice, paper bleaching, textile and beer making (Niehaus et al., 1999). Although some fungi are used in the production of xylanase, which is one of the most important enzymes widely used in the industry, it is known that bacteria, especially *Bacillus* species, are of great importance (de Sousa Gomes et al., 2017). It is known that many *Bacillus* species such as *B. cereus* (Roy and Habib,

2009), *Bacillus* sp. (Hiremath and Patil, 2011), *B. subtilis*, *B. licheniformis* and *Geobacillus thermodenitrificans* produce xylanase (Guo et al., 2012). *B. subtilis* is one of the most preferred thermophilic *Bacillus* species for the commercially produced xylanase enzyme (Banka et al., 2014). Haddar et al. (2012) stated the xylanase activity as 7.23 IU/mL under optimized conditions from a *Bacillus* they isolated. Besides, Irbe et al. (2014) determined the highest xylanase activity from a mold they isolated as 9.4 IU/mL (Haddar et al., 2012; Irbe et al., 2014). The isolated microorganism (*Bacillus* spp.) showed the lowest activity on the tested agricultural wastes as 25 IU/mL on the corncob. In addition, it has xylanase activity in the range of 33-37 IU/mL with other agricultural wastes (Kocabas vd. (2017). Ammoneh et al. (2014) reported that optimum pH and temperature values for xylanase activities were 7.0 and 55°C for three *bacilli* namely, SY30A, 6.0 and 60°C for SY185C and SY190E, and specific activities were 1157, 915 and 794 U/g for SY30A, SY185C and SY190E xylanases, respectively (Ammoneh et al., 2014). Guler F. (2020) Isolates showing high xylanase activity (*Bacillus*), isolate no. 39 and 67 showed xylanase activity of 13.33 and 5.57 U/mL, respectively (Guler 2020). In parallel with the information given in the literature, the specific enzyme activity of isolates determined that 47 isolates were less than 0.1 U/ml, 31 isolates were between 0.1 - 0.2 U/ml, and 5 isolates were less than 0.2 U/ml.

It has been reported that the bacteria showed optimum activity in different pH ranges by many researchers. For example, Dusterhoft et al. (1997) reported that the xylanase enzyme got from *Sulfolobus solfataricus* at pH 7.0 has optimum activity (Düsterhöft et al., 1997); Wainø and Ingvorsen (2003) reported that the optimum activity value of the xylanase enzyme got from *Humicola insolens* is between pH 6.0-6.5 (Wainø and Ingvorsen, 2003); Cannio et al. (2004) reported that the optimum activity of the xylanase enzyme got from the *Halorhabdus utahensis* isolate is at pH 7.0 (Cannio et al., 2004); Kumar et al. (2004) stated that the optimum activity of *Bacillus* living in an alkaline environment is pH 8.0 (Kumar et al., 2004); Annamalai et al. (2009) reported that the xylanase isolated from *B. subtilis* they isolated from the river water edge had the highest enzyme activity in the pH range 7.0-10.0 (Annamalai et al., 2009). At the same time some *Bacillus* species have also been reported in the literature with optimum activity in different pH ranges (5.0, 5.5, 5.6, 6.0, 6.5 and 7.0) (Avcioglu et al., 2005; Gallardo et al., 2004). Guler FM (2020) determined the optimum pH as 8 in two separate samples in study (Guler 2020).

In the literature, it has been observed that the activity of the xylanase enzyme was in different temperature scales. Enzymes are required in some processes at high temperatures, and in some studies that require these enzymes to be active at these high temperatures, heat treatment is desired. For this reason, enzymes active in thermophilic environment have been preferred more than mesophilic ones. As the use of enzymes instead of chemical catalysts in the industry becomes widespread, the damage to the environment has decreased significantly and enzymes have become a very important ecological alternative at this point. As thermophilic enzymes continue to be discovered, they will be used in more processes as biocatalysts, and their effects will be seen both environmentally and economically in the long term.

CONCLUSIONS

Bacillus spp. are known to be an important xylanase producer, especially *B. cereus*, *B. subtilis* and *B. licheniformis*, in previous studies. Therefore, it has been determined to enzyme activities of various thermophilic isolates isolated from different hot springs in this study. It has been found that *B. subtilis* exhibited highest activity for xylanase enzyme production. At the same time, it is thought to the enzyme

had the ideal pH property that would easily adapt to the feed industry, paper industry, bread making, and other fields.

Conflict of Interest

The authors declare that they have contributed equally to the article.

Author's Contributions

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

REFERENCES

- Aehle W, 2007. Enzymes in industry: production and applications: John Wiley, Sons.
- Ammonieh H, Harba M, Akeed Y, Al-Halabi M, Bakri Y, 2014. Isolation and identification of local *Bacillus* isolates for xylanase biosynthesis. Iranian journal of microbiology, 62, 127-132.
- Annamalai N, Thavasi R, Jayalakshmi S, Balasubramanian T, 2009. Thermostable and alkaline tolerant xylanase production by *Bacillus subtilis* isolated from marine environment. Indian Journal of Biotechnology 8(3):291-297
- Avcioglu B, Eyupoglu B, Bakir U, 2005. Production and characterization of xylanases of a *Bacillus* strain isolated from soil. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 211, 65-68.
- Baltaci MO, Genc B, Arslan S, Adiguzel G, Adiguzel A, 2017. Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Geothermal Areas in Turkey and Preliminary Research on Biotechnologically Important Enzyme Production. Geomicrobiology Journal, 341, 53-62.
- Banka AL, Albayrak Guralp S, Gulari E, 2014. Secretory Expression and Characterization of Two Hemicellulases, Xylanase, and β -Xylosidase, Isolated from *Bacillus Subtilis* M015. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1748, 2702-2710.
- Cannio R, Di Prizito N, Rossi M, Morana A, 2004. A xylan-degrading strain of *Sulfolobus solfataricus*: isolation and characterization of the xylanase activity. Extremophiles, 82, 117-124.
- De Sousa Gomes K, Maitan-Alfenas GP, de Andrade LGA, Falkoski DL, Guimarães VM, Alfenas AC, de Rezende ST, 2017. Purification and characterization of xylanases from the fungus *Chrysosporthe cubensis* for production of xylooligosaccharides and fermentable sugars. Applied biochemistry and biotechnology, 1822, 818-830.
- Demarche P, Junghanns C, Nair RR, Agathos SN, 2012. Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship. Biotechnology Advances, 305, 933-953.
- Ding C, Li M, Hu Y, 2018. High-activity production of xylanase by *Pichia stipitis*: purification, characterization, kinetic evaluation and xylooligosaccharides production. International journal of biological macromolecules, 117, 72-77.
- Ding CH, Jiang ZQ, Li XT, Li LT, Kusakabe I, 2004. High activity xylanase production by *Streptomyces olivaceoviridis* E-86. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 201, 7-10.
- Drout RJ, Robison L, Farha OK, 2019. Catalytic applications of enzymes encapsulated in metal-organic frameworks. Coordination Chemistry Reviews, 381, 151-160.
- Dusterhoft EM, Linssen VAJM, Voragen AGJ, Beldman G, 1997. Purification, characterization, and properties of two xylanases from *Humicola insolens*. Enzyme and Microbial Technology, 206, 437-445.
- Gallardo O, Diaz P, Pastor FI, 2004. Cloning and characterization of xylanase A from the strain *Bacillus* sp. BP-7: comparison with alkaline pI-low molecular weight xylanases of family 11. Current Microbiology, 484, 276-279.

- Guler F, 2020. Optimization of Xylanase Production from Diverse Agricultural Wastes by Indigenous Isolates of *Bacillus* Species. Ankara University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Doctoral Thesis (Printed).
- Guo G, Liu Z, Xu J, Liu J, Dai X, Xie D, Zheng K, 2012. Purification and characterization of a xylanase from *Bacillus subtilis* isolated from the degumming line. *Journal of basic microbiology*, 524, 419-428.
- Haddar A, Driss D, Frikha F, Ellouz-Chaabouni S, & Nasri M, 2012. Alkaline xylanases from *Bacillus mojavensis* A21: production and generation of xylooligosaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 514, 647-656.
- Hiremath Ks, Patil Cs, 2011. Isolation, production and characterization of alkali thermostable xylanase from newly isolated *Bacillus* sp. *International Journal of Biotechnology Applications*, 3, 48-51.
- Hubbe MA, 2016. Catalysts inspired by life. *Biofuel Research Journal*, 33, 430.
- Irbe I, Elisashvili V, Asatiani MD, Janberga A, Andersone I, Andersons B, Grinins, J, 2014. Lignocellulolytic activity of *Coniophora puteana* and *Trametes versicolor* in fermentation of wheat bran and decay of hydrothermally modified hardwoods. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 86, 71-78.
- Kiran OE, Comlekcioglu U, Dostbil N, 2006. Some microbial enzymes and their use in industry. *Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal of Science and Engineering*, 91, 12-19.
- Kocabas A, Gümüştaş N, Gönek S, 2017. Screening of Microorganisms Producing Xylanase from Soil and Partial Characterization of Xylanase. *Karaelmas Journal of Science and Engineering*, 7 (2), 503-508.
- Krengel U, Dijkstra BW, 1996. Three-dimensional Structure of Endo-1, 4- β -xylanase I from *Aspergillus niger*: Molecular Basis for its Low pH Optimum. *Journal of molecular biology*, 2631, 70-78.
- Kulkarni N, Shendye A, Rao M, 1999. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. *FEMS microbiology reviews*, 234, 411-456.
- Kumar CG, Joo HS, Choi JW, Koo YM, Chang CS, 2004. Purification and characterization of an extracellular polysaccharide from haloalkalophilic *Bacillus* sp. I-450. *Enzyme and microbial technology*, 347, 673-681.
- Madigan MT, Martinko JM, Brock, TD, 2006. *Brock biology of microorganisms*. Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall.
- Miller GL, 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 313, 426-428.
- Niehaus F, Bertoldo C, Kähler M, Antranikian G, 1999. Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 516, 711-729.
- Roy N, Habib MR, 2009. Isolation and characterization of Xylanase producing strain of *Bacillus cereus* from soil. *Iranian Journal of Microbiology*, 49-53.
- Srivastava RC, Madamwar DB, Vyas VV, 1987. Activation of enzymes by reversed micelles. *Biotechnology and bioengineering*, 297, 901-902.
- Subramaniyan S, Prema P, 2002. Biotechnology of microbial xylanases: enzymology, molecular biology, and application. *Critical reviews in biotechnology*, 221, 33-64.
- Ulucay O, 2018. Purification, production and investigation of commercial use of 1,4- β -endo xylanase in various *Bacillus* species isolated from thermal resources. *Kafkas University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Doctoral Thesis (Printed)*.

- Ulucay O, Gormez A, Ozic C, 2021. Identification, Characterization, and Hydrolase Producing Performance of Thermophilic Bacteria: Geothermal Hot Springs in Eastern and Southeastern Anatolia Region of Turkey *researchsquare (submitted)*. doi:10.21203/rs.3.rs-348608/v1
- Wainø M, Ingvorsen K, 2003. Production of beta-xylanase and beta-xylosidase by the extremely halophilic archaeon *Halorhabdus utahensis*. *Extremophiles*, 72, 87-93.
- Zeikus JG, 1979. Thermophilic bacteria: ecology, physiology and technology. *Enzyme and Microbial Technology*, 14, 243-252.

To Cite: Demir H, Ilhan D, 2021. Genetic Diversity of Turkish Cultivated Emmer (*Triticum dicoccum* Schrank) Revealed by Microsatellite Markers. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3119-3127.

Genetic Diversity of Turkish Cultivated Emmer (*Triticum dicoccum* Schrank) Revealed by Microsatellite Markers

Hatice DEMİR¹, Dogan ILHAN^{2*}

ABSTRACT: The aim of this study is to evaluate the genetic diversity of twelve populations for cultivated emmer (*Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl) and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) species, which are important wheat gene resources and grown in different villages in Kars province (Turkey), using eleven microsatellite markers. SSR primers produced a total of 41 alleles and the average polymorphism percentage was 86.2%. The average number of alleles obtained from primers was 3.72. Polymorphic Information Content (PIC) values varied between 0.14 and 0.37 with the means of 0.26 value. The primers of Xgwm-46 (0.287), Xgwm-154 (0.304) and Xgwmn-361 (0.325) were identified as the most effective primers in understanding the genetic diversity of emmer genotypes. Local emmer wheat had a little higher allelic richness and gene diversity than cultivated wheat. Due to geographic and climatic variations, genetic differentiation was detected in these wheat populations.

Keywords: *Triticum dicoccum*, Genetic diversity, Microsatellite marker, Kars

¹Hatice DEMİR ([Orcid ID: 0000-0003-4790-7729](https://orcid.org/0000-0003-4790-7729)), Kafkas University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Program of Biology, Kars, Turkey

²Dogan ILHAN ([Orcid ID: 0000-0003-2805-1638](https://orcid.org/0000-0003-2805-1638)), Kafkas University, Faculty of Science and Letters, Department of Molecular Biology and Genetics, Kars, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Dogan ILHAN, e-mail: doganilhan@kafkas.edu.tr

This study was produced from HD's doctoral thesis and it is presented orally at the International Agricultural, Biological and Life Sciences Conferences, This conference held in Edirne, Turkey on 1-3 September, 2020.

INTRODUCTION

Wheat is one of the most important grains worldwide. In addition, it is the most cultivated and consumed grain in the world. Wheat, which spreads around the world from the region called the 'Bereketli Hilal', which covers the southeast of Turkey, is the main food on all continents today. Because Turkey is in a position where two different gene centers (Akdeniz and Verimli Hilal) overlap, it is the gene center of wheat and many field crops (Özkan et al., 2010). Among the wheat varieties, emmer wheat (*T. dicoccum*), has several advantages (resistance to wheat diseases and drought). Emmer wheat is a potential grain due to its adaptability to the soil, its ability to compete against stress factors, its resistance to environmental conditions, and its high crude protein content (Konvolina et al., 2012a; Konvolina et al., 2012b). Research shows that emmer wheat is also rich in microelements compared to einkorn and durum wheat (Tekin et al., 2018). Molecular markers are used to identify genotypes in many plant species. Microsatellites have been widely used in recent years due to their high level of polymorphism (İlhan et al., 2016). SSRs are one of the most appropriate markers used in many fields such as phylogenetic relationship, genetic diversity, population genetics and genetic mapping (Li-xin et al., 2015; Salehi et al., 2018; Kara et al., 2020; Belete et al., 2020). Information of genetic diversity is important for understanding the extent of genetic variability in existing plant material (Chen et al., 2012). Genetic diversity is the primary requirement to initiate a successful breeding program for the betterment of wheat productivity. The selection of diverse genotypes is the preliminary essential for molecular breeding of wheat (Raj et al., 2017). Genetic variations among emmer populations have been assessed in many countries with diversity analyses; Iran (Tahir and Abdul, 2010), Italy (Pagnotta et al., 2009), Turkey (Teklu et al., 2007; Kaymaz and İzbirak, 2010), Israel (Li et al., 2000; Dong et al., 2009), India (Salunkhe et al., 2013), Ethiopia (Teklu et al., 2006), Europe (Mondini et al., 2014). Research on the emmer has also been carried out in Turkey. However, there are limited studies on the genetic diversity of emmer, local emmer native to Turkey (Arystanbekkyzy et al., 2018; Demirel, 2020). In the current study, the genetic diversity of emmer (*Triticum dicoccum* Schrank) belonging to Kars province (Turkey) was investigated using SSR markers.

MATERIALS AND METHODS

Plant Materials and DNA Extraction

The seeds of ancestral wheat populations used in the study were obtained from farmers in the villages of Kars (Table 1). Seed samples were sown in pots in the growth chamber containing 16/8 lighting periods and a room temperature of 25 °C. Following the germination period, DNA isolation was performed using the CTAB method from the young leaves of the 2-weeks-old plants (Doyle and Doyle, 1990). The isolated DNAs were then diluted to a concentration of 10 ng/μl and made ready for use in PCR reactions.

Table 1.Wheat materials used in this study and their locations

Population No	Type of Wheat	Wheat Locations	Number of Local Varieties	Number of Individuals
1	<i>Triticum aestivum</i> L.	Dağpınar Village (Digor District)	1	1
2	<i>Triticum aestivum</i> L.	Aşağı kotalı Village (Selim District)	1	1
3	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Benliahmet Village (Selim District)	1	1
4	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Koçköy Village (Arpaçay District)	1	1
5	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	İncesu Village (Susuz District)	1	1
6	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Dikme Village (Kars Town)	1	1
7	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Kürekdere Village (Arpaçay District)	1	1
8	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Dağpınar Village (Digor District)	1	1
9	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Geçit Village (Akyaka District)	1	1
10	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Mezraa Village (Kars Town)	1	1
11	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Değirmenköprü Village (Arpaçay District)	1	1
12	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Arpaçay Town	1	1

Amplification and Analysis of SSR Markers

PCR reactions were carried out in Bioneer Global Genomics Partner Thermocycler. For these reactions; 25 µl total volume containing 9.5 µl ddH₂O, 1 µl F primer and 1 µl R primer (10 µM of primers) and 12.5 µl Taq 2x Master Mix (25 mM MgCl₂), 1 µl of diluted genomic DNA (10 ng/1 µl) was used. PCR cycle; pre-denaturation at 94°C for 3 minutes, 45 cycles of denaturation at 94°C for 1 minute, 56-59°C for 1 minute, and 72°C for 2 minutes and 72°C for 10 minutes was set as a cycle. PCR products (100-700 bp) were run in 5% agarose gel electrophoresis and visualized at UV. Scoring was done based on the bands obtained. Among the 30 SSR markers used in the study, eleven SSR markers were easily scored and those with high amplification ability were selected (Table 2).

Table 2. Primers of eleven SSR markers used in the study (Röder et al., 1998)

Marker	Forward Primer	Reverse Primer	Primer References
Xgwm46	GCA CGT GAA TGG ATT GGA C	TGA CCC AAT AGT GGT GGT CA	Röder et al., 1998
Xgwm95	GAT CAA ACA CAC ACC CCT CC	AAT GCA AAG TGA AAA ACC CG	Röder et al., 1998
Xgwm120	GAT CCA CCT TCC TCT CTC TC	GAT TAT ACT GGT GCC GAA AC	Röder et al., 1998
Xgwm154	TCA CAG AGA GAG AGG GAG GG	ATG TGT ACA TGT TGC CTG CA	Röder et al., 1998
Xgwm155	CAA TCA TTT CCC CCT CCC	AAT CAT TGG AAA TCC ATA TGC C	Röder et al., 1998
Xgwm340	GCA ATC TTT TTT CTG ACC ACG	ACG AGG CAA GAA CAC ACA TG	Röder et al., 1998
Xgwm361	GTA ACT TGT TGC CAA AGG GG	ACA AAG TGG CAA AAG GAG ACA	Röder et al., 1998
Xgwm389	ATC ATG TCG ATC TCC TTG ACG	TGC CAT GCA CAT TAG CAG AT	Röder et al., 1998
Xgwm540	TCT CGC TGT GAA ATC CTA TTT C	AGG CAT GGA TAG AGG GGC	Röder et al., 1998
Xgwm558	GGG ATT GCA TAT GAG ACA ACG	TGC CAT GGT TGT AGT AGC CA	Röder et al., 1998
Xgwm601	ATC GAG GAC GAC ATG AAG GT	TTA AGT TGC TGC CAA TGT TCC	Röder et al., 1998

Data Analysis

Because we used codominant SSR markers in the analysis, we scored the bands as 1-0. We used the GenA1Ex 6.1 (Peakall and Smouse, 2001) program to determine genetic distances among populations. We made calculations using POWERMARKER v3.25 (Liu and Muse, 2005) software for

basic criteria such as the number of alleles, major allele frequencies, gene diversity and the polymorphic information content (PIC), which are important parameters of genetic diversity. We calculated the number of polymorphic bands and percentage of polymorphism for all primers using GenAEx 6.1 (Peakall and Smouse, 2001) and POWERMARKER v3.25 (Liu and Muse, 2005) programs.

RESULTS AND DISCUSSION

Genetic Diversity Analysis

To assess the genetic diversity of twelve wheat genotypes, parameters such as the number of alleles, major allele frequency, gene diversity and the PIC values were analyzed. Genetic distance is an expression of divergence between populations. If the distance value is small, it can be understood that there is a close genetic relationship; if the distance value is large, the genetic relationship is more distant. In the present study, the genetic distances between populations were computed with respect to the genetic distance calculation method of Nei et al., (1983). When we took into consideration the results of the genetic distance for the populations, while the least genetic distance was between Dikme and Dağpınar villages in *T. dicoccum* populations, the maximum genetic distance was between Koçköy and Değirmenköprü villages in *T. dicoccum* populations (Table 3).

Table 3. Genetic distance matrix of *T. aestivum* and *T. dicoccum* populations based on SSR analysis calculated for all loci according to Nei et. al., (1983)

Pop	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-											
2	0.18	-										
3	0.16	0.18	-									
4	0.19	0.15	0.09	-								
5	0.19	0.19	0.19	0.18	-							
6	0.16	0.16	0.12	0.15	0.13	-						
7	0.16	0.14	0.14	0.19	0.13	0.06	-					
8	0.18	0.14	0.16	0.13	0.11	0.04	0.08	-				
9	0.18	0.20	0.12	0.17	0.15	0.10	0.10	0.12	-			
10	0.14	0.16	0.10	0.13	0.17	0.14	0.14	0.14	0.12	-		
11	0.18	0.18	0.18	0.23	0.19	0.08	0.10	0.10	0.16	0.20	-	
12	0.12	0.12	0.14	0.17	0.21	0.10	0.12	0.12	0.20	0.16	0.10	-

In this study, eleven SSR markers were produced total of 41 polymorphic bands and the average polymorphism percentage was 86.2%. We calculated the PIC value to determine the effectiveness of SSR markers. PIC value was observed in the Xgwm-340 primer pair with the highest value of 0.375, while the lowest value was obtained from the Xgwm-95 primary pair with 0.190 in emmer genotypes. In terms of PIC values, the primers Xgwm-361 with 0.325, Xgwm-154 with 0.304 and Xgwm-46 with 0.287 had high values. In emmer genotypes Xgwm-46, Xgwm-154 and Xgwm-361 primers were understood to be the most effective primers in assessing their genetic diversity. The mean PIC values for emmer genotypes was 0.264 (Table 4).

Table 4. Total band numbers and the PIC values revealed by amplifications of two species (*T. dicoccum*, *T. aestivum*) with eleven SSR markers

No	Primer	Monomorphic Bands	Polymorphic Bands	Total Bands	The Percentage of Polymorphism (%)	PIC Value
1	Xgwm-46	-	6	6	100	0.287
2	Xgwm-95	1	2	3	66.6	0.190
3	Xgwm-120	1	4	5	80	0.280
4	Xgwm-154	1	2	3	66.6	0.304
5	Xgwm-155	1	3	4	75	0.241
6	Xgwm-340	1	4	5	80	0.375
7	Xgwm-361	-	2	2	100	0.325
8	Xgwm-389	-	9	9	100	0.233
9	Xgwm-540	-	2	2	100	0.243
10	Xgwm-558	1	4	5	80	0.239
11	Xgwm-601	-	3	3	100	0.195
Total		6	41	47		
Means			3.72		86.2	0.26

When the emmer wheat compared to cultivated wheat, the mean number of alleles (3.45), gene diversity (0.30) and polymorphic information content (0.24) values in emmer prove that genetic diversity was higher than cultivated wheat (Table 5). In fact, this difference emerged as a result of the analysis shows that the genetic diversity of *T. dicoccum* species is maintained at a certain level. Because genetic homogeneity can be seen due to artificial selection in many forms of culture.

Table 5. Diversity statistics of two species (*T. dicoccum* and *T. aestivum*) for twelve genotypes based on eleven SSR loci (in parentheses)

Parameters	Overall	<i>T. aestivum</i>	<i>T. dicoccum</i>
The Number of Individuals	12	2	10
Number of Alleles	3.72 (2.00-9.00)	2 (0.00-2.00)	3.45 (0.00-9.00)
Major Allele Frequency	0.76 (0.50-0.91)	0.78 (0.50-1.00)	0.78 (0.50-1.00)
Gene Diversity	0.32 (0.15-0.48)	0.21 (0.00-0.50)	0.30 (0.00-0.50)
Polymorphic Information Content	0.26 (0.14-0.37)	0.16 (0.00-0.37)	0.24 (0.00-0.37)

Microsatellites used in this study are used in many areas such as phylogenetic relationship, genetic diversity, genetic mapping, population genetics, evolutionary genetics (Zarei et al., 2016; Kumar et al., 2016; İlhan et al., 2016; Abbasov et al., 2018; Kara et al., 2020). SSR markers have been extensively used to detect variability in wheat genotypes and to evaluate their genetic diversity (Chen et al., 2012). As a result of the study conducted with eleven SSR primers, the primers used in emmer populations produced fragments in the ranges suitable for fragment ranges in the literature. In the current study, eleven SSR primer pairs produced a total of 41 alleles with averages of polymorphism percentage of 86.2%. The average number of alleles obtained from SSR primers was 3.72 (Table 4). Salunkhe et al., (2013) detected the average allele number in their study as 3.87, Akfirat and Uncuoglu, (2013) found 3.09 alleles per locus the average allele number, Salem et al., (2008) found the average number of alleles to be 3.2. It is observed that these obtained values are highly compatible with this study. The PIC values and genetic diversity are very helpful parameters to measure the polymorphism between the genotypes used in breeding programs (Robbana et al., 2019; Mourad et al., 2020). In the present study, the PIC values ranged between 0.14 and 0.37. The average PIC value was 0.26. The primer Xgwm-340 had the highest PIC value, and the primer Xgwm-95 gave the lowest PIC value. In terms of the PIC values, the primer pairs of Xgwm-46 (0.287), Xgwm-154 (0.304) and Xgwmn-361 (0.325) were identified as the most effective primers in understanding the genetic diversity of emmer genotypes (Table 4). The PIC values obtained in this study were determined in the literature samples (Emebiri et al., 2008; Ren et al., 2013; Rafeipour et al., 2016; Zatybekov et al., 2020; Mourad et al., 2020) but some of them are high or

low. This difference may be caused by the samples of emmer used in the study and the presence of SSR markers used in the study in different numbers and localities. In this study, gene diversity values ranged between 0.15 and 0.48. The average gene diversity value was 0.32. Arystanbekkyzy et al., (2018) found the average gene diversity value to be 0.48, Mourad et al., (2020) detected the average gene diversity in their study as 0.29. Genetic distance is the distance between populations. The high genetic distance value indicates that the difference between locations is excessive. In the present study, we saw that the most genetic distance was between the populations of Koçköy and Değirmenköprü in *T. dicoccum* populations, while the minimum genetic distance was between Dikme and Dağpınar in *T. dicoccum* populations (Table 3). Although they are in the same geography, the main reason for the differences in these wheat populations is due to altitude and climatic differences rather than genetic distance. There are studies in the literature with similar results supporting these findings. Fahima et al., (2002) stated that the genetic distances determined in their studies with wild emmer wheat from Turkey and Israel and the geographical distances between the populations were not related. Shizuka et al., (2015) investigated the genetic variation in *Triticum turgidum* ssp. *dicocoides* populations and reported that a clear genetic differentiation was observed even though the distance between the populations was not much.

CONCLUSION

In this study, we investigated genetic diversity for Turkish cultivated emmer with microsatellite marker SSR native to Kars region. We found that this local wheat species had a moderate genetic diversity and allelic richness. Due to the different geographical and climatic variations, differentiation was detected in wheat populations. Local emmer wheat had a little higher allelic richness and gene diversity than cultivated wheat. Emmer wheat, whose planting area is gradually decreasing, is quite resistant to biotic and abiotic environmental conditions, planting areas should be increased and it should be explained that it is suitable for organic agriculture. It is thought that this study will be a reference for the recognition of kavalca wheat (emmer), which is also very rich in terms of nutrient content and to expand the cultivation area in agriculture. In addition, genotypes showing superior characteristics of this wheat population showing variation at the molecular level are determined and it is thought that durum and bread wheat can be used successfully in breeding studies. It is also understood in parallel with literature studies that SSR markers are suitable molecular tools for genetic diversity analyses.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study is the part of Ph.D. thesis of Hatice Demir. This research was funded by Scientific Research Projects of Kafkas University in Turkey with Project No: 2018-FM-16. We would like to thank retired Agricultural Engineer Necdet TAŞDEMİR and farmers of Kars villages who supported us in local wheat seeds.

Conflict of Interest

I declare that there is no conflict of interest for the writers of this article.

Authors Contributions

The authors declare that they contribute equally to the article.

REFERENCES

- Abbasov M, Akparov Z, Gross T, Babayeva S, Izzatullayeva V, Hajiyev E, Rustamov K, Gross P, Tekin M, Akar T, Chao S, Brueggeman R, 2018. Genetic Relationship of Diploid Wheat (*Triticum* spp.) Species Assessed by SSR Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*; 65(5):1441-1453.

- Akfirat FS, Uncuoglu AA, 2013. Genetic Diversity of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.) Revealed by SSR Markers. *Biochemical Genetics*, 51:223-229. DOI: 10.1007/s10528-012-9557-6.
- Arystanbekkyzy M, Nadeem MA, Aktaş H, Yeken MZ, Zencirci N, Nawaz MA, Ali F, Haider MS, Tunc K, Chung G, Baloch FS, 2018. Phylogenetic and Taxonomic Relationship of Turkish Wild and Cultivated Emmer (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) Revealed by IPBS-Retrotransposons Markers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 21(1): 155-163.
- Belete YS, Shimelis H, Laing MK, Mathew I, 2020. Genetic Diversity and Population Structure of Bread Wheat Genotypes Determined via Phenotypic and SSR Marker Analyses under Drought-Stress Conditions. *Journal of Crop Improvement*, doi: 10.1080/15427528.2020.1818342.
- Chen X, Min D, Yasir TA, Hu Y-G, 2012. Genetic Diversity, Population Structure and Linkage Disequilibrium in Elite Chinese Winter Wheat Investigated with SSR Markers. *PLoS One* 7(9): e44510.
- Demirel F, 2020. Genetic Diversity of Emmer Wheats Using IPBS-Retrotranspozon Markers. *European Journal of Science and Technology*, 20, 640-646.
- Dong P, Wei Y-M, Chen G-Y, Li W, Wang J-R, Nevo E, Zheng Y-L, 2009. EST-SSR Diversity Correlated with Ecological and Genetic Factors of Wild Emmer in Israel. *Hereditas* 146: 1-10.
- Doyle JJ, Doyle JL, 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus* 12: 13–15.
- Emebiri L, Ogbonnaya F, Moody D, 2008. Population Structure in Wild Emmer (*Triticum dicoccoides*) Based on EST-SSR Markers. 11th International Wheat Genetics Symposium, ISBN: 9781920899141.
- Fahima T, Röder MS, Wendelhake K, Kirzhmer V, Nevo E, 2002. Microsatellite Polymorphism in Natural Populations of Wild Emmer Wheat, *Triticum dicoccoides*, Israel. *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 17-29.
- İlhan D, Li X, Brummer C, Şakiroğlu M, 2016. Genetic Diversity and Population Structure of Tetraploid Accessions of the *Medicago sativa-falcata* Complex. *Crop Science*, 56: 1146-1156.
- Kara K, Rached-Kanouni M, Mnasri S, Khammar H, Ben Naceur MB, 2020. Genetic Variability Assessment in Bread Wheat (*Triticum aestivum*) Grown in Algeria Using Microsatellites SSR Markers. *Biodiversitas*, 21: 2638-2644.
- Kaymaz A, İzbirak A, 2010. Molecular Characterization of Genetic Diversity Among *T. dicoccoides* and *T. dicoccon* Populations by RAPD-PCR Technique. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 3814,333-344.
- Konvalina P, Capouchova I, Stehno Z, 2012b. Agronomically Important Traits of Emmer. *Plant Soil Environment*, 58(8): 341-346.
- Konvalina P, Capouchova I, Stehno Z, Moudry J, 2012a. Differences in Yield Parameters of Emmer in Comparison with Old and New Varieties of Bread Wheat. *African Journal of Agricultural Research*, 7(6), 986-992.
- Kumar S, Kumar V, Kumari P, Singh AK, Singh R, 2016. DNA Fingerprinting and Genetic Diversity Studies in Wheat Genotypes Using SSR Markers. *Journal of Environmental Biology*, 37, 319-326.
- Li Y, Fahima T, Korol AB, Peng J, Röder MS, Kirzhner V, Beiles A, Nevo E, 2000. Microsatellite Diversity Correlated with Ecological-Edaphic and Genetic Factors in Three Microsites of Wild Emmer in North Israel. *Molecular Biology and Evolution*, 17 (6), 851-862.
- Liu J, Muse S, 2005. Power Marker: An Integrated Analysis Environment for Genetic Marker Analysis. Raleigh, NC: North Carolina State University, Bioinformatics Research Center, 21: 2128-2129.

- Li-xin W, Jun Q, Li-fang C, Li-hua L, Hong-bo L, Bin-shuang P, Chang-ping Z, 2015. Assessment of Wheat Variety Distinctness Using SSR Markers. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(10): 1923-1935.
- Mondini L, Grausgruber H, Pagnotta MA, 2014. Evaluation of European Emmer Germplasm for Agro-Morphological, Grain Quality Traits and Molecular Traits. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61: 69-87.
- Mourad Amira MI, Belamkar V, Baenziger PS, 2020. Molecular Genetic Analysis of Spring Wheat Core Collection Using Genetic Diversity, Population Structure, and Linkage Disequilibrium. *BMC Genomics*, 21:434.
- Nei M, Tajima F, Tateno Y, 1983. Accuracy of Estimated Phylogenetic Trees from Molecular Data. *Journal of Molecular Evolution*, 19:153-170.
- Özkan H, Willcox G, Graner A, Salamini F, Kilian B, 2010. Geographic Distribution and Domestication of Wild Emmer Wheat (*Triticum dicoccoides*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58:11-53.
- Pagnotta MA, Mondini L, Codianni P, Fares C, 2009. Agronomical, Quality and Molecular Characterization of Twenty Italian Emmer (*Triticum dicoccon*) Accessions. *Genet Resour Crop Evol*, 56: 299-310.
- Peakall R, Smouse PE, 2001. GenAIEx V6: Genetic Analysis in Excel Population Genetic Software for Teaching and Research. Australian National University, Canberra. <http://www.wanueduau/BoZo/GenAIE>.
- Rafeipour M, Mirzaghaderi G, Shaaf S, Badakhshan H, 2016. SSR Assessment of the Genetic Diversity of Emmer with Emphasis on Iranian Landraces (*Triticum dicoccon* Schrank). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63:595-600.
- Raj RS, Yama SV, Viral KMB, Joshi MN, Shradha NT, Bagatharia SB, 2017. Ascertaining Narrow Genetic Base in Commercial Accessions of Wheat Commonly Grown in Gujarat via Molecular Markers. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 8(2), 558-565.
- Ren J, Chen L, Sun D, You FM, Wang J, Peng Y, Nevo E, Beiles A, Sun D, Luo M-C, Peng J, 2013. SNP-Revealed Genetic Diversity in Wild Emmer Correlates with Ecological Factors. *BMC Evolutionary Biology*, 13(1): 169.
- Robbana C, Kehel Z, Naceur MB, Sansaloni C, Bassi F, Amri A, 2019. Genome-Wide Genetic Diversity and Population Structure of Tunisian Durum Wheat Landraces Based on DArTseq Technology. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6).
- Röder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M-H, Leroy P, Ganal MW, 1998. A Microsatellite Map of Wheat. *Genetics*, 149: 2007-2023.
- Salehi M, Arzani A, Talebi M, Rokhzadi A, 2018. Genetic Diversity of Wheat Wild Relatives Using SSR Markers. *Genetika*, 50, 131-141.
- Salem KFM, El-Zanaty AM, Esmail RM, 2008. Assessing Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genetic Diversity Using Morphological Characters and Microsatellite Markers. *Word Journal of Agricultural Sciences*, 4(5): 538-544.
- Salunkhe T, Tamhankar S, Tetali S, Zaharieva M, Bonnett D, Trethowan R, Misra S, 2013. Molecular Genetic Diversity Analysis in Emmer (*Triticum dicoccon* Schrank) from India. *Genetic Resource and Crop Evolution*, 60:165-174.
- Shizuka T, Mori N, Ozkan H, Ohta S, 2015. Chloroplast DNA Haplotype Variation within Two Natural Populations of Wild Emmer Wheat (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) in Southern Turkey. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29 (3): 423-430.

- Tahrır R, Abdul N, 2010. Germination Characteristics and Molecular Characterizations of Some Wheat Varieties in Sulaimanyah by SSR Marker. *Turk Journal Biology*, 34:109-117.
- Tekin M, Cengiz MF, Abbasov M, Aksoy A, 2018. Comparison of Some Mineral Nutrients and Vitamins in Advanced Hulled Wheat Lines. *Research Article, Cereal Chemistry*; 95(3): 436-444.
- Teklu Y, Hammer K, Huang XQ, Röder MS, 2006. Analysis of Microsatellite Diversity in Ethiopian Tetraploid Wheat Landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53:1115-1126.
- Teklu Y, Hammer K, Röder MS, 2007. Simple Sequence Marker Polymorphism in Emmer (*Triticum dicoccon* Schrank): Analysis of Genetic Diversity and Differentiation. *Genetic Resource and Crop Evolution*, 54:543-554.
- Zarei Abbasabad E, Mohammadi SA, Moghaddam M, Jalal Kamali MR, 2016. Analysis of Genetic Diversity, Population Structure and Linkage Disequilibrium in Iranian Wheat Landraces Using SSR Markers. *Plant Genetic Resources* 1:1-8.
- Zatybekov A, Anuarbek S, Abugalieva S, Turuspekov Y, 2020. Phenotypic and Genetic Variability of Tetraploid Wheat Collection Grown in Kazakhstan. *Vavilovskii Zhurnal Genet Seleksii*, 24(6): 605-612.

To Cite: İlhan D, Demir H, 2021. Phylogeographic Structure of Kars Emmer Wheat (*Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl) in Turkey Explained by SSR Markers. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3128-3137.

Phylogeographic Structure of Kars Emmer Wheat (*Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl) in Turkey Explained by SSR Markers

Dogan ILHAN^{1*}, Hatice DEMİR²

ABSTRACT: Turkey has a role in the distribution of many plants across continents and it is the main center of wheat. Due to its climatic characteristics and geostrategic importance, Turkey also has important genetic resources for the cultivation and development for many local wheat varieties. Therefore, it is important to determine local wheat genotypes that can adapt to different ecological conditions in Turkey and define ones having high performance in terms of efficiency and quality characteristics to make them useful. Emmer wheat which is grown in and around Kars City in northeastern Anatolia region is seen as valuable. In the present study, the phylogeographic structure analyses of 10 emmer (*Triticum dicoccum* Schrank) wheat populations and 2 populations of cultivated wheat (*Triticum aestivum*) obtained from Kars region were made by Simple Sequence Repeats (SSR). Within the scope of the study, Principal Coordinates Analysis (PCoA), phylogenetic analysis, and genetic-geographic distance analysis were performed. 3 main groups of differentiation at the populations were supported by PCoA and phylogenetic analyses. The comparison between geographic and genetic distance matrices for all genotypes revealed a statistically negative correlation ($R^2=0.04$). Emmer wheat is an important local genetic resource and the cultivation area in agriculture should be expanded and used in breeding studies. In addition, it has been determined that SSR markers can give more comprehensive results with higher numbers in wheat genotyping studies.

Keywords: Emmer wheat, Phylogeography, *Triticum dicoccum*, SSR, Kars

¹Dogan ILHAN ([Orcid ID: 0000-0003-2805-1638](https://orcid.org/0000-0003-2805-1638)), Kafkas University, Faculty of Science and Letters, Department of Molecular Biology and Genetics, Kars, Turkey

²Hatice DEMİR ([Orcid ID: 0000-0003-4790-7729](https://orcid.org/0000-0003-4790-7729)), Kafkas University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Program of Biology, Kars, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Dogan ILHAN, e-mail: doganilhan@kafkas.edu.tr

This study was produced from HD's doctoral thesis and it is presented orally at the International ICONTECH Symposium, "On Innovative Surveys in Positive Sciences". "2nd World Conference" held in Budapest, Hungary on 23-26 September 2020.

INTRODUCTION

Cereals are among the first plants to be cultured and they belong to the family of wheat (Gramineae/Poaceae) (Verma et al., 2019). In terms of planting area and production quantity, wheat is important grain group in Turkey as in the world (Karagöz, 2014). In ancient times, primitive species were collected directly from nature and consumed as nutrients. *Triticum monococcum* L.(Siyez) and *Triticum dicoccum* S. (emmer) such primitive wheat species were used in this way for many years and they were later cultured by producers (Karagöz, 1996). Emmer group wheat Bronze Age (10000-4000 BC) has maintained its existence throughout. In this process naked wheat has gradually replaced the emmer, especially the tetraploid species. (Harlan, 1981; Perrino and Hammer, 1982). *Triticum urartu* (wild diploid wheat, $2n=14$, AuAu) and *Aegilops speltoides* (wild grass plant, $2n=14$, BB) hybridized naturally about 30-50 thousand years ago and occurred in *Triticum dicoccoides* (wild emmer, $4n=28$, AuAuBB) with their chromosomes folded. *Triticum dicoccum* (culture Gernik wheat $4n=28$ and AuAuBB) has been domesticated as a result of natural-artificial selections from the species *Triticum dicoccoides* (Peng et al., 2011; Dhanavath and Prasada, 2017). Today, emmer wheat is grown in Ethiopia, Iran, Turkey, the Caucasia, the Volga Valley, the republics of Former Yugoslavia, Central Europe, Italy, Spain and India (Zaharieva et al., 2010). Molecular marker techniques (RAPD, RFLP, SSR, AFLP etc.) are preferred for the purpose of identifying genotypes in many species, especially cereals (Grover and Sharma, 2015). In many studies, it has been proven that SSRs in plant species have a high level of informative (İlhan et al., 2016; Rafeipour et al., 2016; Abbasov et al., 2018). SSRs are among the most appropriate markers used in many fields such as phylogenetic relationship, genetic diversity, population genetics, genetic mapping (Kacem et al., 2017; Salehi et al., 2018; Kara et al., 2020). A great deal of studies has been done to investigate genetic diversity, phylogenetic relationships using SSR in wheat (Ehtemam et al., 2010; Tahir and Abdul, 2010; Asmamaw et al., 2019;). It is valuable to investigate phylogeographic structure of populations for acceptable evaluation of local genetic plant resources found in Turkey. In addition, it is necessary to evaluate local genetic resources with correct methods (Demirel et al., 2019). Research on the emmer has also been carried out in Turkey. However, there are limited studies on the genetic diversity of Turkish emmer wheat (Arystanbekkyzy et al., 2018; Demirel, 2020). In the current study, phylogeographic analyses of emmer wheat (*Triticum dicoccum* Schrank) belonging to Kars province (Turkey) was carried out using SSR markers.

MATERIALS AND METHODS

Plant Materials and DNA Extraction

Seeds from 10 different populations of local emmer (*Triticum dicoccum* Schrank) wheat used in the study were obtained from farmers in different villages of Kars (Table 1, Fig. 2). Since this wheat species is an autogam, a sample was taken from each population. In addition, seeds of 2 cultivated wheat (*Triticum aestivum* L.) obtained from farmers in different villages of Kars province to compare genetic diversity were also included in the study (Table 1, Fig. 2). The seeds of wheat populations were germinated and grown on violes in the climate room, which included a 16/8 - hour long day photoperiod and a room temperature of 25 °C. DNA extraction was conducted using CTAB method from young leaves of wheats grown in plant growing rooms (Doyle and Doyle, 1990). These resulting DNAs were diluted to a concentration of 10 ng/μl and made ready for use in PCR reactions.

Table 1.Wheat materials used in this study and their locations

Population No	Type of Wheat	Wheat Locations	Number of Local Varieties	Number of Individuals
1	<i>Triticum aestivum</i> L.	Dağpınar Village (Digor District)	1	1
2	<i>Triticum aestivum</i> L.	Aşağı kotanlı Village (Selim District)	1	1
3	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Benliahmet Village (Selim District)	1	1
4	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Koçköy Village (Arpaçay District)	1	1
5	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	İncesu Village (Susuz District)	1	1
6	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Dikme Village (Kars Town)	1	1
7	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Kürekdere Village (Arpaçay District)	1	1
8	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Dağpınar Village (Digor District)	1	1
9	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Geçit Village (Akyaka District)	1	1
10	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Mezraa Village (Kars Town)	1	1
11	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Değirmenköprü Village (Arpaçay District)	1	1
12	<i>Triticum dicoccum</i> Schrank ex Schübl.	Arpaçay Town	1	1

Amplification and Analysis of SSR Markers

The PCR process was performed on Bioneer Global Genomics Partner Thermocycler. For PCR reactions, 9.5 µl ddH₂O, 1 µl F primer and 1 µl R primer (10 µM of primers) and 12.5 µl Taq 2x Master Mix (25 mM MgCl₂) were used with a final volume of 25 µl containing 1 µl of diluted genomic DNA (10 ng/1 µl). PCR cycles: pre-denaturation 3 min at 94 °C, 45 cycles of denaturation 1 min at 94 °C, for 1 min at 56-59 °C, and for 2 min at 72 °C, followed by a cycle for 10 min at 72 °C. The bands provided by PCR products were determined by agarose gel electrophoresis. SSR-PCR products (100-700 bp) were run on prepared 5% agarose gel. Ethidium bromide (3 µl) was added to the gel to display the resulting bands in UV light. The gel images were interpreted and then scored based on the allele size of the bands. In the present study, 11 SSR markers with easy scoring and high amplification ability were selected (Röder et al., 1998) (Table2).

Table 2. Primers and references of 11 SSR markers used in the study

Marker	Forward Primer	Reverse Primer	Primer References
Xgwm46	GCA CGT GAA TGG ATT GGA C	TGA CCC AAT AGT GGT GGT CA	Röder et al., 1998
Xgwm95	GAT CAA ACA CAC ACC CCT CC	AAT GCA AAG TGA AAA ACC CG	Röder et al., 1998
Xgwm120	GAT CCA CCT TCC TCT CTC TC	GAT TAT ACT GGT GCC GAA AC	Röder et al., 1998
Xgwm154	TCA CAG AGA GAG AGG GAG GG	ATG TGT ACA TGT TGC CTG CA	Röder et al., 1998
Xgwm155	CAA TCA TTT CCC CCT CCC	AAT CAT TGG AAA TCC ATA TGC C	Röder et al., 1998
Xgwm340	GCA ATC TTT TTT CTG ACC ACG	ACG AGG CAA GAA CAC ACA TG	Röder et al., 1998
Xgwm361	GTA ACT TGT TGC CAA AGG GG	ACA AAG TGG CAA AAG GAG ACA	Röder et al., 1998
Xgwm389	ATC ATG TCG ATC TCC TTG ACG	TGC CAT GCA CAT TAG CAG AT	Röder et al., 1998
Xgwm540	TCT CGC TGT GAA ATC CTA TTT C	AGG CAT GGA TAG AGG GGC	Röder et al., 1998
Xgwm558	GGG ATT GCA TAT GAG ACA ACG	TGC CAT GGT TGT AGT AGC CA	Röder et al., 1998
Xgwm601	ATC GAG GAC GAC ATG AAG GT	TTA AGT TGC TGC CAA TGT TCC	Röder et al., 1998

Data Analysis

The scoring process was carried out using 1–0 technique due to the codominant marker system and data analyses were performed. The software Genalex 6.1 (Peakall and Smouse, 2001) was preferred to determine the genetic distances between populations using by the scoring data. Analyses were managed to these criteria using basic parameters such as allele frequencies, major allele frequencies, gene diversity and polymorphism information content (PIC) in determining genetic diversity. The powermarker v3.23 (Liu and Muse, 2005) software program was used for the calculations. PCoA (Principal Coordinate Analysis) was performed using the GenAlEx (Peakall and Smouse, 2001) software to identify genetic variations of populations. The neighbour-joining dendrogram was created using the POWERMARKER v3.25 (Liu and Muse, 2005) program. The neighbour-joining tree was visualized

using the DENDROSCOPE program for the molecular relationship of 12 individuals at the population level using the data obtained from here (Huson et al., 2010).

RESULTS AND DISCUSSION

Principal Coordinate Analysis (PCoA) and Molecular Phylogenetic Analysis

Principal coordinate analysis (PCoA) was performed for 10 tetraploid and 2 hexaploid wheat genotypes for the aim of explaining the variations between populations at a minimum level *T. dicoccum* and *T. aestivum* species and wheat species are encoded with different colors. PCoA analysis examined *T. dicoccum* and *T. aestivum* wheat populations are grouped similarly to NJ dendrogram results (Fig. 1). The results show that *Triticum aestivum* forms a clearly distinct group from *Triticum dicoccum*. The cultivated wheat (*Triticum aestivum*) that we used for comparison in the study is expected to exhibit close relationship. According to the genetic distance values, 6 (Dikme) and 8 (Dağpınar) numbered populations were the closest to each other, while 4 (Koçköyü) and 11 (Değirmenköprü) numbered populations were the most distant to each other (Fig. 1). The distribution of *T. dicoccum* populations of the same species into different groups points to the level of genetic variation among genotypes.

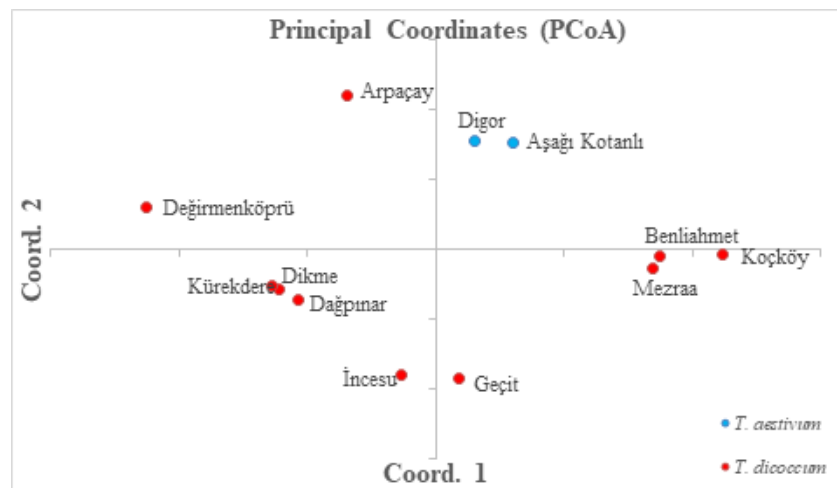


Figure 1. Clusters based on the two main components obtained from the analysis using the 11 SSR marker, emmer wheat populations belonging to different locations (*T. dicoccum*) separation from each other and separation by *T. aestivum* population

Molecular phylogenetic analysis was performed to confirm the results from PCoA and to determine the molecular relationships of 12 wheat genotypes. POWERMARKER v3.25 software was used to perform this analysis. Data from the program was visualized with the DENDROSCOPE program, which was created to determine the molecular relationship of 12 individuals at the population level (Fig. 2). Based on the dendrogram, the 12 populations were divided into three main groups. Of these groups, the first main group was divided into two subgroups. In one of these subgroups, the İncesu population, and in the other subgroup, the Kürekdere, Dağpınar, Değirmenköprü and Dikme populations were clustered. In its second main group, it was seen to be separated into two subgroups. Both subgroups formed subgroups again. The populations of Mezraa, Benliahmet and Koçköy villages were grouped in the first subgroup of the second main group. The Aşağı Kotanlı, Digor and Arpaçay populations were clustered in the other subgroup of the second main group. In the third main group, only the population is present.

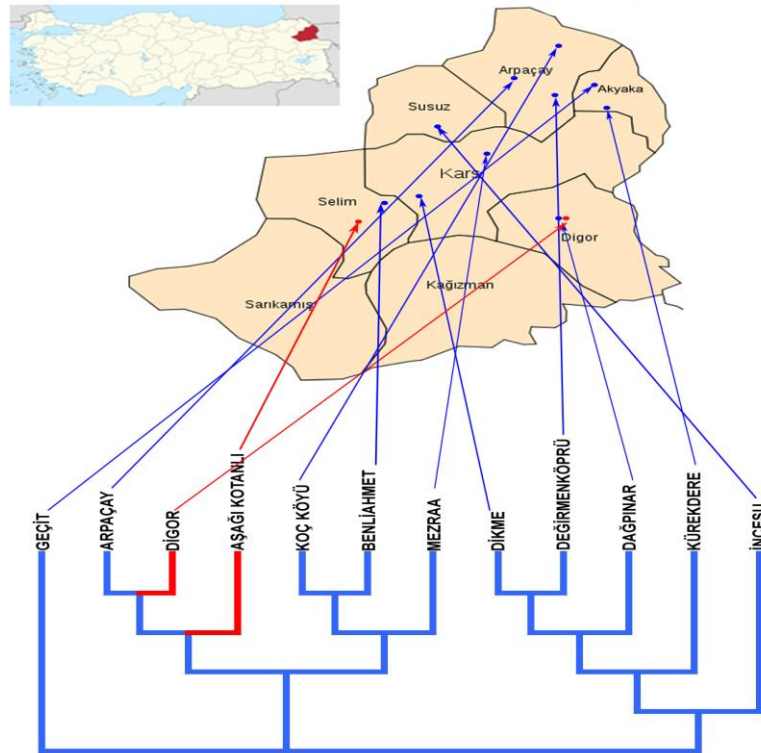


Figure 2. Dendrogram shows geographic origins of 12 wheat populations together with Neighbour Joining tree based on genetic distances

Genetic Distance Analysis

Genetic distance is an expression of divergence between populations. If the distance value is small, it can be understood that there is a close genetic relationship; if the distance value is large, the genetic relationship is more distant. In the present study, the genetic distances between populations were computed with respect to the genetic distance calculation method of Nei (Nei, 1983). When we look at the results of the genetic distance for the populations, while the least genetic distance was between Dikme and Dağpınar villages in *T. dicoccum* populations, the maximum genetic distance was between Koçköy and Değirmenköprü villages in *T. dicoccum* populations (Table 3).

Table 3. Genetic distance matrix of *T. aestivum* and *T. dicoccum* populations based on SSR analysis calculated for all loci according to Nei et al., (1983)

Pop	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-											
2	0.18	-										
3	0.16	0.18	-									
4	0.19	0.15	0.09	-								
5	0.19	0.19	0.19	0.18	-							
6	0.16	0.16	0.12	0.15	0.13	-						
7	0.16	0.14	0.14	0.19	0.13	0.06	-					
8	0.18	0.14	0.16	0.13	0.11	0.04	0.08	-				
9	0.18	0.20	0.12	0.17	0.15	0.10	0.10	0.12	-			
10	0.14	0.16	0.10	0.13	0.17	0.14	0.14	0.14	0.12	-		
11	0.18	0.18	0.18	0.23	0.19	0.08	0.10	0.10	0.16	0.20	-	
12	0.12	0.12	0.14	0.17	0.21	0.10	0.12	0.12	0.20	0.16	0.10	-

Correlation of Geographic and Genetic Distances

To elucidate the relationship between geographic distance and genetic distance, we computed the genetic distance matrix for populations using GenAIEx 6.1 (Peakall and Smouse, 2001) software. The latitude and longitude values of the populations are given in Table 4. Then, we determined the

geographic distance matrix of the populations (Table 5). A statistically weak negative correlation was found in the comparison between geographic distance and genetic distance for all genotypes ($R^2=0.04$) (Fig. 3).

Table 4. Latitude and longitude data of *T. dicoccum* and *T. aestivum* wheat populations

Pop. Number	Wheat Locations	Latitude	Longitude
1	Dağpınar Village (Digor District)	40.46344900	43.32416601
2	Aşağı kotanlı Village (SelimDistrict)	40.46218999	42.90562599
3	Benliahmet Village (SelimDistrict)	40.48790500	42.90257291
4	Koçköy Village (ArpaçayDistrict)	40.86334199	43.51571701
5	İncesu Village (SusuzDistrict)	40.74201600	43.12925090
6	Dikme Village (Kars Town)	40.50762901	42.98111494
7	Kürekdere Village (ArpaçayDistrict)	40.71816590	43.49843090
8	Dağpınar Village (Digor District)	40.46344900	43.32416601
9	Geçit Village (AkyakaDistrict)	40.77485460	43.51654368
10	MezraaVillage (Kars Town)	40.69680501	43.17520889
11	Değirmenköprü Village (ArpaçayDistrict)	40.81860901	43.42140101
12	Arpaçay Town	40.84674701	43.33209501

Table 5. Geographic distance matrix (km) was calculated for all genotypes of *T. dicoccum* and *T. aestivum* populations

Pop	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0											
2	35	0										
3	36	3	0									
4	47	68	66	0								
5	35	36	34	35	0							
6	29	8	7	60	29	0						
7	32	58	56	16	31	50	0					
8	0	35	36	47	35	29	32	0				
9	38	62	61	10	33	54	6	38	0			
10	29	35	33	34	6	27	27	29	30	0		
11	40	59	57	9	26	51	13	40	9	25	0	
12	43	56	54	16	21	48	20	43	17	21	8	0

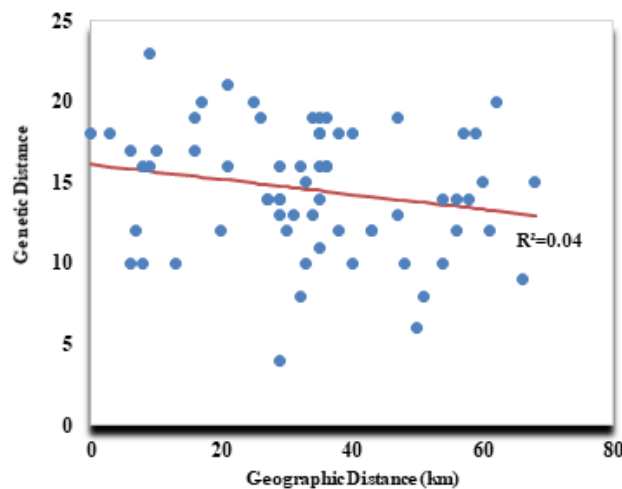


Figure 3. Mantel test regression between geographic and genetic distance matrices of 12 populations

Studies such as gene tagging, genetic mapping, genetic diversity, phylogenetic analysis using DNA markers have become particularly easy after the discovery of polymerase chain reaction (Joshi et al., 2000). In wheat, the most common cereal group, molecular markers are used to determine differences in specific loci at species or population level. Molecular markers are the tools involved in the explaining of variations by utilizing the knowledge of polymorphism among populations or genotypes (Madhumati, 2014; Mandal et al., 2018) The SSRs used in the present study are among the molecular marker techniques used in many fields such as phylogenetic relationship, genetic diversity, genetic mapping, population genetics, evolutionary genetics (Pagnotta et al., 2009; Khan et al., 2015; Kumar et al., 2016; Zarei et al., 2016). In the current study, Principal Coordinate Analysis (PCoA) was performed to identify genetic variations. PCoA results showed *T. aestivum* populations located a separate group (Digor and Aşağı Kotanlı populations) as expected. All of emmer wheat populations were originated from Kars region, i.e. from similar eco-geographic region. However, the PCoA analysis revealed that different clusters are observed. The populations of Benliahmet, Koçköy and Mezraa and the populations of Incesu, Dikme, Kürekdere and Dağpınar are clustered close together. The Geçit population formed a separate cluster. Arpaçay population was also in the same group as *T. aestivum* in dendrogram, while it was in different regions in PCoA analysis (Fig. 1). There are similar studies supporting these results. Fahima et al., (2002) reported that the genetic distances determined in their studies with wild emmer wheat from Turkey and Israel and the geographical distances between the populations were not related. Shizuka et al., (2015) investigated the genetic variation in *Triticum turgidum* ssp. *dicocoides* populations and stated that a clear genetic differentiation was observed even though the distance between the populations was not much. These results can be explained by the differences of other geographical factors such as climate, latitude and longitude. In emmer wheat populations, there is no correlation between the locations of all genotypes and their genetic distances. A distance-based Neighbour Joining (NJ) tree was created to determine the molecular relationships of 12 populations using SSR markers in this study. When the dendrogram is analysed, emmer wheat was divided into three main groups. One of these main groups was only the Geçit population. The other main groups were the separated subgroups within themselves. Also *T. aestivum* populations showed clustering together. Arpaçay *T. dicoccum* population was also in the same group as *T. aestivum* populations (Fig. 2). Similar results were obtained in other studies with *T. dicoccum* and *T. aestivum* wheat. Salunkhe et al., (2013) dendrograms using UPGMA in their molecular relationship analysis with SSR markers in *T. dicoccon* wheat and reported that 3 clusters were formed for 9 populations. Sarkar et al., (2014) examined 35 wheat varieties with 30 SSR markers and dendrograms with UPGMA method and reported that all wheat genotypes were clustered in 3 main groups. Genetic distance is distance between populations. The high genetic distance value indicates that the difference between locations is excessive. In the present study, at the genetic distance matrix of 12 populations, we found that the most genetic distance was between the populations of Koçköy and Değirmenköprü in *T. dicoccum* populations, while the minimum genetic distance was between the Dikme and Dağpınar in *T. dicoccum* populations (Table 3). For all genotypes, our comparison between geographic distance and genetic distance revealed a statistically weak negative correlation ($R^2=0.04$) (Table 5). There are numerous studies supporting the results of this study. Dong et al., (2009) analyzed 15 wild emmer wheat populations with 25 EST-SSR markers. In their study, they found the value of genetic distance between populations to be 0.4 on average and they stated that populations that were geographically distant from each other have lower genetic distance and that genetic distance was independent of the geographic region. Oliveria et al., (2012) examined 53 wheat populations of tetraploids and reported that they found a weak correlation between geographical distance and genetic

distance ($r = 0.21$). Ren et al., (2013) in their study of genetic diversity in wild emmer wheats, they found $r = 0.05$ according to the results of the mantel test they performed to determine the relationship between genetic and geographical distance and stated that the genetic differentiation between populations was independent of geographical distance. Based on these studies, genetic differentiation among populations is not due to geographical distance in our study.

CONCLUSION

In the current study, we performed phylogeographic analyses for Kars's local emmer wheat together with cultivated *T. aestivum* using SSR markers. Due to the different geographical and climatic variations within Kars province, the phylogeographic structure of emmer wheat species in 3 main groups has also been supported by PCoA and phylogenetic studies. It is thought that this study will be a reference for the recognition of kavalca wheat (emmer), which is also rich in terms of nutrient content, and to expand the cultivation area in agriculture. In addition, genotypes showing superior characteristics of this wheat populations showing variation at molecular level are determined and it is thought that durum and bread wheat can be used successfully in breeding studies. It is also understood in parallel with literature studies that SSR markers are suitable molecular tools for molecular relationship, and genetic-geographically based distance analyses.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study is the part of PhD thesis of Hatice Demir. This research was funded by Scientific Research Projects of Kafkas University in Turkey with Project No: 2018-FM-16. We would like to thank retired Agricultural Engineer Necdet TAŞDEMİR and farmers of Kars villages who supported us in local wheat seeds.

Conflict of Interest

I declare that there is no conflict interest for writers of this article.

Authors Contributions

The authors declare that they contribute equally to the article.

REFERENCES

- Abbasov M, Akparov Z, Gross T, Babayeva S, Izzatullayeva V, Hajiyev E, Rustamov K, Gross P, Tekin M, Akar T, Chao S, Brueggeman R, 2018. Genetic Relationship of Diploid Wheat (*Triticum* spp.) Species Assessed by SSR Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*; 65 (5): 1441-1453.
- Arystanbekkyzy M, Nadeem MA, Aktaş H, Yeken MZ, Zencirci N, Nawaz MA, Ali F, Haider MS, Tunc K, Chung G, Baloch FS, 2018. Phylogenetic and Taxonomic Relationship of Turkish Wild and Cultivated Emmer (*Triticum turgidum* ssp. *dicocoides*) Revealed by IPBS-Retrotransposons Markers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 21 (1): 155-163.
- Asmamaw M, Keneni G, Tesfaye K, 2019. Genetic Diversity of Ethiopian Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Landrace Collections as Reveled by SSR Markers. *Advances in Crop Science and Technology*, 7: 413. Doi:10.4172/2329-8863.1000413.
- Demirel F, 2020. Genetic Diversity of Emmer Wheats Using IPBS-Retrotranspozon Markers. *European Journal of Science and Technology* No. 20, pp. 640-646.
- Demirel F, Gurcan K, Akar T, 2019. Clustering Analysis of Morphological and Phenological Data in Einkorn and Emmer Wheats Collected from Kastamonu Region. *International Journal of Scientific and Technological Research*, 5 (11): 25-36.

- Dhanavath S, Prasada Rao UJS, 2017. Nutritional and Nutraceutical Properties of *Triticum dicoccum* Wheat and Its Health Benefits: An Overview. *Journal of Food Science*, 82 (10): 2243-2250.
- Dong P, Wei Y-M, Chen G-Y, Li W, Wang J-R, Nevo E, Zheng Y-L, 2009. EST-SSR Diversity Correlated with Ecological and Genetic Factors of Wild Emmer Wheat in Israel. *Hereditas* 146: 1-10.
- Doyle JJ, Doyle JL, 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus* 12: 13–15.
- Ehtemam MH, Rahiminejad MR, Saeidi H, Tabatabaei BES, Krattinger SG, Keller B, 2010. Relationships among the A Genomes of *Triticum* L. Species as Evidenced by SSR Markers, in Iran. *International Journal of Molecular Sciences*, 11 (11): 4309-4325.
- Fahima T, Röder MS, Wendelhake K, Kirzhmer V, Nevo E, 2002. Microsatellite Polymorphism in Natural Populations of Wild Emmer Wheat, *Triticum dicoccoides*, Israel. *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 17-29.
- Grover A, Sharma PC, 2015. Development and Use of Molecular Markers: Past and Present. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36 (2): 290-302.
- Harlan JR, 1981. The Early History of Wheat: Earliest Traces to the Sack of Rome. In: Evans L.T. and Peacock W.J. (eds.), *Wheat Science—Today and Tomorrow*. Cambridge Press, 1–19.
- Huson DH, Rupp R, Scornavacca C, 2010. *Phylogenetic Networks: Concepts, Algorithms and Applications*. Cambridge University.
- İlhan D, Li X, Brummer C, Şakiroğlu M, 2016. Genetic Diversity and Population Structure of Tetraploid Accessions of the *Medicago sativa-falcata* Complex. *Crop Science*, 56: 1146-1156.
- Joshi SP, Gupta VS, Aggarwa RK, Ranjekar PK, Brar DS, 2000. Genetic Diversity and Phylogenetic Relationship as Revealed by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism in the Genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 1311–1320.
- Kacem NS, Muhovski Y, Djekoun A, Watillon B, 2017. Molecular Characterization of Genetic Variation in Soma Clones of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf) Using SSR markers. *European Scientific Journal*, 13: 426-437.
- Kara K, Rached-Kanouni M, Mnasri S, Khammar H, Ben Naceur MB, 2020. Genetic Variability Assessment in Bread Wheat (*Triticum aestivum*) Grown in Algeria Using Microsatellites SSR Markers. *Biodiversitas*, 21: 2638-2644.
- Karagöz A, 1996. Agronomic Practices and Socioeconomic Aspects of Emmer and Einkorn Cultivation in Turkey. In: Padulosi S, Hammer K, Heller J (eds) *Hulled Wheats, Promoting the Conservation and Used of Underutilized and Neglected Crops*. IPGRI, Rome, pp 172–177.
- Karagöz A, 2014. Wheat Landraces of Turkey. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 26: 149–156.
- Khan MK, Pandey A, Thomas G, Akkaya MS, Kayis SA, Ozsensoy Y, Hamurcu M, Gezgin S, Topal A, Hakkı EE, 2015. Genetic Diversity and Population Structure of Wheat in India and Turkey. *AoB PLANTS* 7:plv083; doi:10.1093/aobpla/plv083.
- Kumar S, Kumar V, Kumari P, Singh AK, Singh R, 2016. DNA Fingerprinting and Genetic Diversity Studies in Wheat Genotypes Using SSR Markers. *Journal of Environmental Biology*, 37: 319-326.
- Liu J, Muse SV, 2005. *PowerMarker: An Integrated Analysis Environment for Genetic Marker Analysis*. Raleigh, NC: North Carolina State University, Bioinformatics Research Center, 21: 2128-2129.
- Madhumati B, 2014. Potential and Application of Molecular Markers Techniques for Plant Genome Analysis. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 2 (1): 169-188.
- Mandal L, Verma Kumar S, Sasmal S, Katara J, 2018. Potential Applications of Molecular Markers in Plant. *Curr Trends Biomedical Eng&Biosci.*, 12 (4).

- Nei M, Tajima F, Tateno Y, 1983. Accuracy of Estimated Phylogenetic Trees from Molecular Data. *Journal of Molecular Evolution*, 19: 153-170.
- Pagnotta MA, Mondini L, Codianni P, Fares C, 2009. Agronomical, Quality and Molecular Characterization of Twenty Italian Emmer Wheat (*Triticum dicoccon*) Accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56: 299-310.
- Peakall R, Smouse PE, 2001. GenAIEx V6: Genetic Analysis in Excel Population Genetic Software for Teaching and Research. Australian National University, Canberra. <http://www.wanueduau/BoZo/GenAIE>.
- Peng JH, Sun D, Nevo E, 2011a. Will Emmer Wheat, *Triticum dicoccoides*, Occupies A Pivotal Position in Wheat Domestication Process. *Australian Journal of Crop Science*; 5 (9): 1127-1143.
- Perrino P, Hammer K, 1982. *Triticum monococcum* L. and *T. dicoccum* S. are still Cultivated in Italy. *Genetica Agraria*, 36: 303-311.
- Rafeipour M, Mirzaghaderi G, Shaaf S, Badakhshan H, 2016. SSR Assessment of the Genetic Diversity of Emmer Wheat with Emphasis on Iranian Landraces (*Triticum dicoccon* Schrank). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63: 595-600.
- Ren J, Chen L, Sun D, You FM, Wang J, Peng Y, Nevo E, Beiles A, Sun D, Luo M-C, Peng J, 2013. SNP-Revealed Genetic Diversity in Wild Emmer Wheat Correlates with Ecological Factors. *BMC Evolutionary Biology*, 13 (1): 169.
- Röder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M-H, Leroy P, Ganal MW, 1998. A Microsatellite Map of Wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
- Salehi M, Arzani A, Talebi M, Rokhzadi A, 2018. Genetic Diversity of Wheat Wild Relatives Using SSR Markers. *Genetika*, 50 (1): 131-141.
- Salunkhe T, Tamhankar S, Tetali S, Zaharieva M, Bonnett D, Trethowan R, Misra S, 2013. Molecular Genetic Diversity Analysis in Emmer Wheat (*Triticum dicoccon* Schrank) from India. *Genetic Resource and Crop Evolution*, 60: 165-174.
- Sarkar S, Singh AM, Chakraborti M, Singh SK, Ahlawat AK, Singh GP, 2014. Analysis of Genetic Diversity among the Indian Bread Wheat Cultivars Using Microsatellite (SSR) Markers. *Indian Journal Genetic*, 74 (4): 502-505.
- Shizuka T, Mori N, Ozkan H, Ohta S, 2015. Chloroplast DNA Haplotype Variation within Two Natural Populations of Wild Emmer Wheat (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) in Southern Turkey. *Biotechnology&Biotechnological Equipment*, 29 (3): 423-430.
- Tahir R, Abdul N, 2010. Germination Characteristics and Molecular Characterizations of Some Wheat Varieties in Sulaimanyah by SSR Marker. *Turk Journal Biology*, 34: 109-117.
- Verma SP, VN Pathak, OP Verma 2019. Interrelationship between Yield and Its Contributing Traits in Wheat (*Triticum aestivum* L). *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 8 (2):3209-3215.
- Zaharieva M, Geleta AA, Al H, Satish CM, Monneveux P, 2010. Cultivated Emmer Wheat (*Triticum dicoccon* Schrank), An Old Crop with Promising Future. *Genetic Resource and Crop Evolution*, 157: 937-962.
- Zarei Abbasabad E, Mohammadi SA, Moghaddam M, Jalal Kamali MR, 2016. Analysis of Genetic Diversity, Population Structure and Linkage Disequilibrium in Iranian Wheat Landraces Using SSR Markers. *Plant Genetic Resources*, 1:1-8.

Atf İçin: Çelik T, Könen Adıgüzel S, Adıgüzel AO, 2021. Gümüş Nanoparçacıklarının *Kribbella turkmenica* 16K104 Aracılığıyla Sentezi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi ve Genotoksik Potansiyelinin Değerlendirilmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3138-3151.

To Cite: Çelik T, Könen Adıgüzel S, Adıgüzel AO, 2021. Synthesis of Silver Nanoparticles by *Kribbella turkmenica* 16K104, Their Characterization, Antimicrobial Properties and Genotoxic Potential. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3138-3151.

Gümüş Nanoparçacıklarının *Kribbella turkmenica* 16K104 Aracılığıyla Sentezi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi ve Genotoksik Potansiyelinin Değerlendirilmesi

Tuğba ÇELİK¹, Serpil KÖNEN ADIGÜZEL², Ali Osman ADIGÜZEL^{1*}

ÖZET: Gümüş nanoparçacıklarının (AgNPs) bakteriler aracılığıyla ekstraselüler sentezi çevre dostu ve ekonomik bir yaklaşım olması nedeniyle oldukça popüler hale gelmiştir. Sunulan bu çalışmada AgNP'ler *Kribbella turkmenica* 16K104'ün kültür sıvısı kullanılarak sentezlenmiştir. Fiziko-kimyasal koşulların ve kültür ortamı bileşenlerinin AgNP'lerin sentezi üzerine etkileri araştırılarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar altında sentezlenen AgNP'ler karakterize edilmiştir. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) analizi ile sentezlenen parçacıkların küresel şekilde oldukları belirlenmiştir. Dinamik Işık Saçılımı (DLS) analizi ile AgNP'lerin 4-20 nm boyutları arasında homojen dağılım gösterdikleri görülmüş, ortalama parçacık boyutunun 6 nm ve zeta potansiyelinin ise -30.6 ± 10.1 olduğu tespit edilmiştir. Sentezlenen AgNP'lerin patojen bakteriyel suşlar karşısında önemli düzeyde inhibe edici ve bakteriyosidal etki gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, AgNP'lerin Hep G2 hücreleri üzerindeki genotoksik potansiyeli değerlendirilmiş ve 24 saatlik maruziyette AgNP'lerin $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'ye kadar önemli bir genotoksik etkisi gözlemlenmemiştir. Sunulan bu çalışma ile farmasötik, gıda, tekstil ve polimer endüstrileri için uygun fiziksel ve biyolojik özelliklere sahip AgNP'lerin *Kribbella* taksonunda bir bakteri türü aracılığıyla sentezi literatüre kazandırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gümüş nanoparçacıkları, yeşil sentez, *Kribbella*, antimikrobiyal aktivite, Hep G2, genotoksisite

Synthesis of Silver Nanoparticles by *Kribbella turkmenica* 16K104, Their Characterization, Antimicrobial Properties and Genotoxic Potential

ABSTRACT: Extracellular synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) by bacteria has become very popular due to its environmentally friendly and economical approach. In the present study, AgNPs were synthesized culture liquid of *Kribbella turkmenica* 16K104. Effects of physico-chemical conditions and components of culture medium on synthesis of AgNPs were investigated and then synthesis was optimized. AgNPs synthesized under optimum condition were characterized. Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis showed that the particles were spherical in shape. Dynamic Light Scattering (DLS) analysis Indicated that AgNPs were 4-20 nm in size and showed homogeneous distribution. Average particle size and zeta potential of AgNPs was detected to be 6 nm and -30.6 ± 10.1 , respectively. It was determined that the AgNPs exhibited inhibitory and cidal activity against significant bacterial strains. In addition, genotoxic potential of the AgNPs on Hep G2 cells was assessed. Significant genotoxic effect did not observe after exposure with 0-16 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of AgNPs for 24 h. As a result, this is the first report on the extracellular synthesis of AgNPs with usage potential in pharmaceutical, food, textile and polymer industries using a *Kribbella* species.

Keywords: Silver nanoparticles, green synthesis, *Kribbella*, antimicrobial activity, Hep G2, genotoxicity

¹Tuğba ÇELİK, Ali Osman ADIGÜZEL ([Orcid ID: 0000-0002-5602-5886](https://orcid.org/0000-0002-5602-5886)), Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Samsun, Türkiye

²Serpil KÖNEN ADIGÜZEL ([Orcid ID: 0000-0002-7959-3771](https://orcid.org/0000-0002-7959-3771)), Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ali Osman ADIGÜZEL, e-mail: adiguzel.ali.osman@gmail.com

Bu çalışma Tuğba ÇELİK'in yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Nanoparçacıklar boyutları 0.1-100 nm arasında değişiklik gösteren atom kümeleridir. Geniş yüzey alanına sahip olmaları, yüksek enerjili olmaları ve daha az kusurlu şekilleri nedeniyle fiziksel, kimyasal, elektronik, elektrik, mekanik, manyetik, termal, optik ve biyolojik özellikleri açısından yığın halindeki ve mikron boyutundaki malzemelerden farklılık göstermektedirler (Hussain ve ark., 2016; Rafique ve ark., 2016). Son yılların en öne çıkan malzemelerinden olup mühendislik uygulamalarında, tıpta, endüstride, kozmetikte, farmakoloji ve çevre biyoteknolojisinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadırlar (de Souza ve ark., 2019). Bunlar arasından en yaygın kullanıma sahip olanları gümüş nanoparçacıklarıdır (AgNP'ler). AgNP'ler geniş spektrumlu antimikrobiyal etkiye sahiptirler ve metal, plastik, macun ve kumaş gibi ürünlere karıştırılarak yeni kompozit materyallerin yapımında kullanılabilirler.

AgNP'ler geleneksel olarak kimyasal indirgeme, gama ışını radyasyonu ile indirgeme, mikroemülsiyon, lazer ablasyonu, otoklavlama, mikrodalga ile fırınlama ve fotokimyasal redüksiyon gibi kimyasal ve fizikokimyasal yöntemler kullanılarak üretilmektedirler (Ahmad ve ark., 2019). Ancak, bu geleneksel yöntemlerde toksik bileşenlerin kullanımı, toksik yan-ürün oluşumu, yüksek enerji ihtiyacı ve yüksek işletme maliyeti gibi sınırlamalar olduğu için "yeşil sentez" olarak da adlandırılan organizmaların ya da organizmalardan elde edilen bileşenlerin kullanıldığı sentez süreçlerine olan ilgi artmıştır (Taha ve ark., 2019).

AgNP'lerin yeşil sentezi ökaryotik ve prokaryotik organizmaların kullanıldığı süreçler olarak gruplandırılabilir. Ökaryotlar ile gerçekleştirilen sentez süreçlerinde indirgeyici ajan olarak sıklıkla bitkilerden elde edilmiş özütler kullanılmaktadır (Sharma ve ark., 2019). Bitkilerin kullanıldığı sentez süreçleri sonunda elde edilen AgNP'lerin her ne kadar güçlü antimikrobiyal etkileri ve yüksek biyolojik uyumlulukları görülsede üretim maliyetleri oldukça yüksektir. Endemik bitkilerin toplanması, kültüre edilebilir bitkilerin geliştirilmesi için gerekli ilaçlama, sulama ve alan ihtiyacı giderleri nanopartikül sentez maliyetini önemli ölçüde artırmaktadır. Ayrıca, bitki özütlerinin elde edilme süreçlerinde suyun dışında çözücülerin kullanılması ve ekstraksiyonun yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilmesi de yüksek maliyetlere sebep olmaktadır (Das ve Smita, 2018; Rajkumar ve ark., 2019). Diğer ökaryotlardan alglerin, mayaların ve küflerin hücre içi moleküllerinin ya da hücre dışına salgıladıkları bileşenlerin kullanıldığı sentez süreçlerine ilişkin de çok sayıda araştırma rapor edilmiştir (Saratale ve ark., 2018; Zhao ve ark., 2018; Vinoth ve ark., 2019). AgNP'lerin sentezinde bu organizmaların daha az kullanışlı olmasındaki ana sebep ise sentezde rol alan moleküllerin saflaştırılmalarındaki ya da rekombinant DNA teknolojisiyle üretilmelerindeki zorluktur (Khan ve ark., 2018).

AgNP'lerin sentezinde kullanılan prokaryotların başında bakteriler gelmektedir (Narayanan ve Sakthivel, 2010). Bakteriyel sentez intraselüler ve ekstraselüler olmak üzere iki farklı yöntemle yapılabilmektedir (Singh ve ark., 2015). İntraselüler sentezde uygun bir kültür ortamında geliştirilen bakteri hücrelerinin ozmotik olarak parçalanmasıyla açığa çıkan hücre lizatı indirgeyici ajan olarak kullanılır (Adiguzel ve ark., 2018; Abdollahnia ve ark., 2020). Ekstraselüler sentezde ise aynı amaç için bakteriyel gelişim sonrasında elde edilen kültür sıvısı kullanılmaktadır (İqtedar ve ark., 2019; Taha ve ark., 2019) İntraselüler sentez maliyeti ilave bir liziz basamağı gerektirdiği için daha yüksektir. Ayrıca, intraselüler AgNP sentezi sonrasında arta kalan hücre atığının başka bir amaçla kullanım olanağı bulunmazken, ekstraselüler sentez sonrası kalan biyokütlenin protein kaynağı olarak hayvan yemi ya da bitki gelişimini teşvik etmek amacıyla organik gübre olarak kullanılma potansiyeli bulunmaktadır.

Toprakta yaygın olarak bulunan aktinobakteriler polimerlerin parçalanmasında ve minerallerin jeokimyasal dönüşümünde başat rol oynamaktadırlar (Katsuyama, 2019). Aktinobakteriler, AgNP'lerin sentezinde indirgeyici ve stabilize edici rol oynayan başta enzimler olmak üzere çok sayıda metaboliti hücre dışına salgılama yeteneğine sahiptirler (Anteneh ve Franco, 2019). Bundan dolayı, AgNP'lerin ekstraselüler olarak sentezinde kullanım potansiyeline sahiptirler. Literatürde AgNP'lerin aktinobakteriyel türler aracılığıyla ekstraselüler sentezine yönelik az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bunların çoğunda ise *Streptomyces* taksonunda yer alan türler kullanılmıştır (Sanjenbam ve ark., 2014; El-Naggar ve Abdelwahed, 2014; Kumar ve ark., 2015).

Gerçekleştirilen bu çalışmada, *Kribbella turkmenica* 16K104 kullanılarak AgNP'lerin ekstraselüler sentezi, sentez koşullarının optimizasyonu ve sentezlenen nanoparçacıkların karakterizasyonu üzerine odaklanılmıştır. Ayrıca, sentezlenen AgNP'lerin biyolojik özellikleri ve genotoksik potansiyeli belirlenmiştir. Sunulan bu çalışma, *Kribbella* taksonunda sınıflandırılan bir bakteri türü ile AgNP'lerin sentezine ilişkin bilgimiz dahilindeki ilk çalışmadır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Gümüş nanopartiküllerinin sentezinde kullanılan *Kribbella turkmenica* 16K104 izolatu Dr. Nevzat Şahin ve Dr. Hayrettin Saygın'dan temin edilmiştir (Saygın ve ark., 2019). *K. turkmenica* 16K104 Uluslararası Streptomyces Projesi Besiyeri 2'de (ISP2: 4 g L⁻¹ maya özütü, 10 g L⁻¹ malt özütü, 4 g L⁻¹ glukoz ve 20 g L⁻¹ agar) 30 °C'de 3 gün süre ile inkübe edilerek geliştirilmiştir. Sentezlenen nanoparçacığın antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla patojenik *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. (VRE), *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia* spp., *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Citrobacter freundii*, *Corynebacterium striatum*, *Streptococcus pneumoniae* suşları kullanılmıştır. Patojen bakteri suşları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Bu suşlar Mueller Hinton Agar (MHA: 2 g L⁻¹ et infüzyonu, 17.5 g L⁻¹ kazein hidrolizatu, 1.5 g L⁻¹ çözünebilir nişasta ve 13.0 g L⁻¹ agar) yüzeyinde 35 °C'de 24 saat inkübe edilerek geliştirilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm bakteri suşları %20 oranında (v/v) gliserol içeren Nutrient Broth çözeltisi içerisinde -20 °C'de uzun süreli olarak saklanmıştır. Çalışmada kullanılan tüm besiyerlerinin pH'ları 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak 7.2 ± 0.2'ye ayarlanmıştır. Besiyerlerinin sterilizasyonu 1 atm basınç altında ve 121 °C sıcaklıkta Tuttnauer 3870MLV marka otoklav ile gerçekleştirilmiştir.

AgNP'lerin Sentezi ve Reaksiyon Koşullarının Optimizasyonu

ISP2 besiyeri üzerinden alınan bir öze dolusu *K. turkmenica* 16K104 MGYP besiyerinde (3 g L⁻¹ malt özütü, 3 g L⁻¹ maya özütü, 5 g L⁻¹ pepton, 10 g L⁻¹ glukoz, pH 7.2 ± 0.2) 30 °C'de 180 rpm çalkalamalı koşullar altında 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, *K. turkmenica* 16K104 kültürünün 10 000 x g'de 10 dk santrifüjlenmesiyle elde edilen kültür sıvısı reaksiyon karışımı ana bileşeni olarak kullanılmıştır. AgNP'lerin sentezi için reaksiyon ortamı 49 mL kültür sıvısı üzerine 1 mL AgNO₃ çözeltisi eklenerek hazırlanmıştır. AgNO₃ konsantrasyonunun AgNP'lerin sentezi üzerine etkisinin araştırılması için farklı konsantrasyonlarda AgNO₃ (0,5-3 mM) içeren reaksiyon karışımları (pH 8.0) 40 °C'de 2 gün inkübe edilmiştir. Sıcaklığın AgNP'lerin sentezi üzerine etkisinin araştırılması için pH'sı 8.0 olan ve 2 mM AgNO₃ içeren reaksiyon karışımı farklı sıcaklıklarda (20-50 °C) 2 gün inkübe edilmiştir. Son olarak, pH'nın AgNP'lerin sentezi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, farklı pH'lara sahip (pH 4-10) ve 2 mM AgNO₃ içeren reaksiyon karışımları 50 °C'de 2 gün süre ile inkübe edilmiştir.

Üretim ve optimizasyon çalışmalarında reaksiyon ortamlarının açık sarı renkten koyu kahverengimsi renge dönüşmesi nanopartikül oluşumunu göstermiştir. Ayrıca, sentezlenen nanopartiküllerin yüzey plazmon rezonanslarını (Surface Plasmon Rezonans, SPR) gösteren pikler reaksiyon karışımlarının 300-800 nm dalgaboyları arasındaki absorpsiyon spektrumlarının çizilmesi ile gösterilmiştir. Spektrumun çizilmesi için ölçümler 1 nm çözünürlükte UV-Vis spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir deneyin negatif kontrolü için kültür sıvısı yerine ultra saf su kullanılmıştır.

AgNP'lerin Sentezi İçin Kültür Besiyerinin Optimizasyonu

K. turkmenica 16K104'ün kültüve edildiği besiyerindeki bileşenlerin AgNP'lerin sentezi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla *K. turkmenica* 16K104 farklı konsantrasyonlarda pepton (0-2 g L⁻¹), maya özütü (0-3 g L⁻¹), malt özütü (0-3 g L⁻¹) ve glukoz (0-10 g L⁻¹) içeren modifiye edilmiş MGYB besiyerlerinde 30 °C'de ve 180 rpm çalkalamalı koşullar altında 5 gün süresince inkübe edilmiştir. İnkübasyon 250 mL'lik erlenlerde 50 mL besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda, kültür sıvıları santrifügasyonla (10 000 x g, 10 dk) geri kazanıldıktan sonra pH'ları 9.0'a ayarlanmıştır. Sentez 49 mL kültür sıvısı ve 1 mL 100 mM'lık AgNO₃ ile hazırlanan karışımın 50 °C'de 2 gün süre ile karanlıkta inkübe edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda reaksiyon karışımı 2 kat saf su ile seyreltilerek 300-800 nm dalgaboyları arasındaki absorpsiyon spektrumları çizilmiştir.

AgNP'lerin Karakterizasyonu

Karakterizasyon çalışmaları için AgNP'ler 13 000 x g'de 20 dk santrifüjlenerek çöktürülmüş ve ultra saf su ile 3 kere yıkandıktan sonra karakterizasyon çalışmaları için hacminin 2 katı kadar saf su içerisinde +4 °C'de saklanmıştır. Şekil ve boyut analizi için, AgNP'ler 2 mm²'lik lam parçaları üzerinde kurutulduktan sonra altınla kaplanarak Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile görüntülenmiştir. Nanoparçacıkların elemental analizi ise Enerji Dağılım Spektrometresi (EDS) ile gerçekleştirilmiştir. Boyut dağılımları Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ile yüzey yükleri ise zeta potansiyeli ölçümü ile belirlenmiştir.

Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları İçin Aşı Süspansiyonlarının Hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında mililitresinde yaklaşık 1.5 x 10⁸ bakteri bulunan süspansiyonlar aşı olarak kullanılmıştır. Aşı süspansiyonu; MHB besiyerinde geliştirilen bakterilerin santrifügasyonla (10 000 x g, 10 dk) çöktürülmesinden sonra %0.9'luk NaCl çözeltisinde (fizyolojik tuzlu su, FTS) seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlar her çalışma için taze olarak hazırlanmış ve 30 dk içinde kullanılmıştır. Bakteri sayıları MacFarland standartları kullanılarak hesaplanmıştır.

Disk Difüzyon Yöntemi

Aşı süspansiyonlarından 100 µL alınarak MHA besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra steril test diskleri (6 mm) besiyerlerinin yüzeylerine yerleştirilmiştir. Sonrasında, diskler üzerine saf su ile hazırlanmış 32, 64 ve 128 µg mL⁻¹'lik AgNP kolloyidal çözeltilerinden 15'er µL emdirilmiştir. Besiyerleri 37 °C'de 2 gün süresince inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, test diskleri etrafında inhibisyon zonu oluşumu gözlemlenmiştir. Negatif kontrol için disk üzerine 15'er µL saf su emdirilmiştir.

Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (MİK) ve Minimum Bakteriyosidal Konsantrasyon (MBC) Değerlerinin Belirlenmesi

Sentezlenen AgNP'lerin patojenlere karşı MİK değerlerinin belirlenmesi için mikrodilüsyon tekniği kullanılmıştır. AgNP'lerin MHB besiyeri ile hazırlanan 0.5-512 µg mL⁻¹'lik ikişer katlı seri dilüsyonlarının herbirinden 150'şer µL mikrotitrasyon kuyucuklarına aktarılmış ve üzerlerine 147'şer

μL MHB besiyeri ilave edilmiştir. Daha sonra, her bir kuyucuğa mililitresinde yaklaşık 5×10^7 hücre bulunan bakteri süspansiyonundan $3 \mu\text{L}$ eklenerek plakalar 24 saat boyunca 37°C 'de bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda, mikrotitrasyon kuyucuklarında bakteriyel gelişimin gözlemlenmediği en düşük AgNP konsantrasyonu MİK değeri olarak saptanmıştır. MBC değerinin bulunması için bakterilerin gelişim gösteremediği kuyucuklardan 10'ar μL çekilerek MHA yüzeyine damlatılmış ve besiyerleri 37°C 'de 24 saat inkübe edildikten sonra koloni oluşumu gözlemlenmiştir. Bakteriyosidal etki gösteren en düşük AgNP konsantrasyonu MBC değeri olarak değerlendirilmiştir. Çalışmalar her bir bakteri için 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol olarak AgNP'siz besiyeri kullanılmıştır.

AgNP'lerin Genotoksisite Potansiyelinin Araştırılması

Bu çalışmada nanopartikülün genotoksisite potansiyelinin değerlendirilmesinde model hücre olarak Hep G2 hücre hattı seçilmiştir. Hep G2 hücre hattı çeşitli ajanların sitotoksisite ve genotoksisitesinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Hep G2 hücreleri; % 10 dana serumu, % 1 penisilin – streptomisin içeren Eagle's Minimum Essential mediumda 37°C 'de % 5 CO_2 içeren atmosferde çoğaltılmıştır. Hücreler %80-95 konfluent olduğunda, fosfat tamponu ile iki kez yıkanmış ve tripsin-EDTA kullanılarak hücreler kaldırılmıştır. Hücre canlılığı ve sayısı Cedex Smart Slide kullanılarak belirlenmiştir. İstenen sayıda hücre 24 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve 24 saat boyunca hücrelerin tutunması sağlanmıştır. 24 saat sonunda hücreler AgNP'lerinin belirlenen konsantrasyonlarına 24 saat boyunca maruz bırakılmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak hidrojen peroksit kullanılmıştır.

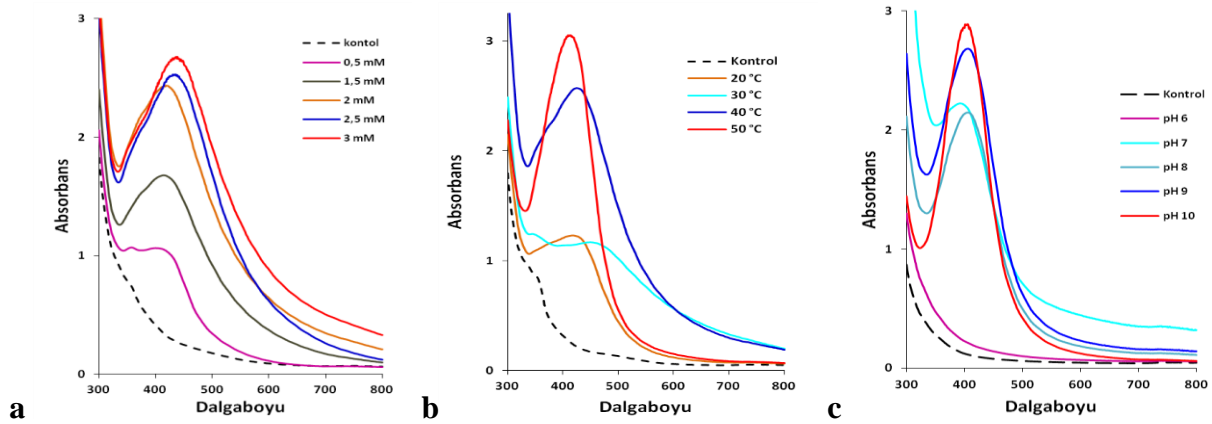
Tek hücre jel elektroforezi olarak da bilinen komet testi, bazı küçük değişiklikler uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Gümüş nanoparçacıklarının belirlenen konsantrasyonlarına 24 saatlik maruziyetini takiben, hücreler tripsin-EDTA kullanılarak kaldırılmıştır. Tripan mavisi kullanılarak hücre canlılığı belirlenmiştir. Sonrasında hücreler düşük erime noktalı agarla karıştırılmış ve daha önce normal erime noktalı agarla kaplanmış lamlara yayılmıştır. Lamelle kapatılan lamlar 20 dakika boyunca 4°C 'de bekletilmiştir. 20 dakika sonunda lameller nazikçe kaldırılmış ve lamlar 1 saat boyunca soğuk lizis solüsyonunda bekletilmiştir. Lizis aşaması ve bundan sonraki basamakların hepsi DNA hasarını önlemek için karanlık ortamda gerçekleştirilmiştir. Lizis işleminden sonra lamlar, elektroforez solüsyonunda 20 dakika bekletildikten sonra 300 mA, 25 V, 20 dakika yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işleminden sonra lamlar nötralize edilmiştir. Hava ile kurutulan lamlar etidyum bromid ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) ile işaretlenmiş ve floresan mikroskop kullanılarak hücrelerdeki DNA hasarı kuyruk uzunluğuna göre değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

AgNP Sentezi İçin Reaksiyon Koşullarının Optimizasyonu

AgNP'lerin sentezi reaksiyon karışımının açık sarı renkten koyu kahverengiye dönüşümüyle kalitatif olarak, UV-Vis spektrofotometrik analizlerle ise kantitatif olarak takip edilebilmektedir. AgNP'lerin sentezi reaksiyon karışımının spektral analizi sonucunda 400-450 nm arasında belirgin bir yüzey plazmon pikinin açığa çıkmasına sebep olmaktadır. Daha önce gerçekleştirilen birçok araştırmada reaksiyon karışımında artan nanoparçacık miktarına paralel olarak yüzey plazmon pikine ait tepe noktası optik yoğunluğunun (OD) arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu pikin keskinliği sentezlenen parçacıkların boyut dağılımının görece homojenliğini göstermektedir. Bundan dolayı AgNO_3 konsantrasyonu, sıcaklık ve pH'nın *K. turkmenica* 16K104 kültür sıvısı ile AgNP'lerin sentezi üzerine etkileri yüzey plazmon pikinin varlığı, şiddeti ve genişliği temel alınarak değerlendirilmiştir. Sentez sonrası reaksiyon karışımlarının 300-800 nm dalgaboyları arasındaki absorpsiyon spektrumları Şekil

1'de gösterilmiştir. Negatif kontrollerin hiçbirinde AgNP'lerin senteziyle ilişkili bir renk değişimi meydana gelmemekle birlikte absorpsiyon spektrumlarında herhangi bir yüzey plazmon pikine rastlanmamıştır. Reaksiyon karışımındaki AgNO₃ konsantrasyonunun 0.5 mM'dan 2 mM'a artırılmasıyla sentezlenen AgNP'lere ait yüzey plazmon piki tepe noktalarının optik yoğunluğunda önemli bir artış kaydedilmiştir. Fakat AgNO₃ konsantrasyonunun daha fazla artırılması yüzey plazmon piki tepe noktasına ait optik yoğunluk değerinde önemli bir artış meydana getirmemiştir. Ayrıca, AgNO₃ konsantrasyonunun 2 mM'dan 2.5 mM ve 3 mM'a yükseltilmesi neticesinde pik tepe noktasının 416 nm'den 438 nm'ye kaydığı ve piklerin genişlediği gözlemlenmiştir. Bu durum; sentezlenen nanopartiküllerin boyutlarında artış, homojenitesinde ise azalma olduğu şeklinde yorumlandığı için optimum AgNO₃ konsantrasyonu 2 mM olarak belirlenmiştir. İnkübasyon sıcaklığının 40 °C'nin altına düşürülmesi nanoparçacık sentezinde önemli oranda azalmaya sebep olmuştur. Ayrıca, bu sıcaklıklarda yüzey plazmon piklerinin genişlediği de gözlemlenmiştir. Sentez sürecinin 50 °C'de gerçekleşmesiyle nanoparçacıkların yüzey plazmon pikine ait tepe noktasının optik yoğunluğunda artış gözlemlenmiştir. Diğer sıcaklıklarla karşılaştırıldığında, 50 °C'de sentezlenen AgNP'lere ait yüzey plazmon pikinin daha keskin olduğu da tespit edilmiştir. Reaksiyon karışımındaki kültür sıvısının pH'sı 6'ya ayarlandığında AgNP'lerin sentezi gerçekleştirilememiştir. AgNP'lerin sentez yoğunluğunun pH 7 ve pH 8'de benzer seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, pH 9 ve pH 10'da AgNP'lerin sentezinde önemli bir artış tespit edilmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde AgNP'lerin sentezi için en uygun AgNO₃ konsantrasyonunun 2 mM olduğu, sıcaklık ve pH derecelerinin ise sırasıyla 50 °C ve pH 10 olduğuna karar kılınmıştır.



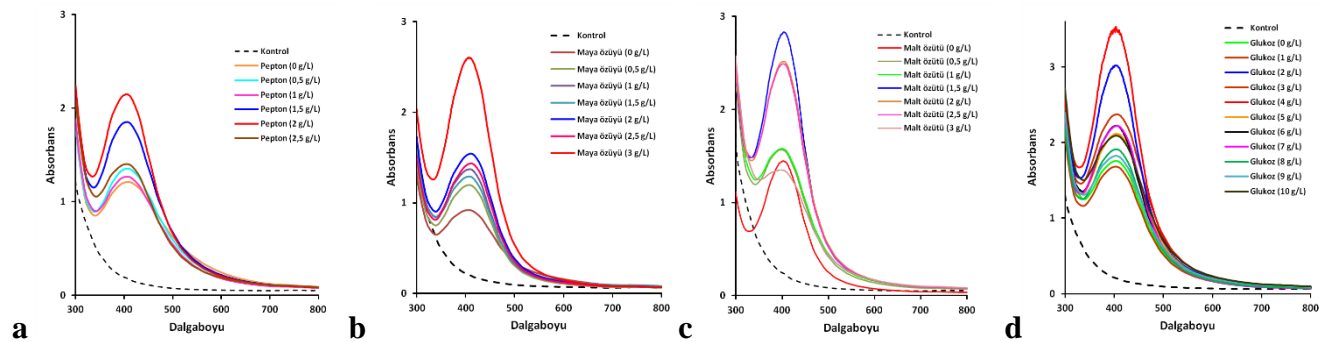
Şekil 1. Farklı AgNO₃ konsantrasyonunda (a), farklı sıcaklıklarda (b) ve farklı pH'larda (c) sentezlenen AgNP'lerin 300-800 nm dalga boyları arasındaki absorpsiyon spektrumları

Streptomyces albogriseolus (Samundeeswari ve ark., 2012), *Streptomyces* sp. LK3 (Karthik ve ark., 2014), *Pilimelia columellifera* (Golińska ve ark., 2016), *Nocardioopsis valliformis* (Rathod ve ark., 2016) ve *Streptomyces* sp. NH28 (Skladanowski ve ark., 2016) gibi aktinobakterilerle gerçekleştirilen çalışmalarda AgNP'lerin ekstraselüler sentezi için reaksiyon ortamına 1 mM AgNO₃ ilave edilmiştir. Çalışmalar neticesinde, yüzey plazmon piki tepe noktalarının 420-423 nm aralıklarında olduğu ve bu piklere ait maksimum absorpsiyonun ise 0.2-1 OD (optik yoğunluk) olduğu rapor edilmiştir. *Streptacidiphilus* sp. CGG11'nin kültür sıvısı ile gerçekleştirilen sentez çalışmasında ise başlangıçtaki AgNO₃ konsantrasyonu 1.5 mM'a ayarlanmış ve 27 °C'de 7 günlük inkübasyon sonunda sentezlenen AgNP'lere ait yüzey plazmon piki tepe noktasının 420-430 nm arasında ve OD değerinin yaklaşık 1.2 olduğu bildirilmiştir (Railean-Plugaru ve ark., 2016). Sunduğumuz bu çalışmada, reaksiyon koşullarının

optimizasyonu neticesinde tepe noktası 405 nm ve OD'si 2.89 olan yüzey plazmon piki elde edilmiştir. Bu durum, reaksiyon koşulları optimizasyonunun önemini ortaya koymaktadır.

AgNP'lerin Sentezi İçin Kültür Besiyerinin Optimizasyonu

Biyolojik yollarla sentezlenen nanoparçacıkların ticari olarak kullanılabilmesinde ve kimyasal yöntemlerle sentezlenen muadilleri ile rekabet edebilmesindeki kritik etmenlerden biri maliyetleridir. Bu nedenle bakterinin geliştirildiği kültür ortamı bileşenlerinin AgNP'lerin sentezi üzerine etkileri yüzey plazmon pikinin şiddeti ve genişliği temelinde araştırılmış ve sentez maliyeti azaltılmıştır (Şekil 2). Buna göre, pepton yoğunluğunun 2.5 g L^{-1} 'den 2 ve 1.5 g L^{-1} ye düşürülmesiyle nanoparçacıkların sentezinde önemli seviyede artış kaydedilmiştir. Peptonun daha düşük konsantrasyonlarında ise nanoparçacıkların sentezinde azalma gözlemlenmiştir. Besiyerindeki maya özütü konsantrasyonunun azaltılması ise nanoparçacıkların sentezini önemli oranda azaltmıştır. Malt özütü konsantrasyonu 1.5 g L^{-1} 'nin üzerine çıkarıldığında ya da altına düşürüldüğünde nanoparçacıkların sentezinde azalma görülmüştür. Ayrıca, besiyerinde bulunan glukoz konsantrasyonunun AgNP'lerin sentezi üzerine etkisi araştırılmış ve en uygun konsantrasyonun 4 g L^{-1} olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, nanopartikül sentezinde kullanılmak üzere *K. turkmenica* 16K104'nın kültürasyonu için besiyerinde bulunması gereken optimum pepton, maya özütü, malt özütü ve glukoz konsantrasyonunun sırasıyla 2 g L^{-1} , 3 g L^{-1} , 1.5 g L^{-1} ve 4 g L^{-1} olması gerektiği tespit edilmiştir. Böylece, daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere AgNP'ler optimum koşullar altında sentezlenmiştir. Bu koşullarda sentezlenen AgNP'ler için tepe noktası 403 nm 'de olan güçlü ve keskin bir yüzey plazmon piki belirlenmiştir.



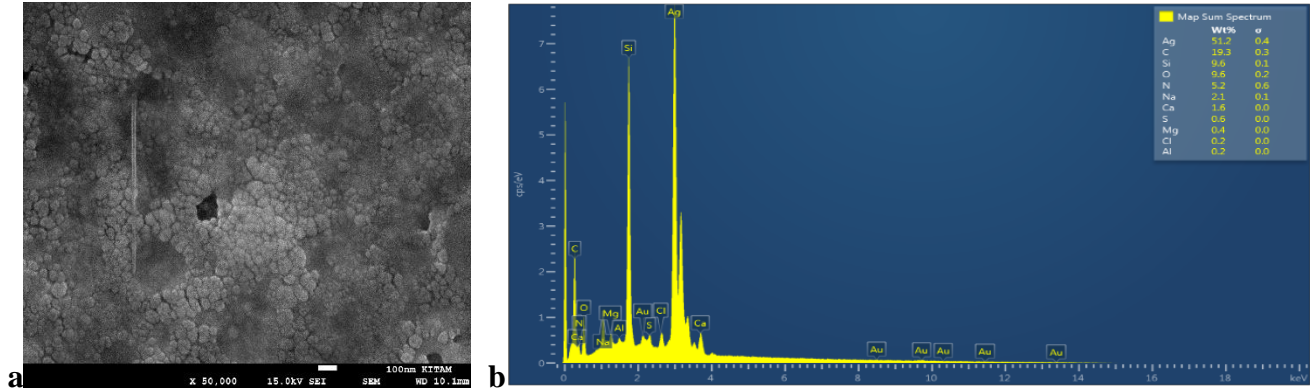
Şekil 2. *K. turkmenica* 16K104'nın kültürüne eildiği besiyerinde farklı konsantrasyonlarda pepton (a), maya özütü (b), malt özütü (c) ve glukoz (d) varlığında sentezlenen AgNP'lerin 300-800 nm dalgaboyları arasındaki absorpsiyon spektrumları

AgNP'lerin Karakterizasyonu

Optimum koşullar altında sentezlenen AgNP'lerin SEM görüntüleri Şekil 3a'da gösterilmiştir. AgNP'lerin 50000 büyütme ile alınan SEM mikrofrafına göre küresel şekilde oldukları ve boyutlarının ise 5-50 nm arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde; *Sinomonas mesophila* MPKL 2 (Manikprabhu ve ark., 2016), *Halomonas* sp. (Abdollahnia ve ark., 2020), *Pseudomonas* sp. THG-LS1.4 (Singh ve ark., 2018), *Sporosarcina koreensis* DC4 (Singh ve ark., 2016), ve *Enterobacter cloacae* (Ashraf ve ark., 2019) aracılığıyla ekstraselüler olarak sentezlenen AgNP'lerin 50 nm'den daha küçük oldukları belirtilmiştir. Bununla birlikte; bazı araştırmacılar ise *Bacillus subtilis* (Altinsoy ve ark., 2019), *Bacillus mojavensis* BTCB15 (İqtedar ve ark., 2019) ve *Bacillus brevis* (Saravanan ve ark., 2018) ile üretilen AgNP'lerin ise 50 nm'den büyük olduklarını rapor etmişlerdir.

SEM ile görüntülenen AgNP'lerin varlığı EDS analizi sonucunda tespit edilen güçlü gümüş sinyali ile teyit edilmiştir (Şekil 3b). Ayrıca, kaplamadan kaynaklı altına (Au), analiz yapılan zeminin cam olmasından kaynaklı silisyuma (Si), reaksiyon karışımındaki organik bileşiklerin nanopartikül

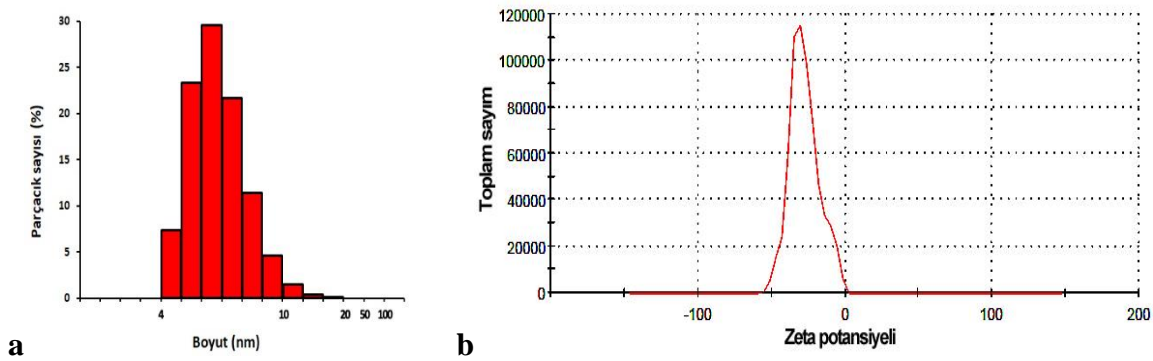
yüzeyinde stabilize edici ajan olarak bulunmasından kaynaklı olarak da azot (N), oksijen (O) ve kükürte (S) ait sinyaller de gözlemlenmiştir.



Şekil 3. Optimum koşullarda sentezlenen AgNP'lerin SEM mikrografı (a) ve elemental analiz sonuçlarını gösteren EDS grafiği (b)

Sentezlenen AgNP'lerin boyut dağılımları DLS ile araştırılarak Şekil 4a'da gösterilmiştir. Analiz sonucunda hesaplanan 0.311'lik polidispersite indisi (PDI < 0.5) AgNP'lerin boyut dağılımının homojen olduğunu göstermiştir. Nanopartiküllerin endüstriyel uygulamalarda kullanılabilmesi için çözelti içerisindeki boyut dağılımının oldukça dar sınırlar içinde olması arzu edilmektedir. DLS analizi neticesinde sentezlenen AgNP'lerin arzu edildiği gibi 4-20 nm boyutları arasında dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Literatür araştırması neticesinde, sentezlenen AgNP'lerin boyut dağılımının *Bacillus FUM1* (Bahrami-Teimoori ve ark., 2019), *Streptomyces griseoplanus* SAI-25 (Vijayabharathi ve ark., 2018), *Pseudomonas deceptionensis* DC5 (Jo ve ark., 2016), *Streptomyces rochei* MHM13 (Abd-Elnaby ve ark., 2016.), *Stenotrophomonas maltophilia* (Oves ve ark., 2013) ve *Sporosarcina koreensis* DC4 (Singh ve ark., 2016) ile sentezlenen AgNP'lere göre daha dar sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür. Ayrıca, ortalama parçacık büyüklüğü 6 nm olarak hesaplanmıştır. Farklı aktinobakteriyel türler aracılığıyla sentezlenen AgNP'lerle karşılaştırıldığında, *K. turkmenica* 16K104 ile sentezlenen AgNP'lerin ortama boyutlarının daha küçük olduğu görülmektedir (Otari ve ark., 2012).

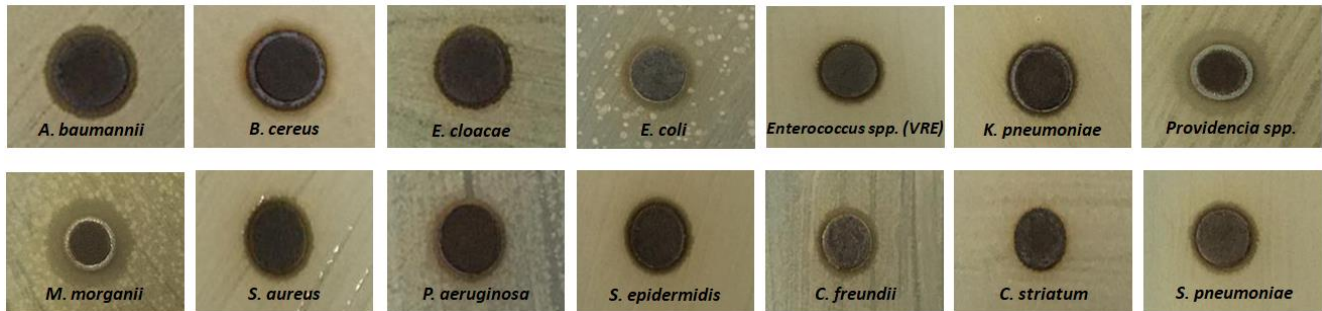
Nanoparçacıkların karakterizasyonunda önemli diğer bir parametre ise sahip oldukları zeta potansiyelleridir. Zeta potansiyeli 0 mV ve 0 mV'ye yakın olan parçacıkların kararlılıkları düşük olduğu için topaklanma ve sedimentasyon eğilimindedirler (Yazıcı ve ark., 2018; Budama-Kılınç, 2019). Fakat kolloidal bir çözelti önemli ölçüde pozitif (> +30 mV) veya negatif (< -30 mV) zeta potansiyeline sahipse birbirlerini itecekleri için daha iyi dağılım gösterirler. *K. turkmenica* 16K104 aracılığıyla sentezlenen AgNP'lerin zeta potansiyeli -30.6 ± 10.1 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4b). Anasane ve ark. (2016) filogenetik olarak *Pilimelia columellifera* ile oldukça yakın ilişkili olan aktinobakteriyel bir izolat aracılığıyla sentezledikleri AgNP'lerin zeta potansiyelini $-18,6$ mV olarak ölçmüşlerdir. Mohanta ve Behera (2014). *Streptomyces* sp. SS2 ile sentezlenen AgNP'lerin zeta potansiyelini ise $-17,7 \pm 5.30$ mV olarak tespit etmişlerdir.



Şekil 4. DLS analizi sonucunda *K. turkmenica* 16K104 aracılığıyla sentezlenen AgNP'lerin boyut dağılımını (a) ve zeta potansiyelini (b) gösteren grafikler

AgNP'lerin Disk Difüzyon Tekniği ile Bakteriler Üzerine Etkilerinin Taranması

Sentezlenen AgNP'lerin patojen bakteri suşlarına karşı antibakteriyal etkisi kolay ve hızlı bir yöntem olan disk difüzyon testi ile kalitatif olarak belirlenmiştir. Çalışma neticesinde, AgNP'lerin *A. baumannii*, *B. cereus*, *E. cloacae*, *E. coli*, *Enterococcus* spp. (VRE), *K. pneumoniae*, *Providencia* spp., *M. morgani*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *C. freundii*, *C. striatum* ve *S. pneumoniae* üzerine antibakteriyal etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanısıra, nanoparçacıkların filtreden besiyerine difüzyon oranlarının yetersiz olmasından dolayı konsantrasyon artışına paralel olarak zon çapında artış gözlemlenememiştir. Patojen bakteri suşların geliştirildiği besiyerlerine yerleştirilmiş nanoparçacıkların emdirildiği filtrelerin etrafında gözlemlenen inhibisyon zonları Şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5. *K. turkmenica* 16K104 aracılığıyla sentezlenen AgNP'lerin patojenlere karşı antibakteriyal etkilerini gösteren inhibisyon zonları

AgNP'lerin Bakterilere Karşı MİK ve MBC Değerleri

K. turkmenica 16K104 aracılığıyla sentezlenen AgNP'lerin test edilen patojen bakteri suşlarına karşı MİK ve MBC değerleri Çizelge 1'de gösterilmiştir. AgNP'ler en yüksek inhibe edici etkiyi 0.25 µg/mL'lik MİK değeri ile *E. coli* üzerine gösterirken en düşük etkiyi 4 µg mL⁻¹'lik MİK değeri ile *M. morgani* ve *Providencia* spp. üzerine göstermişlerdir. En yüksek bakteriyosidal etkiyi ise *P. aeruginosa* ve *S. aureus* karşısında sergilemişlerdir. Bununla birlikte, *E. cloacae* ve *C. freundii* için MBC değerleri 32 µg mL⁻¹ olarak gözlemlenirken *C. striatum*, *Providencia* spp. ve *S. pneumoniae* için MBC değerinin çalışılan aralıkların üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Literatürde aktinobakteriler aracılığıyla sentezlenmiş AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesine yönelik disk difüzyon yöntemiyle gerçekleştirilen fazla sayıda araştırma mevcuttur (Hemmati ve ark., 2019; Dhanaraj ve ark., 2020; Göl ve ark., 2020) Fakat aktinobakteriler aracılığıyla sentezlenmiş AgNP'lerin MIC ve MBC değerlerinin rapor edildiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Buszewski ve arkadaşlarının (2018) gerçekleştirdiği çalışmada *Streptacidiphilus durhamensis* aracılığıyla sentezlenen AgNP'lerin MİK değerlerinin *S. aureus*, *E. coli* ve *K. pneumoniae*, *B. subtilis*'e

karşı $6.25 \mu\text{g mL}^{-1}$ iken *P. aeruginosa*'ya karşı ise $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, bu bakterilere karşı MBC değerlerinin ise $50-100 \mu\text{g mL}^{-1}$ arasında olduğu belirlenmiştir (Buszewski ve ark., 2018). Başka bir çalışmada Radhod ve arkadaşları (2016) *Nocardiosis valliformis* OT1 aracılığıyla sentezledikleri AgNP'lerin *B. subtilis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı MİK değerlerini $60 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada *S. aureus* ve *K. pneumoniae*'ya karşı MİK değerlerinin $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $70 \mu\text{g mL}^{-1}$ olduğunu da rapor etmişlerdir. Wypij ve arkadaşları (2018) *Streptomyces calidiresistens* IF11 kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin *E.coli* ve *B. subtilis*'e karşı MİK değerlerini $96 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlemişlerdir. Railean-Plugaru ve arkadaşlarının (2016) gerçekleştirdikleri çalışmada ise *Streptacidiphilus* sp. CGG11n aracılı sentezlenen AgNP'lerin *B. subtilis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'a karşı MİK ve MBC değerleri sırasıyla $6,25 \mu\text{g/mL}$ ve $50 \mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. *K. turkmenica* 16K104 ile sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyal etkinliğinin aktinobakteriler aracılığıyla sentezlenen diğer AgNP'lerle kıyaslandığında oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Görülen güçlü antibakteriyal etkinin sentezlenen AgNP'lerin muadillerinden daha küçük boyutlarda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü nanopartiküllerin boyutları küçüldükçe etki ettiği yüzey alanı artmaktadır. Ayrıca, yeşil sentez yoluyla elde edilen nanopartiküllerin antimikrobiyal özelliklerinin indirgeyici ve stabilize edici ajanların farklılığına bağlı olarak sentezlendikleri kaynağa göre değişmekte olduğu bu çalışma ile bir kez daha açıkça görülmüştür (Singh ve ark., 2015).

Çizelge 1. *K. turkmenica* 16K104 aracılığıyla sentezlenen AgNP'lerin test edilen bakterilere karşı MİK ve MBC değerleri

Bacteria	MİK ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	MBC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
<i>A. baumannii</i>	2	16
<i>B. cereus</i>	0.5	2
<i>C. striatum</i>	0.5	-
<i>E. cloacae</i>	0.5	32
<i>E. coli</i>	0.25	8
<i>K. pneumoniae</i>	1	8
<i>Enterococcus</i> spp. (VRE)	1	8
<i>M. morgani</i>	4	16
<i>Providencia</i> spp.	4	-
<i>P. aeruginosa</i>	1	1
<i>S. aureus</i>	1	1
<i>S. epidermidis</i>	1	8
<i>S. pneumoniae</i>	1	-
<i>C. freundii</i>	1	32

AgNP'lerin Genotoksik Potansiyelleri

DNA hasarının değerlendirilmesi için kuyruk uzunlukları Tip 0: Hasarsız hücre (kuyruksuz hücre), Tip I: Az hasarlı hücre, Tip II: Düşük hasarlı, Tip III: Orta hasarlı ve Tip IV: Yüksek hasarlı (Uzun ve dağınık kuyruk) olmak üzere gruplandırılmıştır (Şekil 6). Genotoksisite değerlendirmesinde genetik hasar indeksi (GHI) verilmiştir. GHI ise aşağıda verilen eşitlikte gösterildiği gibi hesaplanmıştır.

$$\text{GHI} = [(\% \text{ Tip 0} \times 0) + (\% \text{ Tip 1} \times 1) + (\% \text{ Tip 2} \times 2) + (\% \text{ Tip 3} \times 3) + (\% \text{ Tip 4} \times 4)] / 100$$



Şekil 6. Hep G2 hücrelerinin *K. turkmenica* 16K104 aracılığıyla sentezlenen AgNP'lere maruziyeti sonucu oluşan **kuyruk tiplerinin** floresan mikroskop görüntüleri. **a)** Tip 0, **b)** Tip 1, **c)** Tip 2, **d)** Tip 3 ve **e)** Tip 4

Testin duyarlılığının belirlenmesi için hücreler H₂O₂'ye maruz bırakılmıştır. Maruziyet sonrasında GHI değerinde negatif kontrole (0.67 ± 0.02) kıyasla önemli bir artış (1.87 ± 0.4) gözlemlenmiştir. Hücrelerin 0.25, 0.5, 1, 2, 4 ve 8 µg mL⁻¹ yoğunluklarında AgNP'lere maruziyeti sonucunda GHI indeksi sırasıyla yaklaşık 0.69 ± 0.02 , 0.71 ± 0.01 , 0.74 ± 0.01 , 0.78 ± 0.02 , 0.80 ± 0.03 ve 0.92 ± 0.03 olarak hesaplanmıştır. İstatistiki olarak değerlendirildiğinde GHI değerlerinde önemli bir artış gözlemlenmemiştir. Diğer taraftan, hücreler 16 ve 32 µg mL⁻¹ yoğunluklarında AgNP'lere maruz bırakıldığında negatif kontrole kıyasla GHI indeksinde önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

SONUÇ

Gerçekleştirilen çalışma çerçevesince gümüş nanoparçacıklarının sentezi yenilenebilir bir kaynak olan *K. turkmenica* 16K104 bakterisi kullanılarak düşük maliyetli ve kolay bir yöntemle başarı ile gerçekleştirilmiştir. Sentez sırasında toksik kimyasallara ve yüksek sıcaklık gibi sert ortam koşullarına ihtiyaç duyulmaması sunulan yöntemin gümüş nanoparçacıklarının hem çevre dostu hem de güvenli şekilde büyük ölçekli üretimi için kullanılabilme potansiyelinin olduğunu göstermektedir. Görece küçük boyutlarda olmaları ve homojen dağılım göstermeleri sentezlenen gümüş nanoparçacıkların endüstriyel uygulamalarda kullanım olanağını arttırmaktadır. Ayrıca sentezlenen nanoparçacıkların *B. cereus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterococcus* spp. (VRE), *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *S. epidermidis*' e karşı güvenli şekilde inhibe edici ve öldürücü ajan olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı "PYO.-FEN.1904.20.006" numaralı proje ile destekleyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Proje Yönetim Ofisi Başkanlığı'na teşekkür ederiz. Ayrıca, çalışmada kullanılan *K. turkmenica* 16K104'ü temin ettiğimiz Dr. Nevzat ŞAHİN ve Dr. Hayrettin SAYGIN'A teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Abd-Elnaby HM, Abo-Elala GM, Abdel-Raouf UM, Hamed MM, 2016. Antibacterial and Anticancer Activity of Extracellular Synthesized Silver Nanoparticles From Marine *Streptomyces rochei* MHM13. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 42(3): 301-312.
- Abdollahnia M, Makhdoumi A, Mashreghi M, Eshghi H, 2020. Exploring the potentials of Halophilic Prokaryotes From a Solar Saltern for Synthesizing Nanoparticles: The Case of Silver and Selenium. Plos One, 15(3): e0229886.
- Adiguzel AO, Adiguzel SK, Mazmanci B, Tunçer M, Mazmanci MA, 2018. Silver Nanoparticle Biosynthesis from Newly Isolated Streptomyces Genus From Soil. Materials Research Express, 5(4): 045402.
- Ahmad F, Ashraf N, Ashraf T, Zhou RB, Yin DC, 2019. Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles (MNPs) by Plants and Microbes: Their Cellular Uptake, Biocompatibility, and Biomedical Applications. Applied Microbiology and Biotechnology, 103(7): 2913-2935.
- Altinsoy BD, Karatoprak GŞ, Ocoşoy I, 2019. Extracellular Directed Ag NPs Formation and Investigation of Their Antimicrobial and Cytotoxic Properties. Saudi Pharmaceutical Journal, 27(1): 9-16.
- Anasane N, Golińska P, Wypij M, Rathod D, Dahm H, Rai M, 2016. Acidophilic Actinobacteria Synthesised Silver Nanoparticles Showed Remarkable Activity Against Fungi-Causing Superficial Mycoses in Humans. Mycoses, 59(3): 157-166.
- Anteneh YS, Franco CMM, 2019. Whole Cell Actinobacteria as Biocatalysts. Frontiers in Microbiology, 10: 77.

- Ashraf N, Ahmad F, Jing Jie C, Tuo Di Z, Feng-Zhu Z, Yin, DC, 2019. Optimization of *Enterobacter cloacae* Mediated Synthesis of Extracellular Silver Nanoparticles by Response Surface Methodology and Their Characterization. *Particulate Science and Technology*, 1-13.
- Bahrami-Teimoori B, Pourianfar HR, Akhlaghi M, Tanhaeian A, Rezayi M, 2019. Biosynthesis and Antibiotic Activity of Silver Nanoparticles Using Different Sources: Glass Industrial Sewage-Adapted *Bacillus* sp. and Herbaceous *Amaranthus* sp. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 66(5): 900-910.
- Budama-Kılınç Y, 2019. Klorojenik Asit Yüklü PLGA Nanopartiküllerinin Üretimi ve Antimikrobiyal Etkinliğinin Belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 49(1): 47-54.
- Buszewski B, Railean-Plugaru V, Pomastowski P, Rafińska K, Szultka-Mlynska M, Golinska P, Wypij M, Laskowski D, Dahm H, 2018. Antimicrobial Activity of Biosilver Nanoparticles Produced by a Novel *Streptacidiphilus durhamensis* Strain. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51(1): 45-54.
- Das M, Smita SS 2018. Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Bark Extracts of *Butea monosperma* (Lam.) Taub. and Study of Their Antimicrobial Activity. *Applied Nanoscience*, 8(5): 1059-1067.
- de Souza TAJ, Souza LRR, Franchi LP, 2019. Silver Nanoparticles: An Integrated View of Green Synthesis Methods, Transformation in the Environment, and Toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171: 691-700.
- Dhanaraj S, Thirunavukkarasu S, John HA, Pandian S, Salmen SH, Chinnathambi A, Alharbi SA, 2020. Novel Marine *Nocardiopsis dassonvillei*-DS013 Mediated Silver Nanoparticles Characterization and its Bactericidal Potential Against Clinical Isolates. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27: 991-995.
- El-Naggar NEA, Abdelwahed N A, 2014. Application of Statistical Experimental Design for Optimization of Silver Nanoparticles Biosynthesis by a Nanofactory *Streptomyces viridochromogenes*. *Journal of Microbiology*, 52(1): 53-63.
- Golińska P, Wypij M, Rathod D, Tikar S, Dahm H, Rai M, 2016. Synthesis of Silver Nanoparticles From Two Acidophilic Strains of *Pilimelia columellifera* subsp. pallida and Their Antibacterial Activities. *Journal of Basic Microbiology*, 56(5): 541-556.
- Göl F, Aygün A, Seyrankaya A, Gür T, Yenikaya C, Şen F, 2020. Green Synthesis and Characterization of *Camellia sinensis* Mediated Silver Nanoparticles for Antibacterial Ceramic Applications. *Materials Chemistry and Physics*, 123037.
- Hemmati S, Rashtiani A, Zangeneh MM, Mohammadi P, Zangeneh A, Veisi H, 2019. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Fritillaria* flower extract and their antibacterial activity against some human pathogens. *Polyhedron*, 158: 8-14.
- Hussain I, Singh NB, Singh A, Singh H, Singh SC, 2016. Green Synthesis of Nanoparticles and its Potential Application. *Biotechnology Letters*, 38(4): 545-560.
- Iqtedar M, Aslam M, Akhyar M, Shehzaad A, Abdullah R, Kaleem A, 2019. Extracellular Biosynthesis, Characterization, Optimization of Silver Nanoparticles (AgNPs) Using *Bacillus mojavensis* BTCB15 and its Antimicrobial Activity Against Multidrug Resistant Pathogens. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49(2): 136-142.
- Jo JH, Singh P, Kim YJ, Wang C, Mathiyalagan R, Jin CG, Yang DC, 2016. *Pseudomonas deceptionensis* DC5-Mediated Synthesis of Extracellular Silver Nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(6): 1576-1581.
- Karthik L, Kumar G, Kirthi AV, Rahuman AA, Rao KB, 2014. *Streptomyces* sp. LK3 Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles and Its Biomedical Application. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(2): 261-267.
- Katsuyama Y, 2019. Mining Novel Biosynthetic Machineries of Secondary Metabolites From Actinobacteria. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 83(9): 1606-1615.
- Khan AU, Malik N, Khan M, Cho MH, Khan MM, 2018. Fungi-Assisted Silver Nanoparticle Synthesis and Their Applications. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 41(1): 1-20.

- Kumar PS, Balachandran C, Duraipandiyar V, Ramasamy D, Ignacimuthu S, Al-Dhabi NA, 2015. Extracellular biosynthesis of Silver Nanoparticle Using *Streptomyces* sp. 09 PBT 005 and its Antibacterial and Cytotoxic Properties. *Applied Nanoscience*, 5(2): 169-180.
- Manikprabhu D, Cheng J, Chen W, Sunkara AK, Mane SB, Kumar R, das M, Hozzein WN, Duan YQ, Li WJ, 2016. Sunlight Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles by a Novel Actinobacterium (*Sinomonas mesophila* MPKL 26) and its Antimicrobial Activity Against Multi Drug Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 158: 202-205.
- Mohanta YK, Behera SK, 2014. Biosynthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles by *Streptomyces* sp. SS2. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(11): 2263-2269.
- Mohanta YK, Behera, SK, 2014. Biosynthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles by *Streptomyces* sp. SS2. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(11): 2263-2269.
- Narayanan KB, Sakthivel N, 2010. Biological Synthesis of Metal Nanoparticles by Microbes. *Advances in Colloid and Interface Science*, 156(1-2): 1-13.
- Otari SV, Patil RM, Nadaf NH, Ghosh SJ, Pawar SH, 2012. Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles From an Actinobacteria *Rhodococcus* sp. *Materials Letters*, 72: 92-94.
- Oves M, Khan MS, Zaidi A, Ahmed AS, Ahmed F, Ahmad E, Sherwani A, Owais M, Azam A, 2013. Antibacterial and Cytotoxic Efficacy of Extracellular Silver Nanoparticles Biofabricated From Chromium Reducing Novel OS4 Strain of *Stenotrophomonas maltophilia*. *PloS One*, 8(3).
- Rafique M, Sadaf I, Rafique MS, Tahir MB, 2017. A review on Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45(7): 1272-1291.
- Railean-Plugaru V, Pomastowski P, Wypij M, Szultka-Mlynska M, Rafinska K, Golinska P, Dahm H, Buszewski B, 2016. Study of Silver Nanoparticles Synthesized by Acidophilic Strain of Actinobacteria Isolated From the of *Picea sitchensis* Forest Soil. *Journal of Applied Microbiology*, 120(5): 1250-1263.
- Rajkumar T, Sapi A, Das G, Debnath T, Ansari A, Patra JK, 2019. Biosynthesis of Silver Nanoparticle Using Extract of *Zea mays* (Corn Flour) and Investigation of Its Cytotoxicity Effect and Radical Scavenging Potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 193: 1-7.
- Rathod D, Golinska P, Wypij M, Dahm H, Rai M, 2016. A new report of *Nocardiopsis valliformis* Strain OT1 From Alkaline Lonar Crater of India and its Use in Synthesis of Silver Nanoparticles With Special Reference to Evaluation of Antibacterial Activity and Cytotoxicity. *Medical Microbiology and Immunology*, 205(5): 435-447.
- Samundeeswari A, Dhas SP, Nirmala J, John SP, Mukherjee A, Chandrasekaran N, 2012. Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Actinobacterium *Streptomyces albogriseolus* and Its Antibacterial Activity. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 59(6): 503-507.
- Sanjenbam P, Gopal J V, Kannabiran K, 2014. Anticandidal Activity of Silver Nanoparticles Synthesized Using *Streptomyces* sp. VITPK1. *Journal De Mycologie Médicale*, 24(3): 211-219.
- Saratale RG, Karuppusamy I, Saratale GD, Pugazhendhi A, Kumar G, Park Y, Ghodake GS, Bharagava RN, Banu JR, Shin HS, 2018. A Comprehensive Review on Green Nanomaterials Using Biological Systems: Recent Perception and Their Future Applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 170: 20-35.
- Saravanan M, Barik SK, MubarakAli D, Prakash P, Pugazhendhi A, 2018. Synthesis of Silver Nanoparticles From *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and Their Antibacterial Activity Against Pathogenic Bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 116: 221-226.
- Saygin H, Ay H, Guven K, Sahin N, 2019. *Kribbella turkmenica* sp. nov., Isolated From the Karakum Desert. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(8): 2533-2540.
- Sharma V, Kaushik S, Pandit P, Dhull D, Yadav JP, Kaushik S, 2019. Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Medicinal Plants and Evaluation of Their Antiviral Potential Against Chikungunya Virus. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(2): 881-891.
- Singh H, Du J, Singh P, Yi TH, 2018. Extracellular Synthesis of Silver Nanoparticles by *Pseudomonas* sp. THG-LS1. 4 and Their Antimicrobial Application. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 8(4): 258-264.

- Singh P, Singh H, Kim YJ, Mathiyalagan R, Wang C, Yang DC, 2016. Extracellular Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles by *Sporosarcina koreensis* DC4 and Their Biological Applications. *Enzyme and Microbial Technology*, 86: 75-83.
- Singh R, Shedbalkar UU, Wadhvani SA, Chopade BA, 2015. Bacteriogenic Silver Nanoparticles: Synthesis, Mechanism, and Applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(11): 4579-4593.
- Składanowski M, Golinska P, Rudnicka K, Dahm H, Rai M, 2016. Evaluation of Cytotoxicity, Immune Compatibility and Antibacterial Activity of Biogenic Silver Nanoparticles. *Medical Microbiology and Immunology*, 205(6): 603-613.
- Taha ZK, Hawar SN, Sulaiman GM, 2019. Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles from *Penicillium italicum* and its Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxicity Activities. *Biotechnology Letters*, 41(8-9): 899-914.
- Vijayabharathi R, Sathya A, Gopalakrishnan S, 2018. Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Streptomyces griseoplanus* SAI-25 and its Antifungal Activity Against *Macrophomina phaseolina*, the Charcoal Rot Pathogen of Sorghum. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14: 166-171.
- Vinoth S, Shankar SG, Gurusaravanan P, Janani B, Devi JK, 2019. Anti-larvicidal activity of Silver Nanoparticles Synthesized from *Sargassum polycystum* Against Mosquito Vectors. *Journal of Cluster Science*, 30(1): 171-180.
- Wypij M, Świecimska M, Czarnecka J, Dahm H, Rai M, Golinska, P. 2018. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Silver Nanoparticles Synthesized from two Haloalkaliphilic Actinobacterial Strains Alone and in Combination With Antibiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 124(6): 1411-1424.
- Zhao X, Zhou L, Riaz Rajoka MS, Yan L, Jiang C, Shao D, Zhu J, Shi J, Huang Q, Yang H, Jin M, 2018. Fungal silver nanoparticles: synthesis, application and challenges. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(6): 817-835.

Atf İçin: Zengin M, Özdede S, Doğan D, Aydar T, 2021. Akarsu ve Vadi Peyzajlarında Bir Tasarım Yaklaşımı: Denizli Zindan Deresi Örneği, İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3152-3162.

To Cite: Zengin M, Özdede S, Doğan D, Aydar T, 2021. A Design Approach in Stream and Valley Landscapes: The Case Study of Zindan Stream, Denizli-Turkey, Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3152-3162.

Akarsu ve Vadi Peyzajlarında Bir Tasarım Yaklaşımı: Denizli Zindan Deresi Örneği

Murat ZENGİN^{1*}, Sinem ÖZDEDE¹, Duygu DOĞAN¹, Tolga AYDAR¹

ÖZET: Tarihsel açıdan uygarlıkların oluşumları ele alındığında, yaşamın sürdürülebilirliğindeki en önemli doğal kaynak olan su kenarlarının tercih edildiği bilinmektedir. Günümüz kentlerinde de akarsular ve vadiler hala gerek ekolojik olarak gerekse rekreasyonel olanaklar sunmasıyla önemini korumaktadırlar. Kent içerisinde yer alan vadiler, topografik yapıları sebebiyle, kentlerdeki diğer alanlardan farklı iklim yapısı sergilemektedir. Rüzgâr koridoru olma özellikleriyle kentin nefes aldığı koridorlar olmakla birlikte, içinde oluşan topografik yapı farklılıklarından dolayı flora ve fauna çeşitliliği de sağlamaktadırlar. Bunun yanı sıra genellikle büyük bir hidrolojik yapının da parçasıdırlar ve hidrolojik döngünün sağlanmasında önemli bir role sahiptirler. Akarsular ise, yapıları dolayısıyla duyarlı ekosistemlerdir ve fiziki yapıları sebebiyle bağlantılılık için önemli çizgisel hatlardır. Vadi ve akarsular müdahalelere karşı hassas alanlar olmakla birlikte, rekreasyonel açıdan doğru kullanımlara yer verildiğinde kullanıcıların fiziksel ve ruhsal sağlığına da olumlu etkileri vardır. Çalışma kapsamında Denizli İli Muratdede Mahallesi Zindan Deresi'nde bir peyzaj tasarım önerisi sergilenmiştir. Alana ilişkin GZFT analizleri gerçekleştirilmiş; görsel, doğal ve kültürel çevre analizleri yapılmıştır. Bu çalışma ile hızlı kentleşme sürecinin yaşandığı vadi ve akarsu alanlarında, doğal yapının korunduğu, kentin yeşil altyapısının desteklendiği ve alternatif bir rekreasyon alanı niteliği kazanmış alanlara örnek bir proje tasarım süreci geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Denizli, vadi peyzajı ve tasarımı, akarsu peyzajı ve tasarımı

A Design Approach in Stream and Valley Landscapes: The Case Study of Zindan Stream, Denizli-Turkey

ABSTRACT: Considering the formation of civilizations historically, it is known that waterfront, which is the most important natural resource in the sustainability of life, has preferred. In today's cities, streams and valleys still maintain their importance both ecologically and by offering recreational opportunities. By virtue of their topographic structure, the valleys exhibit a different climate structure than the other areas in the cities. Although the corridors are breathable corridors of the city, they also provide flora and fauna diversity due to the differences in topographic structure. They are also part of a large hydrological structure and have an important role to play in the hydrological cycle. Streams are sensitive ecosystems due to their structure and are important linear lines for connectedness. In spite of streams and valleys are sensitive areas against interference, they have positive effects on the physical and mental health of the users when they are used correctly in terms of recreation. Within the scope of the study, a landscape design proposal was studied in the Zindan Stream of the Muratdede District of Denizli Province. In addition, SWOT analysis was carried out; visual, natural and cultural environment analysis were made for the area. With this study, an exemplary project design process has been developed for the regions that natural structure is preserved, the green infrastructure of the city is supported and the areas that have gained the character of an alternative recreation area in the stream and valley areas.

Keywords: Denizli, valley landscape and design, stream landscape and design

¹Murat ZENGİN ([Orcid ID: 0000-0002-8528-7308](https://orcid.org/0000-0002-8528-7308)), Sinem ÖZDEDE ([Orcid ID: 0000-0002-6887-085X](https://orcid.org/0000-0002-6887-085X)), Duygu DOĞAN ([Orcid ID: 0000-0002-0993-7647](https://orcid.org/0000-0002-0993-7647)), Tolga AYDAR ([Orcid ID: 0000-0003-0170-6462](https://orcid.org/0000-0003-0170-6462)), Pamukkale Üniversitesi, Mimarlık ve Tasarım Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Denizli, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Murat ZENGİN, e-mail:mzengin@pau.edu.tr

Makale 22-24 Nisan 2019 tarihlerinde Muğla-Marmaris'de düzenlenen "2nd International Congress on Engineering and Architecture-ENAR 2019 Sempozyumu'nda" sözlü olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Su, yüzyıllar boyunca tüm medeniyetlerin var olmasında en önemli doğal kaynaklardan biri olmuştur. Bu nedenle bütün büyük uygarlıklar yerleşimlerini su kenarına kurmuştur. Teknolojinin ilerlemesi ile sudan yararlanma şekli ve oranları değişmiş, su kaynakları içme-kullanma suyu haricinde enerji üretimi, taşımacılık gibi pek çok faaliyet için kullanılmış ve ülkelerin ekonomik olarak kalkınmasında önemli rol oynamıştır. Bugün “gelişmiş ülke” olarak tanımlanabilen pek çok ülke buldukları konuma, bölgelerinin su potansiyelinden en üst seviyede yararlanarak ulaşmışlardır (Akkaya ve ark., 2006). Günümüze yaklaştıkça, ilk tarihlerde kurulmuş olan su kenarı kentlerinin verimli kıyıları olarak bilinen akarsuların, kentlerin büyümesi ve genişlemesiyle; kent içerisinde kalan, çeşitli tip ve genişlikte akan su alanlarına dönüşmüşlerdir. İnsanlar zamanla su alanlarına, rekreasyonel kullanımlar gibi değişik kullanımlar da eklemiştirler (Önen, 2007). Günümüzde ise rekreasyon ihtiyacı, keyfi bir ihtiyaç olmaktan çok, insanların fiziksel ve ruhsal sağlığına sağladığı fayda sebebi ile zorunlu bir ihtiyaca dönüşmüştür.

Yerli ve Kesim (2009), özellikle içinden akarsu geçen kentlerde hem genişlik hem de kalite açısından uygun ölçülere sahip yeşil yolun, yakın çevre ile ilişkisinin sağlanarak akarsu koridoru boyunca oluşturulmasının ve bu yeşil yolun kent içindeki yeşil alanlara ve tüm kente ulaşmasının, kente kazandırdığı estetik ve işlevsel özelliklerin başında gelmekte olduğunu belirtmişlerdir. Bu amaçlarla pek çok proje üretilmekte, yapılan vadi ve akarsu peyzajlarını canlandırma ve dönüşüm projelerinde hem bozulan peyzajların eski haline getirilmesi hem de mevcut peyzajların potansiyellerinin yükseltilmesi hedeflenmektedir. Önen (2007) bu çalışmaları aşağıdaki şekilde sınıflandırmaktadır;

- Mevcut endüstriyel işlevin yok olması ile ortaya çıkan alanların yeniden canlandırılması için rekreasyonel kullanım amaçlı projeler,
- Taşkın kontrolü amaçlı yatak ve kıyı düzenleme projeleri,
- Endüstrileşme ve kentleşme ile kirlenen akarsularının, kıyı ve yatak temizliğinin ardından yapılan çevre düzenleme projeleri,
- Mevcut rekreasyonel işlevinin kuvvetlendirilmesi için yapılan geniş çaplı daha modern projeler,
- Mevcut akarsu kıyısı kullanımına ek olarak yapılan daha küçük çaplı alan düzenlemeleri ile canlandırılması ve işlev kazandırılması projeleri.

Kentteki çizgisel öğelerden biri, olarak akarsular, kentlerin tanımlanmasında önemli kimlik belirleyicilerdir. Kent içerisindeki akarsuların, bazıları yapılan tasarım çalışmalarıyla (örneğin; İngiltere’de Birmingham Kanalı, Türkiye’de Eskişehir Porsuk Çayı) buldukları kentlere yeni bir kimlik oluşturarak özgünlük kazandırmaktadır (Şekil 1-a,b).



Şekil 1. Kente kimlik kazandıran akarsu kıyısı düzenlemelerine örnekler.

a. Birmingham Kanalı (Anonim 2021a) b. Eskişehir Porsuk Çayı (Özdede 2011)

Kentsel tasarım projelerinde doğal bir su alanı, tasarım alanında mevcut ise, öncelikli olarak vurgu elemanı niteliğinde düşünülür. Çünkü su varlığı insan psikolojine yarar sağlamanın yanı sıra, kente farklı bir kimlik kazandırır. Bu bağlamda suyun var olduğu yerleşimlerde, su kenarı kullanımları işlevini yerine getiremeye bile kenti ya da kentin bulunduğu bölgesini diğer alanlardan farklı kılar. Su, kent için her zaman bir çekim unsurudur (Özden, 2008).

Akarsular, kıyısı ve yatağıyla bir bütündür. Bu bütünlük ekolojik işlevlerin devamlılığını sağlamak açısından önemli olduğu kadar, akarsuyun kent içinden geçtiği bölgelerde açık alanların oluşması açısından da önem arz etmekte ve bu alanlar halkın kullanımına açık kamusal alanları oluşturmaktadır. Kamusal alanlar ise, kent içerisinde yer alan, toplumun her kesiminde insanın ayırım gözetmeksizin yararlanabildiği, toplu yaşamının getirdiği etkinliklerin meydana geldiği mekânlar bütünüdür. Söz konusu bütünlük göz önüne alınarak akarsular pek çok kıyısız kullanıma sahip olsa da, yatağındaki mevcut su kaynağı sayesinde önemli kullanımlara olanak sağlamaktadır (Özden, 2008).

- İçme ve sulama suyu kaynağı,
- Yiyecek kaynağı,
- Enerji üretimi,
- Ulaşım,
- Mineral ve organik madde taşınımı,
- Rekreasyon olanağı sağlama,
- Estetik açıdan faydalanma olarak sıralanabilmektedir.

Akarsular, kentleri fiziksel olarak bölmektedir. Ancak doğada bu bölünmüşlük hissi, akarsu koridoru boyunca iki yakanın birbirini tamamlar şeklindeki uyumu ile algılanmamaktadır. Bu durum kentlerde bu şekilde olmamaktadır. İnsan müdahalelerinin doğaya uyumlu olmaması yanı sıra kent dokusu ile de uyumlu olmayan düzenlemeler yapılmaktadır. Doğanın taklit edilmesinin tasarımdaki önemi bu noktada daha fazla ortaya çıkmaktadır. Tıpkı doğadaki gibi kentin iki yakasını birbirine bağlayan peyzaj doku karakteri doğru şekilde ele alınmalı ve algılanmalıdır (Özdede, 2011).

Akarsu taşkın riskinin olduğu alanlarda yapılacak düzenlemelerde önem verilmesi gereken öncelikli nokta taşkın kontrolü olmalıdır. Alana getirilecek işlevler ve kullanılacak donatı elemanları bu riske uygun seçilmelidir. Bazı akarsu düzenlemeleri taşkın riskini göz önünde bulundurarak, her iki kullanıma da uygun işlevler getirmekte, üst ve alt yapı önlemleri ile bu mekânları kullanılır kılmaktadır (Önen, 2007). Taşkın riskinin bulunmadığı akarsu alanlarında ise daha rahat fonksiyon alanları yaratılabilmektedir.

Akarsu, aynı zamanda bir vadi içerisinde yer alıyorsa, kentin kirlenen havasının temizlenmesinde doğal oluşumlu rüzgar koridoru görevi üstlenecektir. Vadilerde oluşan farklı mikroklima özelliği sayesinde ise, birçok farklı tür flora ve fauna çeşitliliği barındırmış olacaktır. Bunun yanı sıra bu alanların düz alanlara göre, fiziksel ve görsel açıdan vista özelliği oluşturduğu da bilinmektedir.

Materyal olarak seçilen çalışma alanında hem vadi hem akarsu varlığı söz konusudur. Kent içi akarsular açısından önem teşkil eden bu alanların mümkün olduğu ölçüde doğal alanlara uygun olarak tasarlanması, rekreasyonel kullanımlara olanak sağlayan alanlar yaratılarak doğru bir planlama ve tasarım anlayışına sahip örnek projelere katkı sunması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın ana materyali, Türkiye'nin Ege Bölgesi'nde, Denizli İli'nin Merkezefendi İlçesine bağlı Muratdede Mahallesi'nde yer alan Zindan Deresi ve çevresidir (Şekil 2). İdari-coğrafi sınırlar içinde 37° 46' 51.8" kuzey enlemi ile 29° 03' 21.6" doğu boylamları arasında yer almakta ve 70 hektarlık alanı kapsamaktadır. Alanın doğusunda kentin en eski merkezlerinden biri olan Bayramyeri-Kaleiçi

bulunmaktadır. Doğusunda Bayramyeri, Kaleiçi, Hükümet Konağı ve Çınar Meydanı, Kuzeydoğusunda Sümerpark, Devlet Hastanesi, Otogar ve Özel Hastaneler, Batısında Gültepe Mahallesi, Kuzeyinde Yeni Mahalle yer almaktadır.



Şekil 2. Çalışma alanı konum haritası

Çalışmanın yöntemi beş aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada literatür taraması yapılmıştır. Bu aşamada; kent içi akarsuların planlama ve tasarım yaklaşımları konusunda yapılmış olan yerli ve yabancı kaynaklar ve örnek projeler incelenmiştir. Söz konusu kaynakların sunduğu yaklaşımlar; avantaj ve dezavantajları irdelenmiş, araştırma alanına uygulanabilirliği açısından değerlendirilmiştir. Bu aşamada literatür taramasının yanı sıra çalışma alanına ilişkin veri toplanması, 1/1000 ölçekli uygulama imar planı temini ve arazi çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen verilerin büyük bir kısmı arazi çalışmaları ve fotoğraflama çalışmalarına dayanmaktadır. İkinci aşamada çalışma alanına ilişkin sorun ve fırsatların belirlenmesi amacıyla, çalışma kapsamında veri toplama ve arazi çalışmaları sonrası “GZFT Analizi” (güçlü yönler-zayıf yönler-fırsatlar-tehditler) yapılmıştır. Bu analiz ilk olarak 70’li yıllarda iş yönetimi amacıyla kullanılmaya başlanmış ve daha sonraki yıllarda farklı uygulama alanları için de bir analiz ve planlama aracı olarak kullanılmıştır. Söz konusu yöntemde mevcut yapılara ait dört değişkenin niceliksel ve niteliksel özelliklerine ilişkin analizler yapılabilmektedir.

Böylece yapılan analizler sonucunda bir matris oluşturulmakta ve bu matris sayesinde mevcut duruma ilişkin stratejik bir görüş oluşturulabilmektedir. Niteliksel GZFT analizinin en önemli ve temel amacı, konuya ilişkin güçlü ve zayıf yönlerle bu durumları destekleyen fırsat ve tehditlerin tanımlanmasıdır.

Üçüncü aşamada çalışma alanındaki doğal ve kültürel çevre analizleri oluşturulmuştur. Dördüncü aşamada belirlenen analizlerin çevresinde, olası alan kullanımları çıkarılmış ve leke planlar sunulmuştur.

Son aşamada ise değerlendirmeler yapılarak, oluşturulan leke plan, daha ayrıntılı şekilde ele alınarak avan plana dönüştürülmüş ve amaç kapsamında alana ilişkin öneriler geliştirilmiştir.

Analizler ve öneriler oluşturulurken, Denizli Kenti 1/1000'lik uygulama imar planlarından yararlanılmış ve ArcGIS 10.4.1 versiyonu, AutoCAD 2018 versiyonu, PhotoSHOP 9.0 versiyonu vb. bilgisayar yazılımları kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

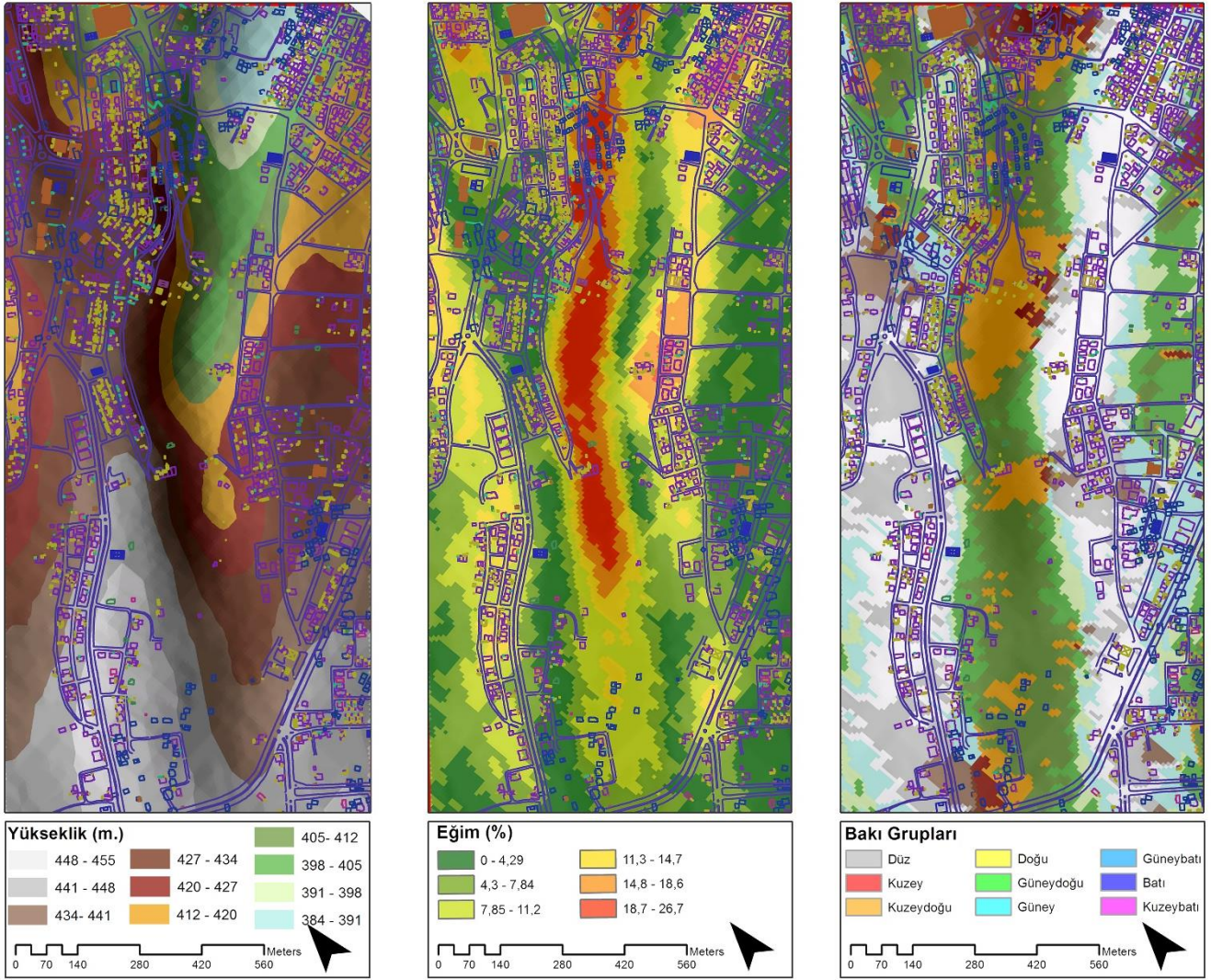
Çalışma alanına ait güçlü yönler-zayıf yönler-fırsatlar-tehditler kapsamlı bir şekilde ele alınarak tespit edilmeye çalışılmıştır. Sorun ve fırsatların belirlenip, mevcut durumun yorumlandığı GZTF analizi alana ait oluşturulan veri tabanına dayalı olarak yapılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. GZFT analizi

Güçlü Yönler	<ul style="list-style-type: none"> -Yerleşim dokuları arasında özelliği bozulmamış doğal bir vadi olması -Kendine has iklim alanlarının bulunması -Kent dokusu içerisindeki odak noktalara (Bayramyeri, Adliye vb.) yakın olması -Topografyasının hareketli olması -Vadi içerisinde suyun varlığı -Karcı Dağı silüetine sahip olması -Vadiye bakan eğimli yüzeylerde seyir terasları için alternatif alanlar sunması -Rekreasyonel aktiviteler için potansiyelinin yüksek olması
Zayıf Yönler	<ul style="list-style-type: none"> -Vadi içerisinde yer alan yerleşimler -Arazinin eğimli ve engebeli olması -Katı atıklar ve inşaat molozlarının alanın çevresine dökülüyor olması -Meyve ve sebze bahçelerinin parçalı bir yapı sergilemesi -Altyapı yetersizliği -Yapılaşmaların artması
Fırsatlar	<ul style="list-style-type: none"> -Kentsel alan içerisinde merkezi bir yeşil alan olma potansiyelinin olması -Kentsel alan içerisinde önemli bir odak noktası olma potansiyelinin olması -Vadiyi gören yüzeylerde açıklıkların seyir terasları için potansiyeller oluşturması -Erişilebilirlik açısından çözümlenebilir olma potansiyelinin olması -Kentsel yeşil altyapısının artırılması bakımından değerli bir alan olması -Tarımsal peyzaj açısından meyve ve sebze bahçelerinin varlığı
Tehditler	<ul style="list-style-type: none"> -Alan içerisinde yapılaşmaların devam etmesi -Tarımsal nitelikli alanlarının yapısal alanlara dönüşmesi -Vadi kenarı alanlarda %20-30'luk dik eğimli yüzeylerin varlığı -Vadi tabanı su kirliliği -Çöp ve moloz atıkları -Mülkiyet durumu ve yapılaşmalar nedeniyle vadi peyzajı ve mevcut yeşil dokusunun kaybolma riski -Depremsellik

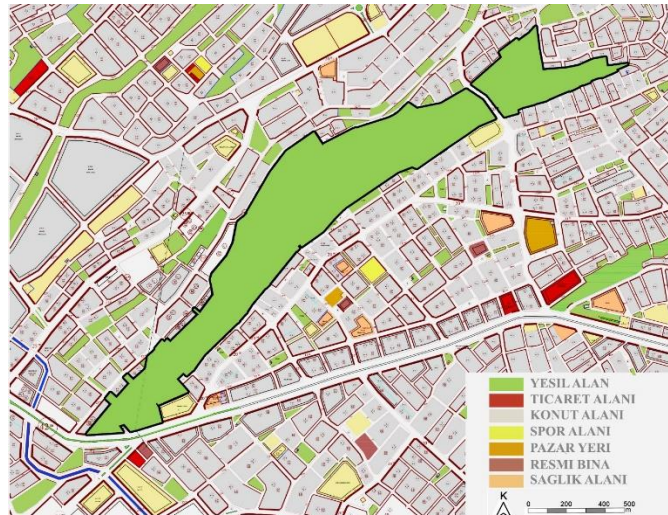
Çalışma alanının jeolojik durum ve zemin etütlerine bakıldığında; alanın genelinin koyu renkli killi ve kireçli toprakta görülen karbon kayalarının üzerinde bulunan humus bakımından zengin rendzinallar ile kısmen neritik kireç taşı, karasal kıvrıntılar, alüvyal toprak ve kuvaternerden oluştuğu gözlemlenmiştir. Ayrıca alan içerisindeki Zindan Deresi çeşitli kollara ayrılmakta, alandan fay hatları da geçmekte ve bu fay hatları etkin olmayarak pasif özellik taşıdığı tespit edilmiştir.

Çalışma alanı ve yakın çevresinin daha iyi tanımlanması ve doğru bir planlama anlayışı için; eğim, bakı ve yüksekliğe ilişkin doğal çevre analizleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3). Yükseklik gruplarına bakıldığında, çalışma alanı 384-455 m arası değişen bir topografyada, yaklaşık olarak 70 m değişkenlik gösteren bir araziye sahiptir. Eğim grupları açısından %20 üzeri pek çok alan olduğu ve alanın genel olarak kuzeydoğu ve güneydoğu bakılara sahip olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3. Çalışma alanı yükseklik-eğim-baki haritaları

Çalışma alanı ve yakın çevresine ilişkin kültürel çevre analizleri ve 1/1000'lik Uygulama İmar Planında yer alan çalışma alanı yeşil renkle belirtilmiştir (Şekil 4). Buna göre alan çevresinde yoğun konut alanlarının yer almakta olduğu görülmektedir Şekil 4'de görülmektedir.



Şekil 4. Çalışma alanı ve yakın çevresine ilişkin kültürel çevre analizi

Çalışma alanında değerlendirilen avantajlar ve dezavantajlar göz önüne alındığında kent içinde yer alan Zindan Deresi örneği için genel bir tasarım programı oluşturulmuştur. Bunlar (Anonim 2021b);

- Kendi içinde kararlı, işlevsel, ekonomik ve uygulanabilir olmak,
- Kent için, bütünleştirici bir kamusal mekân yaratmak,
- Toplumun her kesimine (yaş, cinsiyet, sağlık koşulu, sosyal yapı vs.) uygunluk,
- Araç ve yaya sirkülasyonunu ayıran güçlü bir ulaşım bağlantısı kurmak,
- Kent içi çevre (yakın-uzak) ilişkilerini oluşturmak,
- Arazinin topografik yapısını iyi yorumlamak,
- İşlevlerin mekânsal dağılımında ve kendi aralarındaki uyumluluk,
- Doğal yapıya aşırı müdahaleden kaçınmak, esnek, mobil yapı önerileri getirmek,
- İşlevsel çeşitlilik sunmak,
- Yapısal tasarım ve malzeme açısından dil birliği sağlamak
- İşlevsel öğelerle donatılmış tasarım aksı oluşturmak,
- Odakları sirkülasyon ağı ile bütünleştirmek,
- Su ögesini dengeli ve uygulanabilir boyutlarda kullanmak,
- Mimari ayrıntıları ve bitkilendirme önerilerini net bir biçimde çözümlmek,
- Simgesel değer yaratmak,
- Okunaklı, vurgulu, sınırları algılanabilen mekânlar yaratmak, şeklinde ele alınmıştır.

Kent içerisinde yer alan akarsu sistemleri çoğu zaman kenti ikiye bölen, parçalayıcı unsurlar şeklinde algılansa da doğada bunun tam tersi olduğu, iki yakanın bir bütün olduğu, süreklilik barındırdığı bilinmektedir. Bu nedenle bu ve benzer proje örneklerinde bitkisel tasarım anlayışı, bu bağın kurulumunda önem teşkil etmektedir. Bu çalışmada yer alan bitkilendirme konsepti; tanımlama, vurgulama, sınırlama, gizleme ve iyileştirme esas alınarak gerçekleştirilmiştir.

Özhancı ve ark., (2012)'na göre; vadiler kendilerine özgü yapılarından dolayı, tür çeşitliliği barındıran iklimsel, kültürel ve yapısal açıdan etrafındaki diğer alanlardan farklılıklar gösterir. Bu bağlamda doğanın hareketli peyzajlarından olan vadilerin, görsel kalitesi yüksek alanlar olduğunu belirtmişlerdir. Uslu ve Yetim (2006) ise, özellikle metropolleşen kentlerde doğal yapısından dolayı ayrıcalığı olan alanların öncelikli olarak değerlendirilmeleri gerektiğini vurgulamaktadır. Bunun yanı sıra kent imajını ve görsel kaliteyi artıran hedefler kadar yoğun kentleşme baskısı altında kalan alanların ekolojik yönleri ile de değerlendirilmesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

Vadiler gerek jeomorfolojik özellikleri gerekse sahip oldukları peyzaj bileşenlerindeki niteliksel ve niceliksel çeşitlilik dolayısıyla doğal sürecin yoğun olarak işlediği duyarlı ekosistemlerdir. Ayrıca bu sistemlerin çevresel etkilere karşı da son derece duyarlıdır ve kaynak ya da alan kullanım kararlarının geliştirilmesinde özel planlama ve yönetim yaklaşımını gerektirmektedir (Şahin, 1996). Bu bağlamda proje bütünündeki temel prensip, doğal yapının korunması, vurgulanması ve algılanmasıdır. Bu doğrultuda alanda yapılan bitkilendirme ile, hem insan hem de doğal yapının sağlığının (ekolojik süreçlerin devamlılığın sağlanması) korunması, fauna için yaşam ortamı oluştururken hem fauna için hem de kullanıcılar açısından olumsuz etki yaratabilecek koku, gürültü, ses, ışık gibi etkilerin perdelenmesi, bitkinin olmadığı alanlarda stabilizasyonun sağlanması, rekreasyonel amaçlı kullanım olanağı yaratma, yaya akslarını belirleme ve yönlendirme, bunların yanı sıra estetik algının güçlendirilmesi hedeflenmektedir.

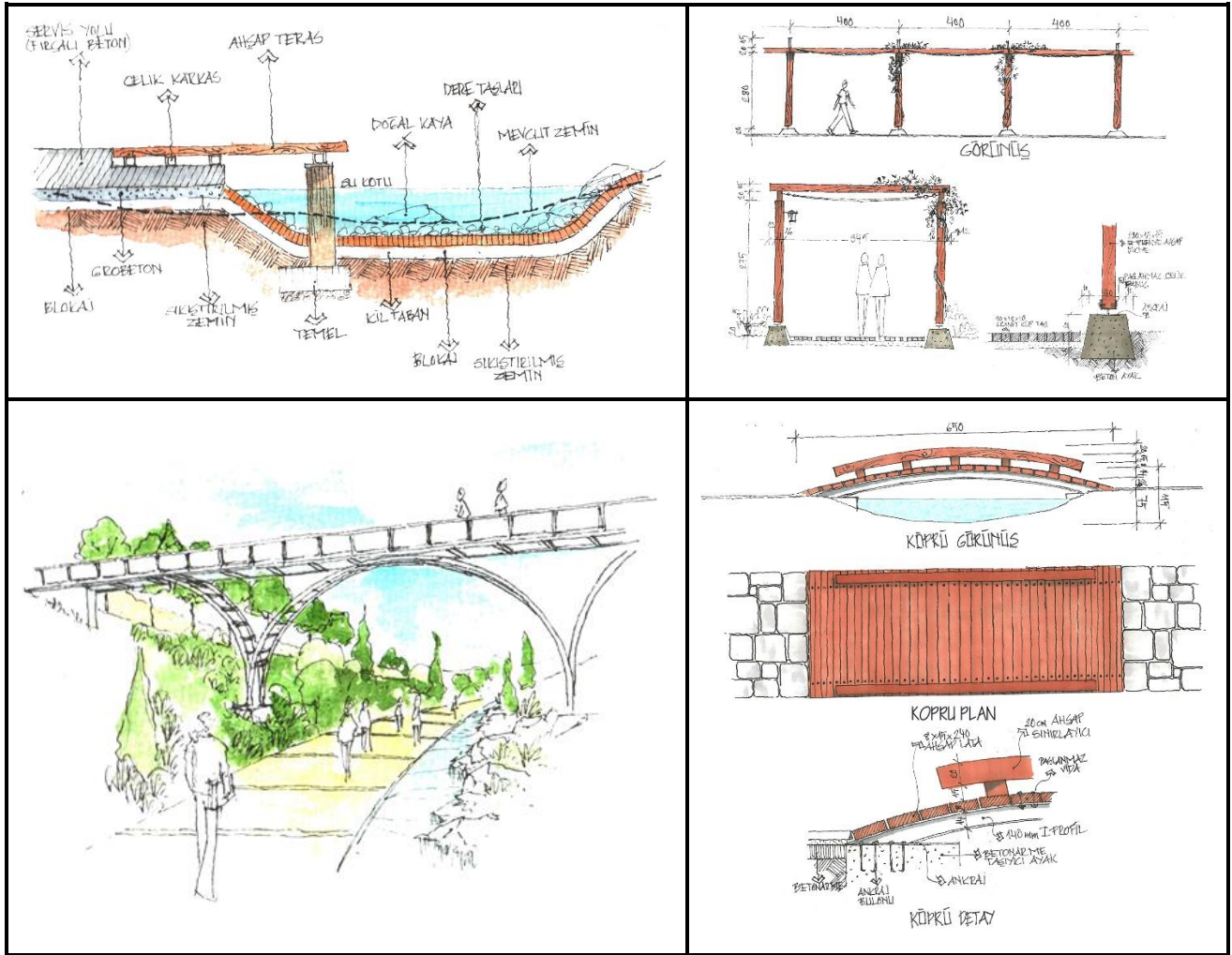
Çalışma alanı içerisinde yapısal anlamda düşünülen tasarım öğelerinin planlanması aşamasında, mümkün olduğunca doğaya uyumlu malzemelerden yararlanılmış ve yeşil dokunun devamlılığına zarar vermeden tasarım önerileri geliştirilmiştir. Doğal çevre analizleri sonucu ortaya çıkan uygun bakı ve

Leke plan aşamasında alan kullanımları, eğim-bakı-yükseklik gruplarına ve yukarıda belirtilen proje ilkeleri esaslarına uygun olacak şekilde geliştirilerek avan proje aşamasına geçilmiştir. Şekil 6'da çalışma alanı avan projesi ve kesitleri verilmiştir.



Şekil 6. Zindan deresi projesi öneri avan projesi ve kesitleri

Avan projesinde yer alan detay çizimleri ise Şekil 7'de verilmiştir. İlk detay olarak belirtilen teras detayında ahşap tercih edilmiş ve su içerisinde yer alan doğal kaya ve dere taşları ile doğal görünüm korunmuştur. Aynı şekilde alanda yer alan üst örtüler ve köprü detaylarında da ahşap tercih edilmiştir.



Şekil 7. Zindan deresi projesi detay çizimleri

SONUÇ

Bu çalışma, Merkezefendi Belediyesi Muratdede Mahallesinde yer alan Zindandere Vadisi ekosisteminin korunmasını ve kentsel yeşil altyapıya katkı sunmayı amaçlamaktadır. Bu kapsamda çalışma alanı olan Zindandere Vadisi için bazı planlama ve tasarım yaklaşımları oluşturulmaya çalışılmıştır. Zindandere Vadisi Kuzeydoğu ve Güneybatı yönünde uzanmaktadır ve topoğrafyası sayesinde hava akımları oluşturmakta ve kentin hava kalitesine katkı sunmaktadır. Yapılacak planlama ve tasarım çalışmalarında hava hareketlerinin kesilmemesine özen gösterilmesi gerekmektedir. Özellikle kış aylarında hava hareketlerinden kaynaklı don ve soğuk etkilerine karşı dayanıklı bitki materyallerinin kullanılması yerinde olacaktır. Vadi kenarı dik eğimli alanlar özellikle güney ve güney batı yönlü olduğu için bu alanlarda susuzluğa dayanıklı, kök gelişimi sağlam ve gölge oluşturan bitkiler tercih edilmelidir. Bu alanlar seyir terasları açısından da uygun alanları oluşturduğundan yer yer açıklıklar bırakılması yerinde olacaktır.

Vadinin her iki yakasını birbirine bağlayan, vadiyi izleme ve seyretme olanağı sunan peyzaj tasarım yaklaşımıyla öngörülen bir köprünün inşası hem estetik hem de erişilebilirlik açısından fonksiyonellik katacaktır. Rekreatyonel aktiviteler açısından suyun kullanımı büyük katkılar sunacağından alan içerisinde eğim istikametinde su akışları ve su düşüşleri verilmeli, suya bağlı aktiviteler tasarım çalışmalarında dahil edilmelidir. Vadi içerisinde yapılaşmalara müsaade edilmemeli ve ekosistemi koruyucu önlemler alınmalıdır. Vadinin kendi yapısına uygun kararlar üretilmeli ve

kentsel yeşil altyapı ile bağlantısının sağlanması planlama ve tasarım çalışmaları açısından oldukça önem arz etmektedir.

TEŞEKKÜR

Pamukkale Üniversitesi Mimarlık ve Tasarım Fakültesi, Şehir ve Bölge Planlama Anabilimdalı yüksek lisans öğrencileri İlcan Şimşek, Havva Sözeri'ye katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Akkaya C, Efeoğlu A, Yeşil N, 2006. Avrupa Birliği su çerçeve direktifi ve Türkiye’de uygulanabilirliği, TMMOB Su Politikaları Kongresi, 195 -204, Ankara.
- Anonim 2021a. Birmingham canal. <https://www.abacusarchitects.co.uk/blog/birmingham-canals-architecture-to-be-admired/>. Erişim tarihi 20.08.2021.
- Anonim 2021b. <https://v3.arkitera.com/yp149-aksaray-kilicarslan-rekreasyon-alani-peyzaj-tasarimi-ogrenci-proje-yarismasi.html?year=&aID=1134>
- Önen M, 2007. Kentsel kıyı mekânı olarak akarsuların rekreasyonel kullanım potansiyelinin irdelenmesi: Eskişehir Porsuk Çayı ve İstanbul Kurbağalıdere örneği. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Özdede S, 2011. Asarsuyu Deresi ve yakın çevresinin kentsel peyzaj kullanımı yönünden irdelenmesi, Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Düzce.
- Özden PP, 2008. Kentsel Yenileme Yasal-Yönetmelik Boyut Planlama ve Uygulama, İmge Kitabevi Yayınları, ISBN: 9789755335711.
- Özhancı E, Irmak MA, Yılmaz H, 2012. Ekolojik koridorlar kapsamında Erzurum-Uzundere güzergahı vadi peyzajı tiplerinin ortaya konması, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 45-54.
- Şahin Ş, 1996. Dikmen vadisi peyzaj potansiyelinin saptanması ve değerlendirilmesi üzerine bir araştırma, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.
- Uslu A, Yetim L, 2006. Çağdaş kentsel çevre yaratma çabalarına bir örnek: ‘Ankara / Portakal Çiçeği Vadisi kentsel dönüşüm projesi’. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, (3)2: 169-179.
- Yerli Ö, Kesim GA, 2009. Kentsel koridorların estetik ve işlevsel yönden irdelenmesi: Düzce örneği. Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi, 1. A.Ü.Çevre Sorunları Araştırma ve Uygulama Merkezi Yayını. ISSN: 1309-1107. 43-58. Ankara.

Economic Analysis and Marketing Margin of Walnut Market In Turkey

Emine ASKAN^{1*}

ABSTRACT: In the research, grower and consumer prices and the marketing structure of walnut in Turkey it was surveyed. This research focuses on foreign trade, consumption, price fluctuations production and marketing from 2003 to 2017. It has been determined that there is an increase in the number of walnut trees and walnut production over the years and a decrease in walnut yield. In the marketing margin calculations, approximately half of the price paid by the consumer for one kg of walnut is received by the farmer in exchange for the shelled walnut equivalent to the unshelled walnut. This is an important ratio for the farmer and shows that the farmer has a significant profit from this product. Although income was not statistically significant in the forecasted walnut demand model, there was an increase in per capita income in Turkey. Population growth has directly increased walnut consumption. Increases in consumption could not be met with domestic production, so imports increased over the years. With respect to Walnut demand and supply functions, supply elasticity (Se) 0.350 and demand elasticity (De) 0.097 were found. With respect to elasticity coefficients, Walnut growers' sensitivity to changes in prices is higher than consumers'.

Keywords: Marketing Structure, Price Fluctuations, Walnut

¹Emine AŞKAN ([Orcid ID: 0000-0002-4052-6598](https://orcid.org/0000-0002-4052-6598)), İğdir University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Economics, İğdir, Turkey.

* **Corresponding Author:** Emine AŞKAN, e-mail: emineaskan@igdir.edu.tr

INTRODUCTION

While healthy eating is an important issue in society, consumption habits and income levels of people vary. For these reasons, there is an increase in the demand for some agricultural products. Hard-shelled fruit growing, which is one of the fast-consumed food products, is also among the investment preferences of growers in terms of economy and nutrition (Ketenci and Bayramoğlu, 2018).

Walnut (*Juglans regia L.*), found in the hard-shelled fruits group, his homeland is known as Anatolia. Walnut growing is carried out in a very large region starting from the Far East through Turkey and Europe to the United States. Walnut production in Turkey shows a natural spread and is grown in every region of the country (Koyuncu et al., 2005; ÜCE, 2016; Gülsoy et al., 2016; Bayazit et al., 2016). Walnuts have a wide range of uses compared to other fruit species, as well as a variety of benefits for people. Walnut has a high nutritional value and demand potential for consumers, as well as being used in industrial sectors such as food, furniture, pharmaceuticals, and is preferred by manufacturers. Due to these characteristics, there is an increase in Walnut planting and afforestation areas in the world and Turkey.

With respect to 2017 statistics in Turkey, 1 115 904 tons of hard - shell fruit (hazelnut - walnut - almond - pistachio- chestnut) are produced annually and total 6.213 million tons of fruit production is 17.96 percent share. Turkey has a rate of 18.82% in hard-shelled fruit production in 2017. After our traditional hazelnut products, it is the second place in hard-shell fruit production (TSI., 2019).

Increasing regularly every year, World walnut production increased by 93.05% in the ten-year period (2007-2017) and increased by 1.097 million hectares in 2017 to 3 829 626 tons. Important Walnut producing countries in the world by 2017: China %50.28 (1 925 403 ton) while in first place with the rate of, United States %14.92 (571 526 tons) is second with a rate of, Iran 9.12% (349 192 tons) is third with the rate of and Turkey 5.48% (210 000 tons) is fourth with the rate of ranked (FAO., 2019).

With respect to 2016 data, it is seen that the largest share in World walnut exports, which reached about 3.615 billion \$ in the world, was in the United States with a ratio of approximately (753 million \$) 43.40%, followed by Mexico with 19.43% (337 million \$) and Chile with 8.54% (148 million \$). Turkey is 12th with 1.23% (66 million \$) ranked (FAO., 2019).

In Walnut imports, Germany is in first place with 16.42% of the world's \$1.402 billion (\$230 million) with respect to 2016 data. It ranks Japan with 8.39% (1.177 million \$), Spain with 6.47% (\$91 million). Turkey among the importing countries (33 thousand \$) with a rate of 2.38% 11th. (FAO., 2019).

With respect to the data of the Turkish Statistical Institute for 2017, the Walnut produced in 920 128 decars in Turkey constitutes 5.92% of the production area in Denizli with 54 480 decars. Denizli is followed by Manisa with 49 784 decars areas (5.41%), Bursa with 44 805 decars areas (4.87%), Kahramanmaraş with 41 938 decars areas (4.56%). In terms of production quantity, Kahramanmaraş accounts for 5.19% of the total amount with 10 902 tons of production, Antalya accounts for 3.86% with 8 101 tons, Denizli accounts for 3.79% and Bursa accounts for 3.53% (TSI., 2019).

Walnut prices have also increased with increasing demand in recent years. As a result of studies with TSI data, it was determined that when the last ten-year period (2007-2017) was examined, grower prices increased by 321.10% and consumer prices increased by 197.26%. The United States, which is in the first place in walnut production, is also in the first place in determining prices, leading to the world market. Turkey is one of the countries where the United States exports walnuts. In 2017, Turkey

imported walnuts from the United States for 511.28 \$ (TRADAMAP., 2019). Besides its own production, Turkey also leads the world market by exporting its imported walnuts.

In this study, economic analyses were made taking into account the grower-consumer prices of walnuts in Turkey and the marketing situation was examined. In addition, models related to Walnut supply and demand functions were estimated to determine the factors affecting Walnut supply and demand.

MATERIALS AND METHODS

Material

In this study, annual data on production quantity, production area, yield, grower (farmer's prices) and consumer (retail) prices of Walnut from 2003 to 2017 period were taken from Turkish Statistical Institute (TSI., 2019). The price of fertilizer, the price of oil fuel, the price of agricultural workers are taken from TSI web site. Various publications and sources have also been made available.

Method

The current prices of shelled walnut producer and unshelled walnut consumer are converted into real prices by taking into account grower and consumer price indices (2017=100). Year-to-year fluctuations in prices were first expressed in absolute values, then expressed in percentage of the first two years compared. Marketing margin; It is calculated as the difference between the prices of the growers and the prices paid by the consumers (Topçu, 2003; Topçu, 2004; Aşkan and Dağdemir., 2015; Kumbasaroglu, et al., 2021). The yield of shelled walnut growers was approximately 51.76% based on the mean of all species (Şen, 2011). It was calculated that 1 kg of internal walnuts were obtained from 1.932 kg of shelled walnuts.

While calculating the chain price index, the current prices of growers and consumers were compared year to year by taking into consideration the 2003-2017 year range. There is no basic year in the chained price index. The index for any year is calculated based on the previous year's price. The main purpose of the chain price index is to examine the annual changes of price at the time, i.e. to determine the rate at which prices rise or decrease in the following year compared to the previous year (Dağdemir, 1998).

The quantity of supply of single-year agricultural products is the function of the price of the previous year. However, walnut is perennial and the production determination will not be changed. That's why, walnut production determinations were thought to respond with a hypothetical year delay. When examining the intercourse between price and walnut production, it was taken into account that the effect of price (t) on production for a given year could only occur after one year (t-1), the walnut production series was preserved exactly the same, the price series was analysed by sliding back one year.

When creating supply and demand functions, the supply side corresponds to the demand side. On the demand side, consumption and ex-ports are important, while on the supply side, labour, land, capital and innovation are important (Tan and Xiang, 2019).

Demand and supply function models are forecasted, while series are proved individually by linear, log-log and semi-log models. Semi-logarithmic models (Log-Lin) were used in the analyses that yielded the most appropriate statistical results. All prices in the independent variables are converted to real prices by taking 2017=100. Durbin-Watson test was applied in time series analysis and it was tried to determine whether there was an autocorrelation problem. No autocorrelation problem was detected in the models created.

Model which is forecasted for walnut supply is at the equation1.

$$\text{Log}WP_{(t)} : \alpha + \beta_1 WPP_{(t-1)} + \beta_2 PPP_{(t-1)} + \beta_3 HPP_{(t-1)} + \beta_4 FP_t + \beta_5 LP_{(t)} + \beta_6 DP_{(t)} + \beta_7 P_{(t)} + \epsilon \quad (1)$$

WP : Walnut (shelled) Production Quantity (tonnes)

WPP : Walnut (shelled) Grower Price (₺ kg-1)

PPP : Pistachio Grower Price (₺ kg-1)

HPP : Hazelnut (shelled) Grower Price (₺ kg-1)

FP : Fertilizer Price (₺ kg-1)

LP : Agricultural Labour Price (₺ day-1)

DP : Oil fuel Price (₺ lt-1)

P: Periodicity^{1*} (high productiveness year: 1, low productiveness year: 0) (*Repetition tendency. In other words, the description of fruit kinds and diversities that bear fruit in one year and give little or no fruit the next year. That is, evident productivity year over year.)

Model which is forecasted for the unshelled walnut demand is at the equation 2.

$$\text{Log}WC_{(t)} : \alpha + \beta_1 WCP_{(t)} + \beta_2 PCP_{(t)} + \beta_3 HCP_{(t)} + \beta_4 NP_{(t)} + \beta_5 NI_{(t)} + \beta_6 P_{(t)} + \epsilon \quad (2)$$

WC : Unshelled Walnut Consumption Amount (tonnes) (it was calculated with respect to the yield rate (51.76%) of the shelled Walnut.)

WCP : Unshelled Walnut Consumer Price (₺ kg-1)

PCP : Pistachio Consumer Price (₺ kg-1)

HCP : Unshelled Hazelnut Consumer Price (₺ kg-1)

NP : Population (Person)

NI : Domestic revenue (₺ person-1) (transformed to real revenue)

P : Periodicity (high productiveness year: 1, low productiveness year: 0)

RESULTS AND DISCUSSION

From the year of 2003 to 2017 the number of walnut fruitful tree went up 113.83%. So the walnut tends to periodicity, crop amount and productiveness is fluctuations from year to year (Table 1). With respect to a fifteen-year period, yearly mean production is 173 928 tones, mean productiveness to each tree is 30.42 kg.

Çelik (2013) in his study of the hard-shelled fruit pistachios, walnuts, hazelnuts and almonds by determining the appropriate model for obtaining equations. With respect to ARIMA models determined as a result of 29 analyses, the production amounts of hard shelled fruits were forecasted for 2012-2020. With respect to the predicted values, it predicted an increase of 8.03% in walnut in 2012-2020 period.

Although there were fluctuations in walnut consumption in the years from 2003 to 2017, there is an increase as a trend. In the 15 years period mean yearly consumption is calculated as 1.43 kg. Although there was an increase in Walnut imports and exports, there was a significant increase in imports over the years (Table 2).

Ketenci and Bayramoglu (2018), Turkey's walnut production to determine its competitiveness in international markets Revealed Comparative Advantage Index (RCA) have used. Walnut competitiveness in the international market in Turkey described in 2016. They found that the decrease of comparative advantage.

Table 1. Number of Tree Fruitful and Production in Turkey

Years	Fruitful Tree Number (1000 - piece)	Production (tones)	Productivity (kg per ⁻¹ tree)
2003	4 100	130 000	31.71
2004	4 200	126 000	30.00
2005	4 535	150 000	33.08
2006	4 595	129 614	28.21
2007	4 927	172 572	35.03
2008	5 095	170 897	33.54
2009	5 192	177 298	34.15
2010	5 441	178 142	32.74
2011	5 594	183 240	32.76
2012	5 977	203 212	34.00
2013	6 526	212 140	32.51
2014	7 001	180 807	25.83
2015	7 596	190 000	25.01
2016	8 171	195 000	23.86
2017	8 767	210 000	23.95

Source: TSI (2019)

Table 2. Walnut Consumption Per Capita and Marketing in Turkey

Years	Import (shalled) (tones)	Export (shalled) (tones)	Consumption* (shelled) (tones)	Unshalled Walnut** Consumption (tones)	Consumption per Capital (kg year ⁻¹)
2003	15 991	465	145 526	75 324	1.12
2004	26 247	661	151 586	78 461	1.15
2005	23 580	412	173 169	89 632	1.30
2006	25 913	514	155 013	80 235	1.15
2007	23 360	1 136	194 796	100 826	1.43
2008	32 399	2 848	200 448	103 751	1.45
2009	38 162	2 357	213 104	110 302	1.52
2010	33 727	6 134	205 735	106 488	1.44
2011	29 546	7 173	205 613	106 425	1.42
2012	46 627	10 592	239 247	123 834	1.64
2013	32 018	7 787	236 371	122 345	1.60
2014	29 076	8 661	201 222	104 152	1.34
2015	42 949	7 890	225 060	116 490	1.48
2016	70 073	4 593	260 480	134 824	1.69
2017	58 164	6 373	261 791	135 503	1.68

Source: TSI (2019); FAO (2019)

* Consumption = Production + Import-Export

** Unshalled walnut consumption = Shelled consumption X yield rate (51.76%)

Marketing margin: It is the difference between the price paid by the consumer for 1 kg of shelled walnuts and the price paid by the farmer for 1,932 kg of shelled walnuts, which is equivalent to 1 kg of shelled walnuts. When current prices are taken into account, the rates obtained by intermediaries in the year range from 35.07% to 56.90%, while the rates obtained by growers range from 43.10% to 64.93% (Table 3).

Table 3. Walnut Marketing Margin With Respect to Current Price in Turkey

Years	Grower * Price (₺ kg ⁻¹)	Consumer Price (₺ kg ⁻¹)	Marketing Margin	Grower Income (%)	Commissioners Income (%)
2003	7.13	13.05	5.92	54.63	45.37
2004	7.96	12.26	4.30	64.93	35.07
2005	8.71	14.73	6.01	59.17	40.83
2006	8.89	17.65	8.76	50.35	49.65
2007	10.26	20.77	10.51	49.39	50.61
2008	10.82	22.56	11.74	47.96	52.04
2009	10.53	24.43	13.90	43.10	56.90
2010	13.60	25.38	11.78	53.58	46.42
2011	14.76	30.03	15.27	49.16	50.84
2012	16.65	33.91	17.26	49.11	50.89
2013	17.27	37.52	20.25	46.03	53.97
2014	21.29	46.18	24.89	46.11	53.89
2015	25.99	57.09	31.11	45.52	54.48
2016	28.44	56.68	28.24	50.17	49.83
2017	30.83	61.74	30.90	49.94	50.06

Source: Authors' own calculations

* Grower prices are calculated by multiplying the price of walnut with 1.932

Generally, real prices of walnut showed an upward trend with fluctuations. In real prices, the rates obtained by intermediaries vary between 30.89% and 54.87% and the rates obtained by the growers range between 45.13% and 69.11% (Table 4).

Table 4. Walnut Marketing Margin With Respect to Real Prices in Turkey (2017=100)

Years	Grower* Prices (₺ kg ⁻¹)	Consumer Prices (₺ kg ⁻¹)	Marketing Margin	Growers Income (%)	Commissioner Income (%)
2003	22.25	38.97	16.71	57.11	42.89
2004	22.88	33.11	10.23	69.11	30.89
2005	23.15	36.74	13.58	63.02	36.98
2006	21.54	40.12	18.57	53.71	46.29
2007	22.87	44.40	21.54	51.50	48.50
2008	21.84	42.79	20.95	51.03	48.97
2009	20.00	45.77	25.76	43.70	56.30
2010	23.80	43.82	20.03	54.30	45.70
2011	24.26	46.67	22.41	51.98	48.02
2012	25.13	49.68	24.55	50.59	49.41
2013	24.25	52.61	28.36	46.09	53.91
2014	27.46	58.73	31.27	46.75	53.25
2015	31.13	68.97	37.84	45.13	54.87
2016	31.61	65.65	34.04	48.15	51.85
2017	30.83	61.74	30.90	49.94	50.06

Source: Authors' own calculations

* Grower prices are calculated by multiplying the price of walnut with 1.932.

In Table 5, grower and consumer chain indexes are deliberated with respect to the current prices of walnuts and their differences are compared with inflation rates with respect to years. As a result of this comparison, it was determined that the prices obtained by the growers in walnut remained above the inflation rate in 2005, 2007, 2010, 2012, 2014 and 2015. In these years, the prices were in favor of the grower and in other years, against the grower. When we examine the situation of the consumer in 2005, 2006, 2007, 2009, 2011, 2012, 2013, 2014 and 2015, the purchasing power of walnut decreased while it increased in other years.

Table 5. Shelled Walnut Grower and Unshelled Walnut Consumer Chain Indexes and Annual Inflation Rates With Respect To Current Prices in Turkey

Years	Grower Chained Index	Grower Index Difference	PPI	Consumer Chained Index	Consumer Index Difference	CPI
2003	100.00	-	13.90	100.00	-	18.40
2004	111.70	11.70	13.80	93.90	-6.10	9.30
2005	109.50	9.50	2.70	120.10	20.10	7.70
2006	102.00	2.00	11.60	119.90	19.90	9.70
2007	115.40	15.40	5.90	117.70	17.70	8.40
2008	105.50	5.50	8.80	108.60	8.60	10.10
2009	97.30	-2.70	5.90	108.30	8.30	6.50
2010	129.20	29.20	8.90	103.90	3.90	6.40
2011	108.50	8.50	13.30	118.30	18.30	10.50
2012	112.80	12.80	2.50	112.90	12.90	6.20
2013	103.70	3.70	7.00	110.60	10.60	7.40
2014	123.30	23.30	6.40	123.10	23.10	8.20
2015	122.10	22.10	5.70	123.60	23.60	8.80
2016	109.40	9.40	9.90	99.30	-0.70	8.50
2017	108.40	8.40	15.50	108.90	8.90	11.90

Source: Authors' own calculations

With respect to the signs identified in the model forecasted in relation to the supply function of walnut (shelled), there was an accurate intercourse between walnut production and walnut grower real price, agricultural worker fertilizer, real price periodicity and real price. It is determined that there is an inverse intercourse between the grower real price of pistachios, the grower real price of nuts and the real price of oil fuel. Again, it is seen that there is an accurate intercourse between walnut production and the real price of fertilizer and the real price of agricultural workers. The use of time series data can result in results that are contrary to economic theory in the signs of coefficient (Table 6).

Table 6. Walnut Supply Function Regression Analysis

LogWP	Coefficient		Standart Error	P (t)	P (F)
α	11.131	***	0.077	0.000	
WPP	0.028	***	0.008	0.000	
PPP	-0.018	***	0.003	0.000	
HPP	-0.008	**	0.004	0.029	
FP	0.289	***	0.059	0.000	0.000
LP	0.013	***	0.001	0.000	
DP	-0.037	*	0.020	0.057	
P	0.163	***	0.018	0.000	
RHO	-0.697	***	0.191	0.000	

*: %10, **: %5 and***: % 1 is significant in severity levels.

RHO: Adjusted Correlation Coefficient

The Durbin-Watson test was applied to the Walnut supply model, the problem of autocorrelation was identified and the regulation of autocorrelation was made. As a result, the Durbin-Watson statistic is 2,960 and it has been determined that there is a negative intercourse between the remains (RHO: -0.697) (Tablo 6).

R^2 value in the model is high (0.979) and with respect to the F test, the model forecasted for Walnut supply function was statistically significant at 1% ($p=0.000$) significance level. Independent variables such as walnut grower real price, pistachio grower real price and periodicity 1%, hazelnut grower real price 5% and oil fuel real price 10% are statistically important and other independent variables are found to be unimportant (Table 6).

Table 7. Walnut Demand Function Regression Analysis

LogWC	Coefficient	Standard Error	P (t)	P (F)
α	7.345 ***	1.004	0.000	
WCP	0.002	0.005	0.648	
PCP	-0.013	0.003	0.007	
HCP	0.001	0.002	0.616	0.000
NP	0.001 **	0.001	0.011	
NI	-0.001	0.001	0.684	
P	0.056	0.033	0.133	

*: %10, **: %5 and ***: % 1 is significant in severity levels.

With respect to the signs identified in the model forecasted on demand function of unshelled Walnut, there is an inverse intercourse between consumption of walnut and pistachio consumer real price and domestic income. It has been also determined that there is an accurate intercourse between the consumer real price and the consumer real price in walnut in unshelled hazelnut and the population and periodicity. With respect to economic theory; while an inverse intercourse between walnut consumption amount and real unshelled walnut consumer price is expected, a correct intercourse has emerged. Likewise, while an accurate intercourse was expected between national income and consumer real price of pistachio nuts, an inverse intercourse has emerged (Table 7).

Durbin-Watson test was applied to walnut demand model and no autocorrelation problems were found. In the model, R^2 value is high (0.961) and with respect to the F test, the model forecasted for unshelled hazelnut demand function was found statistically significant at 1% ($P=0.000$) importance level. Again, it was detected that the population of the Independent Variables was statistically significant at 5% importance level and that the other independent variables were unimportant (Table 7).

CONCLUSION

It has been determined that there is an increase in the number of walnut trees and walnut production over the years and a decrease in walnut yield. There has been an increase in domestic total walnut consumption and per capita consumption. Although revenue was not statistically significant in the predicted Walnut demand model, there was an increase in per capita income in Turkey. Unshelled walnut is an important input in the dessert industry. Therefore, it can be said that the increase in income increases consumption in other sectors where walnut is used, and indirectly increases the consumption of walnuts per capita. On the other hand, population growth directly increased the consumption of walnuts. Increases in consumption could not be met with domestic production, so imports increased over the years.

With respect to walnut demand and supply functions, supply elasticity (Se) 0.350 and demand elasticity (De) 0.097 were found. When $Se > De$, with respect to Spider Web theory, prices move away from the centre towards the environment and the movement increases with expanding fluctuations. With respect to elasticity coefficients, Walnut growers 'sensitivity to changes in prices is higher than consumers'.

In the marketing margin calculations, approximately half of the price paid by the consumer for one kg of walnut is received by the farmer in exchange for the shelled walnut equivalent to the unshelled walnut. This is an important ratio for the farmer and shows that the farmer has a significant profit from this product. Therefore, growers are more sensitive to imports and prices.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Anonymous, 2016. Ünye Commodity Exchange, Walnut Breeding and Problems Report.
- Anonymous, 2019. Food and Agriculture Organization. Crops and data: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (19 February 2019).
- Anonymous, 2019. Trade Statistics For International Business Development https://www.trademap.org/Country_SelProductCountry. (Date of access: 16 June 2019).
- Anonymous, 2019. Turkish Statistical Institute, Plantal Production Statistics, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1046. (Date of access: 06 February 2019)
- Aşkan E, Dağdemir V, 2015. Economic Analysis of Turkey Garlic Market. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 28(1).
- Bayazit S, Tefek H, Çalışkan O, 2016. Walnut (*Juglans regia* L.) Researches in Turkey. *Süleyman Demirel University Faculty of Agriculture Journal* 11 (1):169-179, 2016 ISSN 1304-9984.
- Çelik Ş, 2013. Modeling of Production Amount of Hard Fruits by Box-Jenkins Technique. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 23(1): 18–30.
- Dağdemir V, 1998. Economic Analysis of Turkey Onion Market. *Journal of Ataturk University Faculty of Economics and Administrative Science*, 12(1/2): 99-114.
- Gülsoy E, Kaya T, Pehlivan M, Şimşek M, 2016. Some Pomological and Chemical Properties of Walnut (*Juglans Regia* L.) Genotypes Selected from Iğdır Province. *Anatolian Agricultural Sciences, Journal / Anatolia J Agr Sci*, 31: 309-314.
- Ketenci CK, Bayramoğlu Z, 2018. Competitive Analysis of Walnut Production in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Natural Sciences*, 5(3): 339–347.
- Koyuncu F, Yıldırım FA, Koyuncu MA, Tosun F, 2005. Investigation of the Phenological Characteristics of Three Different Walnut Populations in Isparta Region. *Bahçe, II. National Walnut Symposium Special Issue, Yalova Atatürk Horticultural Center Research Institute Journal, Volume: 34 (1) / 123/132, ISSN 1300-8943*.
- Kumbasaroğlu H, Aşkan E, Dağdemir V, 2021. Economic analysis of tomato in Turkey. *Mediterranean. Agricultural Sciences*, 334(1):47-54.
- Şen SM, 2011. Nutritional Value of Walnut Culture Folklore. *ÜÇM Publications / 3, Agricultural Publications //1 2011 (ISBN 978-605-891150-0-8)*.
- Tan M, Xiang, C, 2019. Rapid development of ecological rural primary, secondary and tertiary industrial integration based on interactive multi-model algorithm. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28, 7432-7442.
- Topcu Y, 2003. Marketing marjın in Food Products and Algebraic Analysis. *Atatürk University Journal of Agriculture Faculty*, 34 (2): 199-207.
- Topcu Y, 2004. A Study on the Meat Cost and Marketing Margins of Cattle Fattening Farms in Erzurum Province. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(6): 1007-1015.

Atf İçin: Denizli Akdemir G, Dağdemir V, 2021. Erzurum İlindeki Tüketicilerin Bal Tüketim Tercihlerinin İncelenmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 11(4): 3172-3183.

To Cite: Denizli Akdemir G, Dağdemir V, 2021. Investigation of Honey Consumption Preferences of Consumers in Erzurum. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3172-3183.

Erzurum İlindeki Tüketicilerin Bal Tüketim Tercihlerinin İncelenmesi

Gökçe DENİZLİ AKDEMİR¹, Vedat DAĞDEMİR^{1*}

ÖZET: Bu çalışmanın amacı Erzurum ilindeki tüketicilerin bal tüketim tercihlerini ve diğer arı ürünleri tüketim durumlarını ortaya koymaktır. Çalışmada Erzurum ilinde ikamet eden 400 kişiyle anket yapılmıştır. Anket sonuçlarından elde edilen veriler ile tanımlayıcı istatistikler, frekans tabloları oluşturulmuş ve çok değişkenli regresyon analizi ile bal tüketimini etkileyen faktörler belirlenmiştir. Bağımlı değişken olan bal tüketimini, tüketicilerin eğitim düzeyi, ailedeki çocuk sayısı, bal üreten tanıdık ve akrabaların olması ve gelir seviyesi etkilemektedir. Tüketicilerin bir üst eğitim seviyesinden mezun olması durumunda bal tüketim miktarları artmaktadır. Ailedeki çocuk sayısı arttıkça bal tüketimi artmaktadır. Gelirin artması da bal tüketimini pozitif yönde artırmaktadır. Ayrıca süzme bal ve petek bal tüketim sıklığı bal tüketimini etkilemektedir. Oluşturulan modelin bal tüketimindeki değişkenliği açıklama oranı %84.80 seviyesindedir ve varyans analizi (Anova) sonucuna göre oluşturulan model anlamlıdır. Çalışma sonucunda iç tüketimin teşvik edilmesiyle yerel arıcılık sektöründe canlanmalar görülebileceği, ayrıca tüketicilerin sağlıklı bir yaşam için bal tüketiminin önemi hakkında eğitilmesinin de bal tüketim miktarının artmasına katkıda bulunacağı tespit edilmiştir. Günümüzün rekabetçi ortamında üreticilerin sürdürülebilir üretim yapması için markalaşmaya gidilmesi önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Arıcılık, bal tüketimi, regresyon analizi, tüketim tercihleri

Investigation of Honey Consumption Preferences of Consumers in Erzurum

ABSTRACT: The objective of this study is to reveal the honey consumption preferences of consumers in Erzurum and their consumption of other bee products. In this study, a survey was conducted with 400 people living in Erzurum. Descriptive statistics and frequency tables were created with the data obtained from the survey results and factors affecting honey consumption were determined by multivariate regression analysis. Honey consumption, which is dependent variable, affected by the education level of the consumers, the number of children in the family, the presence of honey-producing relatives or acquaintances and the income level. Honey consumption increases if consumers graduate from a higher education level. Honey consumption increases as the number of children in the family increases. Increasing income also increases honey consumption positively. In addition, the frequency consumption of filtered honey and honeycomb honey affects the consumption of honey. The percentage explanation of variability in honey consumption of the created model was 84.80% and the model was significant according to the analysis of variance (Anova). As a result of the study, it was determined that the domestic beekeeping sector could be revitalized by encouraging domestic consumption, and that educating consumers about the importance of honey consumption for a healthy life would also contribute to the treatment of honey consumption.

Keywords: Beekeeping, honey consumption, regression analysis, consumption preferences

¹Gökçe DENİZLİ AKDEMİR ([Orcid ID: 0000-0003-4430-9635](https://orcid.org/0000-0003-4430-9635)), Vedat DAĞDEMİR ([Orcid ID: 0000-0002-2293-9460](https://orcid.org/0000-0002-2293-9460)), Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Erzurum.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Vedat DAĞDEMİR, e-mail: dagdemir@atauni.edu.tr

Bu çalışma Gökçe DENİZLİ AKDEMİR'in Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Birim Etik Kurul Başkanlığının Tarih; 28.05.2021, Oturum Sayısı; 2021/1 ve Karar No: 2021/1 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı alınmıştır.

GİRİŞ

Dengesiz beslenme çağımızın en büyük sorunları arasında yer almak olup az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde bu sorun görülmektedir. Dünya nüfusunun hızlı bir şekilde artmasına bağlı olarak dengesiz beslenmenin de arttığı görülmektedir. Bal ve arı ürünleri dengeli beslenme içinde önemli bir yere sahip olan gıda ürünlerindedir. Arıcılık birçok ülkede farklı amaçlara bağlı olarak yapılan en eski ve en yaygın tarımsal faaliyetlerdendir. Toprağa bağımlı olmaması, az sermayeyle yapılması, kısa sürede gelir getirmesi, ürünün yıllarca saklanabilir olması ve diğer tarımsal faaliyetlere oranla daha az iş gücü kullanılması arıcılığı ön plana çıkaran önemli özelliklerdir (Şerefoğlu ve Canverdi, 2011; Sezgin ve Kara, 2011; Kuvancı ve ark., 2013; Karakaya ve Kızıloğlu, 2015).

Dünya’da bulunan ballı bitkilerin dörtte üçünün Türkiye’de bulunması ve çeşitli bölgelerinde bulunan yayla, mera ve ovalarında farklı zaman aralıklarında ve özellikle de yaz aylarında, çiçek açan ballı bitkilerin olması nedeniyle hem kaliteli hem de bol miktarda nektar elde edilmesi mümkündür (Sıralı, 2009). Türkiye’nin topoğrafik yapısı, geniş flora kaynakları, gezgin ve sabit arıcılık için gerekli iklim koşullarının uygunluğu ve biyoçeşitliliğiyle özellikle işsizliğin yoğun yaşandığı kırsal kesimlerde, arıcılık alternatif geçim kaynağı olarak ön plana çıkmış ve önemli bir ekonomik uğraşı alanı olmuştur (Smith, 2002). Türkiye bu özelliklerinden dolayı oldukça zengin bir yapıya ve birçok avantaja sahiptir (Sorkun, 1994; Palmer *et al.*, 2000; Kekeçoğlu, 2009).

Bal, bitkilerin çiçeklerinde bulunan balözünün (nektar) veya bitkiler üzerinde yaşayan bazı böceklerin ve bazı bitkilerin salgıladığı maddelerin, balarısı (*Apis mellifera*) tarafından toplanması ve arı vücudunda bileşimlerinin değiştirilerek petek gözlerle depolanması sonucunda oluşan koyu kıvamlı ve hoş kokulu tatlı bir üründür (Anonim, 1988; Ulusoy, 2012). Ağaç kovukları gibi doğal ortamlarda, arının kendi beslenmesi için ürettiği bal, zamanla modern yetiştiriciliğe geçilmesi ile üreticiler için önemli bir gelir kaynağı olmuştur (Yılmaz, 1994; Mutlu ve ark., 1994; Yaşar, 2009).

Bal dışındaki arı ürünleri ise polen, arı sütü, balmumu, propolis ve arı zehridir. Polen, çiçekli bitkilerin erkek organlarında meydana gelen üreme üniteleridir (Uygur, 2010). Türkiye dünyada arıcılık ve bal üretimi bakımında ilk sıralarda olmasına rağmen; polen, propolis ve arı sütü üretim ve tüketim sıralaması bakımından alt sıralarda yer almaktadır (Sarı, 2013).

2015-2017 verilerine göre yıllar itibariyle kovan sayılarında sürekli bir artış görülmektedir. Kovan sayısı bakımından dünyada ilk üç sırada sırasıyla Hindistan, Çin ve Türkiye yer almaktadır. Dünyadaki toplam kovan varlığının beşte biri Türkiye’dedir. Koloni varlığı, bitki örtüsü ve arı gen merkezleri olarak Türkiye dünyada önemli bir konumdadır (FAO, 2019). Dünya’da 2017 yılında bal üretimi 1.86 milyon ton olarak gerçekleşmiş ve üretimde ilk sırada %29.64 ile Çin yer almaktadır. Türkiye %6.15 ile bal üretim miktarı bakımından ikinci sırada yer almaktadır. Hindistan, kovan başına verim düşüklüğü nedeni ile bal üretimi bakımından %3.49’luk pay ile sekizinci sırada yer almaktadır (FAO, 2019).

Dünya genelinde 2007 yılında kişi başı yıllık bal tüketimi 220 gram iken 2016 yılında 250 grama yükselmiştir (FAO, 2019). 2016 yılında dünyadaki toplam bal tüketim miktarı 1.84 milyon tondur. Ülkelerin toplam bal tüketimi incelendiğinde, nüfusun etkisiyle ilk sırada Çin yer almaktadır. Türkiye’nin bal tüketimi 2016 itibariyle 102 bin ton seviyesindedir. Toplam bal tüketimi verilerine göre Türkiye dünyada Çin ve ABD’nin ardından üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2019). Türkiye’de 2009 yılında yıllık 81 bin ton olan bal tüketimi 2015 yılından itibaren yıllık 100 bin ton seviyesini aşmıştır. Türkiye’nin 2018 yılı toplam bal tüketimi 101.5 bin tondur (TÜİK, 2019).

2016 yılı kişi başı yıllık bal tüketiminde ilk sırada 3.6 kg ile Uruguay yer almaktadır. Türkiye 2016 yılında kişi başı yıllık 1.28 kg tüketimi ile dünya genelinde sekizinci sırada yer almaktadır (FAO, 2019). Türkiye’nin 2018 yılında kişi başı yıllık bal tüketimi ise 1.24 kg seviyesindedir (TÜİK, 2019).

Amerika, Avrupa ve Asya ülkelerinde üreticiler arı ürünleri üretimi, tüketiciler de arı ürünleri tüketimi konusunda yeterli bilince sahiptir. Türkiye de arı ürünleri üretimi potansiyelinin yüksek olmasına rağmen, üretim ve tüketim bilinci yeterince gelişmediği için büyük bir ekonomik kayıp söz konusudur (Kumova ve Korkmaz, 1998; Samancı ve Sunay, 2011).

Arı ürünleri tüketicilerinin tercihleri üzerinde birçok faktör etkili olmaktadır. Tutum, algılama, seçim yapabilme, inanç ve değer yargıları tüketicilerin bal ve arı ürünleri tercihlerini etkilemektedir (Kavas, 1987). Arı ürünleri tüketim tercihlerine yönelik ilgili yapılan çalışmalarda özellikle bal üzerinde yoğunlaşmıştır (Merdan ve Durmuş, 2018).

Tüketicilerin istekleri ve arzuları doğrultusunda üretim yapılabilmesi için tüketici davranışlarının tespit edilmesi gerekmektedir. Araştırmada, Erzurum ili merkez ilçelerindeki (Yakutiye, Palandöken, Aziziye) tüketicilerin bal ve arı ürünleri tüketim tercihlerini tespit etmek amaçlanmış olup tüketicilerin arı ürünlerini satın alma tercihleri, bal tüketim sıklıkları ve miktarları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmayla bal ve diğer arı ürünlerinin bilinirlik durumu ölçülmüş, organik bal tüketimine ilişkin bilgi elde edilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada bal ve arı ürünlerinin satın alma kararlarını etkileyen faktörleri tespit etmekte amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırmanın birinci verileri Erzurum ili Aziziye, Yakutiye ve Palandöken merkez ilçelerinde 2016 yılında tüketicilerle yüz yüze yapılan anketlerden elde edilen verilerden oluşmuştur. İkincil veriler ise konu ile ilgili yapılan yabancı ve yerli bilimsel çalışma, yayın, dergi, rapor, çeşitli ulusal ve uluslararası kurum ve kuruluşlardan alınan verilerden oluşmuştur.

Yöntem

Anket sayısı oransal örnekleme yöntemine göre %95 güven aralığında ve ortalamadan %5 sapma ile 385 olarak tespit edilmiştir. Meydana gelebilecek veri kayıplarını önleyebilmek adına çalışma kapsamında %10 ilave anket yapılmıştır. Gerekli veri temizliği yapıldıktan sonra toplam olarak hatasız 400 ankete ait veriler dikkate alınmıştır. Anket sayısını belirlemek için eşitlik 1 kullanmıştır (Daniel, 1999).

$$n = z^2 * p * q / c^2 \quad (1)$$

n: Örnek büyüklüğü

z: z cetvel değeri (%95 güven aralığında 1.96)

p: Bal tüketenlerin oranı (0.5)

q: (1-p) Bal tüketmeyenlerin oranı (0.5)

c: Hata terimi (0.05 = ±5)

Çalışma kapsamında mevcut veriler, aritmetik ortalama ve yüzde hesapları kullanılarak değerlendirilmiştir. Ankete katılan tüketicilere ve tüketime ait özellikler temel istatistiksel yöntemlerle (frekans dağılımı ve ortalama) ölçülmüştür. Tüketicilerin bal ve arı ürünleri satın almaları üzerine etkili faktörler konusundaki görüşleri ile bal ve arı ürünleri satın alırken ürünler üzerindeki etiket bilgilerine verilen önem 5'li Likert Ölçeği kullanılarak belirlenmiştir.

Araştırma sonuçlarının analizi için çok değişkenli doğrusal regresyon analizi kullanılmıştır. Regresyon analizinde bağımlı değişken ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişki matematiksel modelle açıklanmıştır.

Çok değişkenli regresyon analizinde matematiksel model $Y_i = \beta_0 + \beta X_i + e_i$ şeklinde oluşturulmaktadır. Bu denklemde i indisi kaçınıcı gözlem değeri olduğunu, Y_i bağımlı değişken değerini, β_0 sabit katsayıyı, X_i bağımsız değişkenleri, β bağımsız değişkenlere ait katsayıları ve e_i ise artık değerleri

temsil etmektedir (Alpar, 2013). Çalışmada kullanılan çok değişkenli regresyon analiz modeli eşitlik 2’de gösterilmiştir.

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^{12} \beta_j * X_j \quad (2)$$

Y = Ailenin yıllık tükettiği bal miktarı

X₁ = Aile reisinin cinsiyeti

X₂ = Aile reisinin yaşı

X₃ = Aile reisinin eğitimi

X₄ = Ailedeki çocuk sayısı

X₅ = Bal üreten akraba ve tanıdık olup olmaması

X₆ = Gelir

X₇ = Şeker harcaması

X₈ = Reçel, çikolata, şekerleme harcaması

X₉ = Süzme bal tüketim sıklığı

X₁₀ = Petek bal tüketim sıklığı

X₁₁ = Organik bal tüketme durumu

X₁₂ = Reklamın etkisi

Çok değişkenli regresyon modelinin anlamlılığının testi için kullanılan H₀ ve H₁ hipotezleri;

- H₀: teorik model anlamsızdır (tüm katsayılar sıfıra eşittir)

- H₁: teorik model anlamlıdır (en az bir katsayı sıfırdan farklıdır)

şeklinde oluşturulmuştur. Modelin geçerli olabilmesi için H₀ hipotezinin ret edilmesi gerekir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmaya ait tanımlayıcı istatistikler

Erzurum ilinde 400 tüketiciyle yapılan anketlere cevap verenlerin %44.25’i erkek, %55.75’i kadın olup yaş ortalaması erkeklerde 41, kadınlarda 37, ortalama olarak ise 39 tespit edilmiştir.

Niyaz ve Demirbaş (2017), Çanakkale ilinde yaptıkları çalışmada tüketicilerin %52.00’sinin kadın ve %48.00’inin de erkek olduğunu belirtmişlerdir. Bölüktepe ve Yılmaz (2008), çalışmalarında tüketicilerin %54.00’ünün kadın, %46.00’sinin ise erkek olduğunu tespit etmişlerdir. Vanyi ve Csabo (2009) çalışmalarında tüketicilerin %59.90’ının kadınlardan, %40.10’unun erkeklerden oluştuğunu belirtmişlerdir. Saner ve ark. (2011) çalışmalarında yer alan kadınların ve erkeklerin yaş ortalamasının 41 olduğunu belirtmişlerdir.

Ankete cevap veren tüketicilerin %67.50’sinin evli, %30.25’inin bekar olduğu belirlenmiştir.

Sayılı (2013) çalışmasında ankete katılan tüketicilerin %79,78’inin evli olduğunu belirtmiştir.

Ankete cevap veren tüketicilerin %1.50’si okur-yazar, %65.50’si orta öğretim ve %33.00’inin ise yükseköğretim mezunu oldukları belirlenmiştir.

Kumova ve Korkmaz (2000), yaptıkları çalışmalarında ankete katılan tüketicilerin eğitim düzeylerinin %38.88’inin lise, %36.72’sinin yüksekokul, %16.67’sinin ilkokul, %7.48’inin ortaokul ve %0.25’inin ise sadece okuryazar olduğunu belirtilmiştir.

Tüketicilerin sosyal güvence durumlarına bakıldığında, %2.50’sinin sosyal güvencesinin olmadığı ve sosyal güvencesi olan %97.50’lik dilimde yer alan tüketicilerin %1.00’inin ise yeşil kartlı olduğu belirlenmiştir.

Baki ve ark. (2017) çalışmalarında tüketicilerin %97.50’sinin sosyal güvenceye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Tüketicilerin %53.00'nün kendi evinde, %23.50'sinin ailesine ait evde ve %23.50'sinin kirada ikamet ettiği belirlenmiştir. Tüketicilerin %88.50'sinin apartmanda ve %11.50'sinin müstakil evde ikamet ettiği belirtilmiştir.

Tüketicilerin 1 ile 80 yıl arasında ortalama olarak 30 yıl Erzurum'da ikamet ettikleri belirlenmiştir. Tüketicilerin %64.00'ü Erzurum'dan başka bir yerde ikamet etmediğini, %36.00'si ise Erzurum'dan daha önce başka yerlerde ikamet ettiklerini beyan etmişlerdir. Başka yerlerde ikamet edilen illerin başında Adana, Ankara, Bayburt, Bursa, Erzincan, İstanbul ve Trabzon gelmektedir.

Gıda alışverişini evde ağırlıklı olarak %51.75'lik oranla aile reisinin yaptığı, %48.15'lik oranla da tüm ailenin hep birlikte yaptığı belirtilmiştir.

Çizelge 1. Gelir ve harcamalar ile ilgili deskriptif analiz sonuçları

	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart sapma
Gelir(₺ ay⁻¹)	1 250	9 750	3 915	1 277.75
Harcama(₺ ay⁻¹)	1 000	8 500	2 761	1 142.36
- Gıda Harcaması	200	1 500	649	223.24
- Giyim Harcaması	50	1 000	315	199.57
- Sağlık Harcaması	0	500	89	52.66
- Barınma Harcaması	0	1 100	156	298.32
- Sigorta Harcaması	0	1 000	108	142.39
- Ulaşım Harcaması	50	1 000	289	143.84
- Eğlence Harcaması	0	2 500	198	188.88
- Diğer Harcamalar	250	3 800	957	471.02

Kaynak: Orijinal Hesaplamalar

Tüketicilerin aylık gelirler ortalaması 3 915 ₺, aylık harcama ortalaması ise 2 761 ₺ olarak hesaplanmıştır. Tüketicilerin aylık ortalama gıda harcaması 649 ₺ ile ilk sırada gelmekte olup toplam harcama içindeki payının %23.51 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Sayı (2013) çalışmasında aylık gıda harcamalarının 430.79 ₺, gıda harcamasının toplam harcama içindeki payının ise %35.70 olduğunu tespit etmiştir.

Çizelge 2. Tüketicilerin ürün bazında gıda harcama sırası

Tüketim Sırası	Ürün Grubu	Tüketim Sırası	Ürün Grubu
1	Ekmek ve Tahıllar	7	Bal ve Arı Ürünleri
2	Et ve Et Ürünleri	8	Şeker
3	Süt, Peynir ve Yumurta	9	Reçel, Çikolata ve Şekerleme
4	Sebze ve Meyveler	10	Balık
5	Hayvansal ve Bitkisel Yağlar	11	Alkolsüz içecekler
6	Kahve ve Çay		

Kaynak: Orijinal Hesaplamalar

Tüketicilerin gıda ürünlerine yaptıkları harcamalar detaylı şekilde incelendiğinde, ekmek ve tahıllar grubunun ilk sırada yer aldığı görülmektedir. Bu grubu et ve et ürünleri takip ederken üçüncü sırada ise süt, peynir ve yumurta yer almaktadır. Bal ve arı ürünleri tüketimi ise gıda ürünlerine yapılan harcamalar içerisinde yedinci sırada yer almaktadır (Çizelge 2).

Tüketicilerin %33.00'ü sadece kahvaltılık amacıyla balı tüketmektedir. Tüketicilerin %62.50'si balı sağlık için ve %4.50'si de çocukların zihinsel ve bedensel gelişiminde kullanmaktadır. Tüketiciler öncelikli olarak balı bağışıklık sistemini güçlendirici ve direnç artırıcı olarak tercih etmektedirler. Bal, Erzurum ilinde kış aylarında havanın soğuk olması nedeniyle, hastalıklara karşı vücut savunmasını artırdığından dolayı tercih edilmektedir.

Soylu ve Silici (2018) çalışmalarında tüketicilerin %54.80 ile besleyici olduğu, %19.30 ile sağlığı koruduğu ve %18.10 ile tatlı bir besin olduğu için balı tercih ettiklerini tespit etmiştir.

Tüketicilerin polen, arı sütü, bal mumu, arı zehri ve propolisi sırasıyla %46.75, %67.50, %69.75, %87.00 ve %81.30 oranında tanımadıkları belirlenmiştir.

Bölüktepe ve Yılmaz (2008) çalışmalarında polen, arı sütü, balmumu, arı zehri ve propolisin tanıma düzeylerini sırasıyla %61.10, %52.80, %46.40, %16.30 ve %8.90 olarak tespit etmiştir. Niyaz ve Demirtaş (2017) çalışmalarındaki tüketicilerin polen, arı sütü, balmumu, propolis ve arı zehrini sırasıyla %69.00, %50.00, %58.00, %21.70 ve %27.40 oranında bildiğini tespit etmiştir. Tunca ve ark. (2015), tüketicilerin propolis, polen, arı zehri ve arı sütü hakkında tanıma düzeylerini sırasıyla %28.20, %22.90, %43.20 ve %23.30 olarak belirlemiştir.

Çizelge 3. Süzme bal tercih nedenleri

	N	%
Tüketenler	338	84.50
Tüketimi kolay	148	43.79
Diğer ürünlerle karıştırılması	54	15.98
Tadının sevilmesi	31	9.17
Çocuklarının tüketimine uygun	23	6.80
Saf oluşu	18	5.32
Firesiz, tamamı kullanılabilir	17	5.03
Temini kolay	14	4.14
Balmumu tadının sevilmemesi	13	3.85
Yapay mum içermemesi	7	2.07
Daha faydalı ve sağlıklı olması	6	1.78
Akışkanlık	4	1.18
Fiyat uygunluğu	3	0.89
Tüketmeyenler	62	15.50
Toplam	400	100.00

Kaynak: Orijinal Hesaplamalar

Tüketiciler %84.50 oranında süzme balı tercih ettikleri, bunun en önemli nedenini ise tüketiminin kolay olması (%43.79) olarak belirtmişlerdir (Çizelge 3).

Çizelge 4. Petek balının tercih nedeni

	N	%
Tüketenler	219	54.75
Daha faydalı ve sağlıklı	83	37.90
Tadının sevilmesi	58	26.48
Mumsu yapının sevilmesi	43	19.63
Hile yapılma olasılığı düşük	17	7.76
Daha şifalı	13	5.94
Polen tadının sevilmesi	5	2.28
Tüketmeyenler	181	45.25
Toplam	400	100.00

Kaynak: Orijinal Hesaplamalar

Tüketiciler %54.75 oranında petek balı tercih etmekte, bunun en önemli nedenini ise daha faydalı ve sağlıklı olması (%37.90) olarak belirtmişlerdir (Çizelge 4). Genel olarak petek balı tüketme sebeplerine bakıldığında, seçeneklerin birbiriyle ilişkili oldukları görülmektedir. Petek balı tercih eden tüketicilerin, süzme balın petek bala göre daha doğal, hilesiz olduğunu düşünmesiyle birlikte alışkanlıklarının ve damak tadının ön plana çıktığı görülmektedir.

Niyaz ve Demirtaş (2017) çalışmalarında süzme balın petek bala göre daha çok tercih edildiğini belirtmişlerdir. Sayılı (2013) çalışmasında Tokat ilindeki tüketicilerin %86.76'sının süzme bal tükettiğini tespit etmiştir.

Çizelge 5. Arı ürünleri tüketim sıklığı ve miktarı

		Süzme Bal		Petekli Bal		Polen		Arı Sütü	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Tüketen Aile Sayısı		338	84.50	219	54.75	123	30.75	65	16.25
Tüketim Sıklığı	Her gün	211	62.43	105	47.95	13	10.57	3	4.62
	Haftada bir	91	26.92	64	29.22	16	13.01	3	4.62
	Ayda bir	31	9.17	36	16.44	70	56.91	37	56.92
	Yılda bir	5	1.48	14	6.39	24	19.51	22	33.84
	Toplam	338	100.00	219	100.00	123	100.00	65	100.00
Tüketen Aile Sayısı		338	84.50	219	54.75	123	30.75	65	16.25
Yıllık Tüketim Miktarı (kg yıl ⁻¹)	≤5	166	49.11	122	55.71	123	100.00	65	100.00
	6-10	123	36.39	70	31.96	0	0.00	0	0.00
	≥11	49	14.50	27	12.33	0	0.00	0	0.00
	Toplam	338	100.00	219	100.00	123	100.00	66	100.00

Kaynak: Orijinal Hesaplamalar

Çizelge 5 incelendiğinde, süzme bal tüketenlerin (%84.50) yarısından fazlası her gün (%62.43), petek bal tüketenlerin (%54.75) yaklaşık yarısı her gün (%47.95), polen ve arı sütü tüketen tüketicilerin çoğunluğu ayda bir kez ilgili arı ürününü tüketmektedir. Yıllık 5.00 kg ve daha az süzme bal tüketenlerin oranı %49.11, petek bal tüketenlerin oranı %55.71, polen ve arı sütü tüketenlerin oranı %100.00'dır (Çizelge 5).

Schneider *et al.* (2007), Almanya'daki tüketicilerin kişi başına yıllık bal tüketimlerini 1.30 kg olduğunu belirtmişlerdir. Pocol and Bolboaca (2013), Romanya'daki tüketicilerin kişi başına bal tüketim miktarlarını yıllık ortalama 3.00 kg olarak tespit etmişlerdir. Ferencz and Notari (2008), Macaristan'daki tüketicilerin %35.60'nin haftada bir kez bal, %23.60'nin ise her gün bal tükettiğini tespit etmişlerdir. Kabakçı (2011) Erzurum ilinde tüketicilerin büyük kısmının her gün ve yılda toplam 5.00 kg bal tükettiklerini belirtmiştir.

Tüketicilerin %47.25'i şekerli bal hakkında yanlış bilgiye sahip iken %41.25'inin fikir sahibi olmadığı, yalnızca %11.50'sinin şekerli bal hakkında doğru bilgiye sahip olduğu belirlenmiştir. Yine tüketicilerin %80.75'inin organik balın tanımını yanlış bildiği, %11.75'nin herhangi fikrinin olmadığı ve yalnızca %7.50'sinin organik balın tanımını doğru bildiği tespit edilmiştir.

Anket yapılan tüketiciler süzme balın piyasaya fiyatını 10 - 100 ₺ kg⁻¹ arasında ortalama 34.45 ₺ kg⁻¹ olmasını, petek balın piyasaya fiyatının ise 10 - 110 ₺ kg⁻¹ arasında ortalama 36.60 ₺ kg⁻¹ olmasını beklemektedirler.

Tüketicilerin %52.75'i süzme balın fiyatını normal bulurken, %33.75'i pahalı, %12.75'i çok pahalı ve %0.75'i ucuz bulmaktadır. Piyasadaki petek bal fiyatlarını tüketicilerin %52.25'i normal, %32.75'i pahalı, %14.25'i çok pahalı ve %0.75'i ucuz bulmaktadır.

Kabakçı (2011) çalışmasında Erzurum piyasasındaki bal fiyatını tüketicilerin %52.30'u normal bulurken, %32.30'u ise fiyatları pahalı bulmuştur. Her iki çalışmada da tüketicilerin yarısı bal fiyatlarını normal seviyede bulmuştur.

Tüketicilerin bal üreten akraba veya tanıdıklarının olup olmadığı sorusuna, tüketicilerin %66.00'si evet, %34.00'ü ise hayır demiştir.

Çizelge 6. Ankete cevap verenlerin arı ürünlerini satın aldıkları yerler*

	Süzme Bal		Petek Bal		Polen		Arı Sütü	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Tanıdık Arıcılar	122	30.50	110	27.50	14	3.50	8	2.00
Süpermarket	106	26.50	38	9.50	29	7.25	17	4.25
Arıcılar	85	21.25	54	13.50	9	2.25	3	0.75
Satış Merkezi	82	20.50	59	14.75	48	12.00	22	5.50
Market	52	13.00	17	4.25	7	1.75	2	0.50
Üniversite	42	10.50	23	5.75	6	1.50	0	0
Kooperatif	2	0.50	2	0.50	1	0.25	1	0.25
Eczane	0	0	0	0	14	3.50	15	3.75

*Tüketiciler birden fazla cevap vermiştir.

Tüketiciler süzme ve petek bal satın alırken, öncelikle güvendikleri tanıdık arıcıları tercih etmektedir. Süzme bal marka, promosyon ve fiyat uygunluğu nedeniyle süpermarketlerden de alınmaktadır. Tüketiciler polen ve arı sütünü daha çok satış merkezleri ve süpermarketlerden temin etmektedirler (Çizelge 6).

Kumova ve Korkmaz (2000) çalışmalarında tüketicilerin %49.00'unun balı arı yetiştiricisinden, %45.00'inin de marketlerden temin ettiğini belirlemişlerdir. Sayılı (2013) çalışmasında bal ve arı ürünlerinin en fazla arıcılardan ve süpermarketlerden alındığını belirtmiştir. Merdan ve Durmuş (2018) yayınlarında tüketicilerin bal satın alırken ürünün markasına dikkat edildiğini tespit etmişlerdir. Tüketiciler arı ürünlerini tanıdık arıcılardan ve arı yetiştiricilerinden satın almaktadır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, tüketiciler balı öncelikle daha güvenilir olduğunu düşündükleri için arıcılardan almayı tercih etmektedirler.

Çizelge 7. Bal ve arı ürünleri satın alımını etkileyen faktörler

	Önem Durumu (%)					Ort.
	1	2	3	4	5	
Fiyat	3.25	10.50	1.50	47.75	37.00	4.05
Kalite	0.00	0.00	0.50	24.00	75.50	4.75
Kalite-Fiyat Düzeyi	0.25	0.50	4.75	37.25	57.25	4.51
Kokusu	0.25	2.50	9.75	39.00	48.50	4.33
Tadı	0.00	0.25	1.50	27.25	71.00	4.69
Görünüşü/Rengi	0.25	2.00	4.50	36.25	57.00	4.48
Katkı Maddesi içermesi	0.00	0.75	3.25	29.25	66.75	4.62
Çeşit	3.50	9.00	14.25	35.25	38.00	3.95
Üretilen Firma Adı/Markası	5.00	18.50	14.75	34.75	27.00	3.60
Doğal/Ekolojik Olması	0.00	0.75	4.25	39.50	55.50	4.50
Sağlık Açısından Güvencibilme	0.00	0.00	1.50	31.25	67.25	4.66
Promosyon/Fiyat İndirimini Kapsaması	10.25	20.50	18.75	33.75	16.75	3.26
Ambalaj Durumu	1.75	13.00	8.25	43.50	33.50	3.94
Arının Bal Yaptığı Yer	4.50	13.00	19.75	29.00	33.75	3.75
Son Kullanma Tarihi	3.00	14.50	17.50	24.00	41.00	3.86
Reklamın Etkisi	19.75	19.75	25.75	22.75	12.00	2.88
Ürünle İlgili Deneyim ve Tecrübeler	0.75	3.00	8.50	40.25	47.50	4.31
Nektar Durumu	0.75	6.25	31.00	34.50	27.50	3.82
Balın Kristalleşme Durumu	1.75	3.50	23.00	33.50	38.25	4.03

Kaynak: Orijinal Hesaplamalar;

1 = Hiç önemli değil, 2 = Önemsiz, 3 = Fikrim yok, 4 = Önemli, 5 = Çok Önemli

Tüketicilerin bal ve arı ürünleri satın alma kararında en etkili olan kriterler; kalitesi, tadı, sağlık açısından güvenilirliği, katkı maddesi içerip içermediği ve üretim yapan firma adı/markasıdır. Bal ve arı ürünleri satın almada en az etkili olan faktörün ise reklam olduğu görülmektedir (Çizelge 7).

Vanyi *et al.* (2009) çalışmalarında bal satın alırken dikkat edilen en önemli kriterleri kalite, fiyat, balın türü ve ambalaj kalitesi olarak belirlemişlerdir. Arvane *et al.* (2010) çalışmalarında tüketicilerin bal satın alırken en fazla dikkat ettikleri hususların balın tadı, rengi ve kalitesi olduğu, en az dikkat ettikleri hususların ise ambalajın kalitesi boyutu ve üreticinin adı olduğunu belirlemişlerdir. Soylu ve Silici (2018) üniversite öğrencilerinin bal satın alırken üretim tarihine, kıvamına ve markasına dikkat ettiklerini belirlemişlerdir.

Literatürde yer alan çalışmalarda, tüketicilerin bal satın alırken en fazla dikkat ettikleri kriterin ürünün kalitesi olduğu görülmektedir. Diğer çalışmadan farklı olarak sağlık açısından güvenilirliği ve katkı maddesi içermemesine bu çalışma sonuçlarına göre daha çok önem verildiği görülmektedir.

Regresyon Analizi Sonuçları

Model sonucuna göre bal tüketimi, aile reisinin eğitim düzeyi, ailedeki çocuk sayısı, bal üreten tanıdık ve akrabaların olması, gelir seviyesi, bal ve arı ürünlerine yapılan harcamadan etkilenmektedir. Tüketicilerin eğitim seviyesi arttığında bal tüketme olasılığı da artmaktadır. Bir üst eğitim seviyesinden mezun olunması durumunda bal tüketme olasılığı artmaktadır. Ailedeki çocuk sayısı arttıkça bal tüketimi artmaktadır. Gelirin artması bal tüketim talebini de pozitif yönde artırmaktadır. Süzme bal ve petek bal tüketim sıklığı da bal tüketim miktarını pozitif yönde etkilemektedir. Bal'a ikame olabilecek ürünlerin artışı veya azalışı bal tüketimini etkilememektedir.

Çizelge 8. Tüketicilerin bal tüketim miktarını etkileyen faktörler

Model	Standartlaştırılmamış Katsayılar		Standartlaştırılmış Katsayılar		
	β	St. Hata	β'	t	p
Sabit	-14.438	1.554		-9.289	0.000
Aile Reisinin Cinsiyeti	0.078	0.826	0.002	0.095	0.924
Aile Reisinin Yaşı	0.013	0.012	0.023	1.100	0.272
Aile Reisinin Eğitimi	0.398	0.181	0.049	2.202	0.028
Ailedeki Çocuk Sayısı	0.414	0.111	0.080	3.717	0.000
Bal Üreten Akraba ve Tanıdık	2.496	0.280	0.193	8.909	0.000
Gelir	0.004	0.000	0.832	30.425	0.000
Şeker Harcaması	-0.006	0.014	-0.010	-0.444	0.658
Reçel, Çikolata, Şekerleme Harc.	0.005	0.007	0.013	0.608	0.543
Süzme Bal Tüketim Sıklığı	0.465	0.108	0.109	4.302	0.000
Petek Bal Tüketim Sıklığı	0.559	0.093	0.158	6.015	0.000
Organik Bal Tüketme Durumu	0.420	0.260	0.034	1.613	0.108
Reklamın Etkisi	0.026	0.096	0.006	0.271	0.786

$$R^2 = 0.848$$

$$F = 180.617 \quad p = 0.000$$

Kaynak: Orijinal Hesaplamalar

Modelin geneline bakıldığında R^2 değeri 0.848 düzeyindedir. Bağımlı değişkende (bal tüketim miktarı) meydana gelen değişimin %84.80'i modelde yer alan bağımsız değişkenler tarafından açıklanabilmektedir. Varyans analizi sonuçlarına göre oluşturulan model anlamlıdır (Çizelge 8).

Oluşturulan regresyon modeline ait F değeri 180.617 ve p olasılık değeri 0.000 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 8). Hesaplanan p değerinin, anlamlılık düzeyinden (0.05) küçük olması

nedeniyle “ H_0 : teorik model anlamsızdır (tüm katsayılar sıfıra eşittir)” hipotezi kabul edilememiştir. Bu durumda modelin anlamlı bulunduğu söylenebilir.

Çalışma kapsamında oluşturulan modelde aile reisinin eğitimi için hesaplanan olasılık değeri önem derecesinden küçük olduğu için ($p=0.028$) katsayısı anlamlı bulunmuştur (Çizelge 8). Aile reisinin eğitimi bal tüketim miktarını etkilemektedir. Katsayı değeri pozitif olduğu için ($\beta=0.398$) eğitim düzeyi arttıkça tüketimin de arttığı söylenebilir.

Ailedeki çocuk sayısı için hesaplanan olasılık değeri önem derecesinden küçük olduğu için ($p=0.000$) katsayısı anlamlı bulunmuştur. Ailedeki çocuk sayısı bal tüketim miktarını etkilemektedir. Katsayı değeri pozitif olduğu için ($\beta=0.414$) çocuk sayısı arttıkça tüketimin de arttığı söylenebilir.

Bal üreten akraba veya tanıdık olup olmaması için hesaplanan olasılık değeri önem derecesinden küçük olduğu için ($p=0.000$) katsayısı anlamlı bulunmuştur. Köyde akraba veya tanıdık olup olmaması bal tüketim miktarını etkilemektedir. Katsayı değeri pozitif olduğu için ($\beta=2.496$) köyde akraba veya tanıdık olması durumunda tüketimin arttığı söylenebilir.

Gelir seviyesi için hesaplanan olasılık değeri önem derecesinden küçük olduğu için ($p=0.000$) katsayısı anlamlı bulunmuştur. Gelir seviyesi bal tüketim miktarını etkilemektedir. Katsayı değeri pozitif olduğu için ($\beta=0.004$) gelir seviyesi arttıkça tüketimin de arttığı söylenebilir.

Süzme bal ve petek bal tüketim sıklığı için hesaplanan olasılık değerleri önem derecesinden küçük olduğu için ($p=0.000$) katsayıları anlamlı bulunmuştur. Süzme bal ve petek bal tüketim sıklığı bal tüketim miktarını etkilemektedir. Katsayı değerleri pozitif olduğu için ($\beta_{\text{süzme}}=0.465$ ve $\beta_{\text{petek}}=0.559$) süzme ve petek bal tüketim sıklığı arttıkça toplam bal tüketiminin de arttığı söylenebilir.

Aile reisinin cinsiyeti, aile reisinin yaşı, şeker harcaması, reçel, çikolata, şekerleme harcaması, organik bal tüketim durumu ve reklamın etkisi için hesaplanan olasılık değerleri önem derecesinden büyük olduğu için ($p>0.05$) katsayıları sıfıra eşit ($\beta=0$) ve anlamsız bulunmuştur.

Şahinler ve ark. (2004) çalışmalarında her türlü gelir düzeyine sahip olan tüketicilerin arı ürünleri tükettiklerini, fakat tüketicilerin gelir seviyesi arttıkça tükettikleri arı ürünü çeşidi arttığını ve tüketicilerin yaşı, gelir düzeyi ve eğitim seviyesinin arı ürünlerine karşı olan tüketim eğilimlerini etkilediğini belirlemişlerdir. Pocol and Mărghitaş (2007) Romanya’daki tüketicilerin bal tüketiminin gelir ve eğitim seviyesi yükseldikçe arttığını bulmuşlardır. Tunca ve ark. (2015) çalışmalarında bal tüketimini bireyin yaşı, geliri, eğitim seviyesi, balı nereden aldığı, marka tercihi, bal tipi (petek ve süzme), reklamlardan etkilenmesi ve bal reklamlarını inandırıcı bulma değişkenlerini anlamlı bulmuşlardır.

SONUÇ

Bal her toplumda ve kültürde değişik anlamlara sahip olduğundan dolayı, tüketim tercihleri değişmektedir. Her toplumunun kendine özgü beslenme alışkanlarının olması da bal tüketimin tercihlerini etkilemektedir.

Sonuç olarak, bal ve arı ürünlerinin tüketimini artırmak için arı ürünlerinin üretim miktarının artırılması, tüketicilerin bilgilendirilmesi, bal ve arı ürünleri hakkında daha fazla tanıtımın yapılması, özellikle de arı ürünlerinin sağlık alanındaki faydalarından bahsedilmesi gerekmektedir. Ayrıca tüketicilerin organik, şekerli ve sertifikalı bal tüketme isteklerine karşılık verilerek üreticinin daha fazla kazanması ve tüketicinin daha güvenilir ve sağlıklı ürünler tüketmesi de sağlanabilecektir.

İç tüketimin teşvik edilmesiyle yerel arıcılık sektöründe canlanmalar görülebileceği, ayrıca tüketicilerin sağlıklı bir yaşam için bal tüketiminin önemi hakkında eğitilmesinin de bal tüketim miktarının artışına katkıda bulunacağı önerilmiştir. Pazarlama stratejilerini geliştirebilmek için, bal tüketiminin kalite ve nicelik göstergeleri hakkında gerekli bilgiye sahip olunması gerekmektedir.

Tüketicilerin bal satın alırken, öncelikle güvendikleri tanıdık arıcıları tercih etmesinin altında yatan neden güven duygusudur. Başarılı olabilmek için kalitenin yanında markalaşma da önem arz etmektedir. Rekabetin oldukça yoğun olduğu günümüzde, tüketici güvenini kazanan markalar ancak başarılı olabilir ve üretimde sürekliliği sağlayabilir. Küçük ölçekli üreticilerin öncelikle yerel pazarda markalaşmaya gitmesi sürdürülebilirliği sağlayacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler

KAYNAKLAR

- Alpar, R., 2013. Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistiksel Yöntemler. Detay Yayıncılık, 886s, Ankara.
- Anonim, 1988. Gıda Maddeleriyle İlgili Tüzük ve Yönetmelik. İstanbul Ticaret Odası, Yayın No: 1988-26, 129s, İstanbul.
- Arvane, G.V., Csapo, Z. and Karpati, L., 2010. Honey Consumption in Europe with Especial Regard to Hungary. 45th Croatian & 5th International Symposium on Agriculture, Croatia.
- Baki, F., Saner, G., Adanacioğlu, H. ve Güler, D., 2017. Türkiye’de Süzme Çam Balına Yönelik Tüketici Tercihlerinin Konjoint Analizi: İzmir İli Örneği. International Balkan and Near Eastern Social Sciences Congress Series IV. IBANESS Congress Series-Russe / Bulgaria, Bulgaria.
- Bölüktepe, F.E. ve Yılmaz, S., 2008. Arı Ürünlerinin Bilinirliği ve Satın Alınma Sıklığı. Uludağ Arıcılık Dergisi -Mayıs 2008, 8(2): 53-62.
- Daniel, W.W., 1999. Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences. 7th Edition. New York: John Wiley&Sons.
- FAO, 2019. Hayvansal Üretim İstatistikleri. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QP> (31.05.2019).
- Ferencz Á. and Notari M., 2008. Economic and Marketing Analysis of Hungarian Honey Especially for the Traditional Products. Journal of Engineering, Annals of Faculty of Engineering Hunedoara, 6(1): 101-104.
- Kabakçı, D., 2011. Erzurum Piyasasında Bal Pazarlama Sorunları ve Bal Tüketim Alışkanlıkları. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Erzurum.
- Karakaya, E. ve Kızıloğlu, S., 2015. Bingöl İli Bal Üretimi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 5(2): 25-31.
- Kavas, A., 1987. Gıda Seçimi ve Tüketimi: Davranışsal Yaklaşım. Gıda Sanayi, 1(2): 18-22.
- Kekeçoğlu, M., 2009. Bal Arısı, Biyoçeşitlilik ve Koruma Çalışmaları. Arıcılık Araştırma Dergisi, Aralık 2009, 1(2): 3-5.
- Kumova, U. ve Korkmaz, A., 1998. Çukurova Bölgesi Koşullarında Yetiştirilen Arıotu Bitkisinin Bal Arıları için Önemi. Tigem, 12: 68, 28-31.
- Kumova, U. ve Korkmaz, A., 2000. Arı Ürünleri Tüketim Davranışları Üzerine Bir Araştırma. Türkiye’de Arıcılık Sorunları ve I. Ulusal Arıcılık Sempozyumu (28-30 Eylül 1999), 129-142, Erzincan.
- Kuvancı, A., Yılmaz, Ö., Yılmaz, F. ve Kayaboyun, Ü., 2013. Erzurum Aşkale İlçesi Güllüdere Köyü İle Sivas Ulaş Tarım İşletmesinden Üretilen Balların Yapısal Özellikleri. Arıcılık Araştırma Dergisi, 5(10): 29-31.
- Merdan, K. ve Durmuş, İ., 2018. Bayburt Ölçeğinin Arı Ürünleri Tüketim Tercihlerini Etkileyen Faktörler Üzerine bir Değerlendirme. Social Sciences Studies Journal, 4(16): 1101-1112.
- Mutlu, F., Topçu, T., Yılmaz, D. ve Tutkun, E., 1994. Türkiye’de Arı Sağlığı ve Ziraat Mühendisleri Odasının Görüşleri. Türkiye II. Teknik Arıcılık Kongresi (8-9 Şubat 1994), 119-124s, Ankara.
- Niyaz, Ö.C. ve Demirtaş, N., 2017. Arı Ürünlerinin Genel Özellikleri ve Tüketim Tercihleri: Çanakkale İli Örneği. Tarım Ekonomisi Dergisi, 23(2): 255-262.
- Palmer, M.R., Smith, D.R. and Kaftanoğlu, O., 2000. Turkish Honeybees: Genetic Variation and Evidence for a Fourth Lineage of Apis Mellifera mtDNA. The Journal of Heredity, 91(1): 42-66.

- Pocol, B.C. and Mărghitaş, L.A., 2007. Market Study About Honey Consumption in Romania. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, 64(1-2): 398-401.
- Samancı, T. ve Sunay, A.E., 2011. Arı Ürünlerinin Fonksiyonel Özellikleri ve Apiterapi Uygulamaları. 7. Gıda Mühendisliği Kongresi (24-26 Kasım 2011), 177-178s, Ankara.
- Saner, G., Yücel, B., Yercan, M., Karaturhan, B., Engindeniz, S., Çukur, F. ve Kösoğlu, M., 2011. Organik ve Konvansiyonel Bal üretiminin Teknik ve Ekonomik Yönden Geliştirilmesi ve Alternatif Pazar Olanaklarının Saptanması Üzerine bir Araştırma: İzmir ili Kemalpaşa İlçesi Örneği. TEPGE (Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü) Yayın No:195, 173, Ankara.
- Saral, Ö., 2013. Apiterapik Arı Ürünlerinin (Bal, Polen, Propolis ve Arı Sütü) Biyoaktif Özellikleri ve Karaciğer Hasarını Önlemedeki Rollerini. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Sayılı, M., 2013. Tokat İlinde Tüketicilerin Arı Ürünleri Tüketim Durumları ve Alışkanlıkları. Uludağ Arıcılık Dergisi-Şubat 2013, 13(1): 16-22.
- Schneider, K., Forchmann, K., Friedrichs, K., Haas, E. M., Interthal, M., Jänicke, K., Kühn, T., Mergler, B., Mertens, E., Raehse, J., Schrüffer, Y., Seelinger, N., Sölch, K., Weißenborn, C. and Hoffmann, I., 2007. Honey Consumption in Germany – Factors of Influence and Effects in Their İnterlinkage. Apidologie, 38(5): 497.
- Sezgin, A. ve Kara, M., 2011. Arıcılıkta Verim Artışı Üzerinde Etkili Olan Faktörlerin Belirlenmesine Yönelik bir Araştırma: TRA2 Bölgesi Örneği. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 15(4): 31-38.
- Sıralı, R., 2009. Türkiye'nin Önemli Bal Üretim Bölgeleri. Arıcılık Araştırma Dergisi, 1(1):16-21.
- Sorkun, K., 1994. Türkiye'nin Önemli Nektar Kaynağı Olan Kültür Bitkileri ve Bal Potansiyelleri. Türkiye II. Teknik Arıcılık Kongresi (8-9 Şubat 1994), 134-145s, Ankara.
- Soylu, M. ve Silici, S., 2018. Üniversite Öğrencilerinin Bal Tüketim Tercihleri. Journal of Human Sciences, 15(1), 386-398. doi:10.14687/jhs.v15i1.5255.
- Şahinler, N., Şahinler, S., Gül, A. ve Görgülü, Ö., 2004. Arı Ürünleri Tüketici Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. 4. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, 1-3 Eylül 2004, Isparta.
- Şerefioğlu, H. ve Canverdi, N.A., 2011. Ana Arı Yetiştiriciliğinin Önemi ve Ana Arının Kalitesine Etki Eden Faktörler. Arıcılık Araştırma Dergisi, 3(6): 20-22.
- Tunca, R.İ., Taşkın, A. ve Karadavut, U., 2015. Türkiye'de Arı Ürünlerinin Bazı İllerdeki Tüketim Alışkanlıklarının ve Farkındalık Düzeylerinin Belirlenmesi. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(7): 556-561.
- TÜİK, 2019. Hayvansal Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101> (31.05.2019).
- Ulusoy, E., 2012. Bal ve Apiterapi. Uludağ Arıcılık Dergisi -Ağustos 2012, 12(3): 89-97.
- Uygur, Ş.Ö., 2010. Polen ve Propolis Üretimi. Arıcılık Araştırma Dergisi –Aralık 2010, 2(4): 24-27.
- Vanyi, G.A. and Csabo Z., 2009. Evaluation of Honey Consumption in the Main Cities of the North-Great Plain Region. 4th Aspects and Vision of Applied Economics and Informatics, 510-515 p.
- Vanyi, G.A., Csabo Z. and Karpati L., 2009. Evaluation of consumers' honey purchase habits in Hungary. 113th EAAE Seminar "A resilient European food industry and food chain in a challenging world", Chain, Crete, Greece.
- Yaşar, N., 2009. Türkiye'de Arıcılığın Gelişimi ve Kalkındırma Çabaları. Arıcılık Araştırma Dergisi –Aralık 2009, 1: 28-33.
- Yılmaz, H., 1994. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi Ballarının Kimyasal Bileşimlerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Atf İçin: Bayramoğlu Z, Ağızan K, Ağızan S, 2021. Kamu Desteklerinin Tarımsal Ürün Piyasalarına Bozucu Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3184-3194.

To Cite: Bayramoğlu Z, Ağızan K, Ağızan S, 2021. Dissolving Effect of Public Support on Agricultural Product Markets. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3184-3194.

Kamu Desteklerinin Tarımsal Ürün Piyasalarına Bozucu Etkisi

Zeki BAYRAMOĞLU¹, Kemalettin AĞIZAN^{2*}, Süheyla AĞIZAN³

ÖZET: Tarım sektöründeki uzun dönemli dalgalanmalar kamu desteklemeleriyle düzenlenmeye çalışılmış olup bu desteklemelerin uzun dönem etkileri göz ardı edildiğinden dolayı toplum ve ekonomi üzerinde bozucu etkileri olmuştur. Nitekim son 30 yılda kamu tarafından verilen bitkisel ve hayvansal üretim desteklerinin artarak devam etmesine rağmen tarım sektöründe gıda güvenliğinin, üretim planlamasının, işletmelerin rekabet gücünün, sürdürülebilirlik seviyesinin ve verim düzeyinin istenilen seviyede olmadığı en önemli tartışma konusudur. Arzı yetersiz olan ürün üzerinde dolaylı etkileri düşünülmeden verilen kısa dönemli destek politikaları birçok ürünün piyasa dengesini olumsuz etkilediği gibi aynı zamanda istihdama, kalkınmaya, doğal kaynaklara, çevreye ve sosyal gelişime de olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle çalışmanın temel amacı tarımsal desteklerin ürün piyasaları üzerindeki etkisinin araştırılarak tarımsal üretimi ve piyasaları yönlendirici bir faktör olarak destekleme politikaların sektörel ve bölgesel olarak oluşturulmasına yönelik öneriler hazırlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fiyat Dalgalanmaları, Tarımsal Desteklemeler, Piyasalar

Dissolving Effect of Public Support on Agricultural Product Markets

ABSTRACT: Long-term fluctuations in the agricultural sector have been tried to be regulated by public subsidies, and since the long-term effects of these supports are ignored, they have had distorting effects on society and the economy. As a matter of fact, it is the most important debate that food safety, production planning, competitiveness of enterprises, sustainability level and productivity level in the agricultural sector are not at the desired level, even though the plant and animal production supports given by the public continue to increase in the last 30 years. Short-term support policies, which are given without considering the indirect effects on the product with insufficient supply, affect the market balance of many products negatively, as well as negatively affect employment, development, natural resources, environment, and social development. For this reason, the main purpose of the study is to investigate the effect of agricultural supports on product markets and to make recommendations for the formation of sectoral and regional support policies as a guiding factor for agricultural production and markets.

Keywords: Price Fluctuations, Agricultural Supports, Markets

¹Zeki BAYRAMOĞLU ([Orcid ID: 0000-0003-3258-3848](https://orcid.org/0000-0003-3258-3848)), Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Konya, Türkiye

² Kemalettin AĞIZAN ([Orcid ID: 0000-0002-2340-2614](https://orcid.org/0000-0002-2340-2614)), Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Konya, Türkiye

³Süheyla AĞIZAN ([Orcid ID: 0000-0002-9210-1671](https://orcid.org/0000-0002-9210-1671)), Selçuk Üniversitesi, Çumra Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü, Konya, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Kemalettin AĞIZAN, e-mail: agizankemalettin@gmail.com

GİRİŞ

Tarım sektörü karlılığı düşük ancak ekonomi içerisinde önemi büyük bir sektördür. Nitekim insan beslenmesindeki gıdaların hammaddesini üretmesi, birçok tarım dışı sektörün pazarı olması ve hammadde sağlaması ile barındırdığı nüfusa sağladığı istihdam bu önemin bileşenleridir. Tarım sektörünün bu önemi tüm dünya ülkeleri tarafından bilinmekte olup, en önemli politika başlıklarını oluşturmaktadır. Bütün ülkeler barındırdıkları nüfusun beslenmesi açısından gıda güvencesini sağlamak amacıyla tarım politikalarını yönlendirmektedirler. İkinci bir amaç sektörün ülke ekonomisinin bir parçası olması dolayısı ile vereceği ekonomik katkıları artırmaktır. Ancak tarım sektöründeki yüksek risk ve belirsizlikler arz ve talep oluşumundaki dalgalanmalara neden olurken bu riskler genellikle iklimsel, ekonomik, teknik, politik, sosyal ve doğal risklerden oluşmaktadır. Bu riskler sektörde faaliyet gösteren üretici kararını etkilemekte ve ürün bazında arz dengesini bozmaktadır. Bununla birlikte fiyat değişimleri ve tüketici alışkanlıklarındaki değişimler de talebi değiştirmektedir.

Tarımsal üretimde fiyat oluşumu ile üretim kararı arasında zaman farkı bulunmaktadır. Nitekim fiyat hasat zamanı oluşmakta olup, üretim kararından sonra belirlenmektedir. Üretim kararı üretici açısından telafisiz olup, özellikle hasattan sonra fiyat oluşumunda talep tek belirleyici faktördür. Bu durum yıllar itibari ile üretim alanındaki değişmeye bağlı olarak üretim miktarının dalgalanmasına neden olmaktadır. Elbette dengesiz ürün arzı, tarım piyasalarını da olumsuz etkilemektedir. Beklenmedik yüksek fiyatlarla tüketici veya düşük fiyatlarla üretici karşı karşıya kalmaktadır. Uzun dönemli dalgalanmalarda bazı üreticilerin söz konusu ürünlerin üretiminden çekilmesi uzun dönemli arz eksikliği ve beraberinde et üretiminde olduğu gibi ithalatın başlamasına sebep olmaktadır.

Tarım sektöründeki uzun dönemli bu dalgalanmalar kamu politikaları ile düzenlenmeye çalışılmaktadır. Bu düzenlemeler uzun dönemde olası etkileri öngörülmediği durumlarda diğer ürünlerin piyasası üzerinde bozucu etkiler yapabilmektedir. Nitekim son 30 yılda kamu tarafından verilen bitkisel ve hayvansal üretim desteklerinin artarak devam etmesine rağmen tarım sektöründe gıda bölüşümünün, üretim planlamasının, işletmelerin rekabet gücünün, sürdürülebilirlik seviyesinin ve verim düzeyinin istenilen seviyede olmadığı en önemli tartışma konusudur. Arzı yetersiz olan ürün üzerinde yan etkileri düşünülmeden verilen kısa dönemli kamu destekleri birçok ürünün piyasa dengesini olumsuz etkilemektedir. Bunun en önemli sebebi tarım arazilerinin ekilebilir son sınırına ulaşılmış olması ve hayvan varlığındaki nitelik değişimidir.

Bu kapsamda çalışmada tarımsal desteklerin ürün piyasaları üzerindeki etkisi tartışılmıştır. Nitekim tarımsal desteklemeler ile ilgili bugüne kadar özellikle desteklemelerin kırsal kalkınmaya (Kandemir, 2011), tarımsal üretime (Songur, 2015; Ağırbaş ve ark., 2017; Yıldız, 2017; Yılmaz ve Çobanoğlu, 2017), sektöre (Şaşmaz ve Öznur, 2019) ve üretici refahına (Hennessy, 1998; Allanson, 2006; Demirdöğen ve ark., 2016) etkisi gibi konuların yanı sıra üreticilerin bakış açılarını (Erdal ve ark., 2013) ve tarımsal desteklemelerin gelişimini (Sema Ezgi ve ark., 2020) inceleyen çalışmalar da yapılmıştır. Fakat görüleceği üzere tarımsal desteklemelerin çok boyutlu etkisini ölçen çalışma yapılmamıştır. Bu çalışma ile tarımsal desteklemelerin gelişimi incelenmiş, piyasalar üzerindeki etkisi tartışılmış ve desteklemelerin kısa/orta/uzun dönemli hedeflere ulaşmak ve sürdürülebilirliğin sağlanması için öneriler geliştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Üretim Faaliyetlerinde Girdi-Fiyat Paritesi

Türkiye’de 2000’li yıllardan sonra mısır ve yağlık bitkilerde açığı kapatmak için bu ürünlere destek verilmiş ve hayvansal üretime yönelik destekler artırılmıştır. Arz açığı olan ürünlerin artması ile başta tahıl grubu olmak üzere baklagiller, yumru ve kök bitkilerinin ekim alanları daralmıştır (Çizelge

1). Hayvancılık destekleri ile yüksek verimli kültür hayvanlarının toplam hayvan popülasyonu içerisindeki oranı artmıştır. Yerli hayvanlar mera ve diğer alanlarda beslenme kabiliyetine sahip olup, üretime dayalı kaba ve kesif yem tüketimi düşüktür. Yüksek kültür ırkı hayvanların popülasyonunun desteklere bağlı olarak artması sonucunda nitelik ve nicelik açısından kaba yem açığı oluşmuştur. Nitekim bu durum kaba yem üretiminin desteklenmesi sonucunu beraberinde getirmiştir. Bu dönemden sonra başta yem bitkileri olmak üzere kaba yem ihtiyacını karşılamak amacıyla üretim yapılmaya başlanmıştır (Çizelge 1). Tekrar meraların ıslahı gündeme gelmiş ancak meralarımızın kültür ırkı hayvanları besleme potansiyeli düşük olmasından dolayı kaba yem üretiminin en doğru seçenek olduğu belirlenmiştir. Kültür ırkı hayvanların ve buna bağlı kaba yem üretiminin destek planlaması yapılmış, ancak yerli hayvanların beslenme alışkanlıklarının başta İç Anadolu Bölgesi olmak üzere Türkiye ekolojisine ve ekonomisine daha uygun olacağı planlanmamış ve bunun yerine yüksek verimli kültür hayvanları ithal edilerek çoğaltılmıştır. Ekolojiye uygun beslenme potansiyeli olan yerli ırkların ıslahı gündeme gelmemiştir. Ayrıca başta et arzına yönelik küçükbaş hayvan yetiştiriciliğine gereken önem verilmemiştir. Nitekim küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin düşük kapasiteli meralarda beslenme potansiyelinin daha yüksek olduğu bilinmektedir.

Uygulanan bu destekleme politikalarının satın alma gücüne olan etkisini incelediğimizde de benzer sonuçlar görülmekte olup politikaların istenilen sonuçları beraberinde getirmediği görülmektedir. Nitekim Çizelge 2’de tarımsal üretimde en önemli iki girdi olan gübre ve mazot fiyatları ile ürün fiyatları arasındaki değişimin incelenmesi çiftçinin satın alma gücünü değerlendirmek için önemlidir.

Çizelge 1. Ürün gruplarının toplam ekim alanı içerisindeki dağılımı (%)

Yıllar	Tahıllar	Narenciye	Lif Bitkileri	Meyve	Yağlı bitkiler	Bakliyat	Y. ve Kök Bitkiler	Şeker Bitkileri	Sert Kabuklular	Sebzeler
1990	63.28	0.33	2.99	5.66	9.71	10.53	0.89	1.75	2.15	2.72
1991	64.52	0.34	2.79	5.89	8.87	9.98	0.93	1.86	2.06	2.76
1992	64.18	0.35	3.00	6.00	9.20	9.58	0.91	1.85	2.05	2.87
1993	65.27	0.41	2.65	6.01	8.71	9.17	0.89	1.96	2.13	2.81
1994	65.23	0.42	2.71	6.21	8.88	8.72	0.88	1.88	2.15	2.91
1995	63.63	0.44	3.52	6.20	9.73	8.62	0.93	1.45	2.23	3.25
1996	63.91	0.44	3.44	6.08	9.34	8.62	0.97	1.92	2.20	3.08
1997	63.98	0.45	3.35	6.01	9.67	8.08	0.98	2.16	2.23	3.09
1998	64.04	0.45	3.49	6.05	9.77	7.56	0.93	2.31	2.23	3.16
1999	64.27	0.47	3.36	6.17	9.82	7.33	1.03	1.94	2.29	3.33
2000	65.00	0.49	3.13	6.37	9.17	7.21	0.97	1.95	2.35	3.36
2001	64.88	0.50	3.28	6.29	9.25	7.43	0.95	1.70	2.37	3.35
2002	64.49	0.49	3.39	6.25	9.62	7.45	0.93	1.74	2.38	3.26
2003	64.49	0.53	3.08	6.50	9.71	7.28	0.94	1.52	2.56	3.39
2004	65.99	0.53	3.07	6.35	9.34	6.34	0.86	1.51	2.66	3.36
2005	66.75	0.53	2.63	6.43	9.05	6.16	0.74	1.62	2.71	3.38
2006	64.98	0.56	2.95	6.64	10.03	6.24	0.80	1.62	2.82	3.38
2007	64.26	0.59	2.81	6.92	10.27	6.05	0.81	1.58	3.25	3.46
2008	63.25	0.64	2.78	7.40	11.03	5.17	0.84	1.80	3.35	3.74
2009	64.99	0.63	2.28	7.17	10.60	4.91	0.79	1.76	3.30	3.57
2010	64.34	0.63	2.57	7.12	11.17	4.80	0.75	1.76	3.33	3.52
2011	63.82	0.65	2.92	7.24	11.68	4.36	0.77	1.58	3.38	3.60
2012	63.07	0.70	2.73	7.63	11.54	4.78	0.96	1.16	3.57	3.85
2013	63.49	0.70	2.49	7.56	11.49	4.89	0.69	1.61	3.35	3.72
2014	63.60	0.72	2.57	7.62	11.80	4.34	0.71	1.58	3.40	3.67
2015	63.72	0.73	2.37	7.60	11.99	4.04	0.84	1.50	3.46	3.76
2016	61.95	0.74	2.27	7.50	11.96	4.07	0.79	1.76	5.05	3.92
2017	60.32	0.76	2.73	7.41	12.49	4.50	0.78	1.84	5.13	4.04
2018	58.53	0.77	2.79	7.34	12.53	4.94	0.73	1.57	6.88	3.92
2019	57.95	0.94	2.58	7.47	12.59	5.08	0.76	1.67	6.94	4.03

Kaynak: TÜİK (2019)

Çizelge 2. Yıllara göre seçilmiş ürünlerin girdi-fiyat pariteleri

		2002	2005	2010	2015	2016	2017	2018	D. Oranı
Mısır	Fiyat/Gübre	1.18	0.98	0.85	0.70	0.77	0.80	0.70	-40.65
	Fiyat/Mazot	0.23	0.18	0.16	0.17	0.17	0.16	0.15	-36.67
Zeytin	Fiyat/Gübre	5.60	6.10	4.66	3.35	4.36	4.20	4.01	-28.44
	Fiyat/Mazot	1.09	1.11	0.86	0.82	0.98	0.83	0.83	-23.64
Kuru soğan	Fiyat/Gübre	1.18	0.98	1.61	0.71	0.88	0.60	0.78	-33.99
	Fiyat/Mazot	0.23	0.18	0.30	0.17	0.20	0.12	0.16	-29.56
Patates	Fiyat/Gübre	1.25	1.06	1.13	1.20	0.74	0.77	0.85	-31.42
	Fiyat/Mazot	0.24	0.19	0.21	0.29	0.17	0.15	0.18	-26.83
Çeltik	Fiyat/Gübre	2.63	2.04	2.12	1.81	1.77	2.07	1.98	-24.88
	Fiyat/Mazot	0.51	0.37	0.39	0.44	0.40	0.41	0.41	-19.85
Şekerpancarı	Fiyat/Gübre	0.36	0.28	0.21	0.17	0.22	0.21	0.18	-51.79
	Fiyat/Mazot	0.07	0.05	0.04	0.04	0.05	0.04	0.04	-48.56
Ayçiçeği çekirdeği	Fiyat/Gübre	2.00	2.49	2.78	2.06	2.44	2.58	2.27	13.51
	Fiyat/Mazot	0.39	0.45	0.51	0.50	0.55	0.51	0.47	21.12
Çay	Fiyat/Gübre	1.50	1.45	1.61	1.67	2.05	2.15	1.93	28.50
	Fiyat/Mazot	0.29	0.26	0.30	0.41	0.46	0.42	0.40	37.11
Domates	Fiyat/Gübre	1.33	1.20	1.81	1.14	1.78	1.17	1.25	-5.88
	Fiyat/Mazot	0.26	0.22	0.33	0.28	0.40	0.23	0.26	0.42
Buğday	Fiyat/Gübre	1.16	1.01	0.96	0.82	0.93	0.95	0.80	-31.02
	Fiyat/Mazot	0.22	0.18	0.18	0.20	0.21	0.19	0.17	-26.40

Kaynak: Yazarlar tarafından hesaplanmıştır.

Çizelge 2’de yıllara göre üreticilerin gübre ve mazot girdisine karşı satın alma gücünü belirlemek için fiyat-girdi pariteleri hesaplanmıştır. Buna göre Mısır başta olmak üzere Zeytin, Kuru Soğan, Patates, Çeltik, Şekerpancarı, Domates ve Buğdayda 2002-2018 yılları arasında gübre alımında çiftçilerin satın alma güçlerinin zayıfladığı görülmektedir. Çiftçinin satın alma gücünün arttığı ürünler ise ayçiçeği ve çay olarak belirlenmiştir. Fiyat-mazot paritesinde de benzer sonuçlar görülmekte olup mazot alımında satın alma gücü en çok düşen ürün ise şekerpancarı olmuştur. Görüldüğü üzere girdi fiyatları ile ürün fiyatları arasındaki fiyat düzeyi farkını gösteren girdi-fiyat paritesi ürünlere göre farklılık göstermekte ve dolayısıyla da bölgeler arası gelir farklılaşmasına neden olmaktadır. Bu durum beraberinde göç gibi sosyolojik olayları getirirken, aynı zamanda tarımsal ürün arzında da dalgalanmalara neden olmaktadır.

Tarım Ürünleri Fiyatlarının Enflasyon Üzerine Etkisi

Bugün kaba ve kesif yem maliyetlerine bağlı olarak süt ve et sığırcılığı üretim maliyetleri artmış ve hayvansal ürün piyasalarında maliyet kaynaklı fiyat artışı yaşanmıştır. Artan maliyet, fiyatları yukarı yönlü baskılamış ve enflasyona sebep olmuştur. Merkez bankası enflasyonun makroekonomik dengeyi bozduğu gerekçesi ile başta et ve süt fiyatları olmak üzere birçok tarımsal ürüne müdahale etmiştir.

Fiyatların baskılanması üretici karını azaltmakla birlikte düşük kâr marjı ve yüksek yatırım maliyetleri ile üretici üretim kararı almakta zorlanmaktadır. Bu durum Türkiye tarım sektörü açısından kalıcı ve telafisi zor sonuçlara sebep olacağı düşünülmektedir. Nitekim hayvansal ürünlerde fiyat dalgalanması süt ineklerinin kesime gitmesine sebep olmuştur. Süt ineğinin kesime gitmesi etin kaynağı olan besi materyallerinin de azalmasına neden olmuş, orta ve uzun dönemde et arz açığı oluşmuştur. Et fiyatlarının yüksek ve süt fiyatlarının düşük olması bu süreci hızlandırmıştır.

Gerek bitkisel ve gerekse hayvansal üretimde birçok üründe piyasa dengesi bozulmuş ve oluşan fiyatlar ya tüketici refahını ya da üretici karını olumsuz etkilemiştir. Yaklaşık 20 milyon nüfusu barındıran tarım sektöründeki ekonomik dalgalanmalar kırdan kente göçü beraberinde getirmiş ve süreçte artarak devam edeceği düşünülmektedir. Tarımsal gelirden bu risk ve belirsizlikler sonucu oluşan dalgalanmalar üreticilerin sektörden gelecek beklentisini de olumsuz etkilemektedir. Kırsal alan sorunu olarak görülen tarımsal ürünlerin fiyat dalgalanması göç ile tüm ülkenin sosyal sorunu haline gelirken sektörler arası girdi ve ürün alışverişi nedeniyle de ülkesel ekonomik problem haline gelmiştir. Nihayetinde süreç gıda güvenliği açısından daha büyük sorunlara sebep olmaktadır. Üretimden çekilen küçük ölçekli işletmeler üretim maliyetlerinin artmasına neden olmaktadır. Nitekim Türkiye’de tarım işletmelerinin önemli bir bölümü küçük ölçekli olup bu durumun tarım piyasaları ve gıda güvenliği

açısından olumlu ve olumsuz değerlendirilebilecek yönleri vardır. Küçük ölçekli işletmelerin rekabet gücü düşük ve kaynak kullanım etkisizliklerine bağlı olarak maliyetleri yüksektir. Ancak küçük ölçekli işletmeler sosyo-ekonomik yapıda olup, işletmenin karı ile sosyal yapının sürdürülebilirliği ön plandadır. Üretimde cari masraflar dikkate alınarak maliyet hesapları yapılmaktadır. Bu durum işletmelerin üretime devam etmesinde en büyük etkidir. Maliyet hesaplarında aile işgücü ücretleri, işletme içi girdi kullanımı, amortismanlar, faizler vs. masraflar dikkate alınmamaktadır. Böylece fiyatlar üzerindeki piyasa baskısı işletmelerin bu yapısı ile hafifletilmekte ve üretimde sürdürülebilirlik sağlanmaktadır.

Türkiye’de Tarım İşletmelerinin Yapısal Özellikleri

Türkiye tarım işletmelerinin yapısal özelliklerini gösteren arazi kullanımı ve işletme ölçekleri Çizelge 3’te gösterilmiştir. Buna göre Türkiye’de Tarım ve Orman Bakanlığının kayıtlarına göre 2018 yılında 2.2 milyon tarımsal işletme vardır. Bu işletmelerin %10.8’i 0-5 dekar araziye sahip olup, bu işletmeler toplam arazinin %0.3’ünü işlemektedir. Ayrıca 6-10 dekar arası araziye sahip işletmelerin oranı %11.70 ve 11-15 dekar arası araziye sahip işletmelerin oranı ise %16.7 olarak hesaplanmıştır. Buna göre işletmelerin %39.7’sini 15 dekardan küçük araziye sahip olmasına rağmen bu işletmelerin işledikleri arazi toplam arazinin sadece %3.8’ini oluşturmaktadır.

Çizelge 3. Türkiye tarım işletmelerinin işletme ölçeklerine arazi kullanım dağılımı

Dekar	İşletme Sayısı	Dağılımı (%)	Arazi Miktarı (ha)	Dağılımı (%)	Kümülatif Arazi Varlığı
0-5	237 600.00	10.8	60 251.02	0.3	0.3
6-10	257 400.00	11.7	160 669.38	0.8	1.1
11-15	367 400.00	16.7	542 259.14	2.7	3.8
20-49	569 800.00	25.9	2 148 952.90	10.7	14.5
50-99	343 200.00	15.6	2 932 216.11	14.6	29.1
100-199	244 200.00	11.1	3 775 730.34	18.8	47.9
200-499	136 400.00	6.2	4 920 499.64	24.5	72.4
500-999	28 600.00	1.3	2 490 375.33	12.4	84.8
1000+	15 400.00	0.7	3 052 718.14	15.2	100
Toplam	2 200 000.00	100	20 083 672.00		100

Kaynak: TÜİK (2016)

Çizelge 4’te Türkiye tarım işletmelerinin işletme büyüklükleri ile işledikleri arazi arasındaki ilişkiler gösterilmiştir. Buna göre Türkiye tarım işletmelerinin %65.1’i 50 dekar altında üretim yaparken bu işletmelerin işledikleri alan toplam arazinin %14.5’ini oluşturmaktadır. Bu grupta yer alan işletmelerin işletme başına arazi varlığı ise 20.33 dekar olarak belirlenmiştir. Ayrıca tarım işletmelerinin %80.7’si 100 dekar altında üretim yaparken toplam arazinin %29.1’ini işlemektedirler. 100 dekar altında üretim yapan bu işletmelerin işletme başına arazi varlığı ise 32.93 dekar olarak hesaplanmıştır. Tarım ve Orman Bakanlığı verilerine göre Türkiye tarım işletmelerinin ortalama arazi varlığı 91.29 dekar olarak hesaplanmıştır.

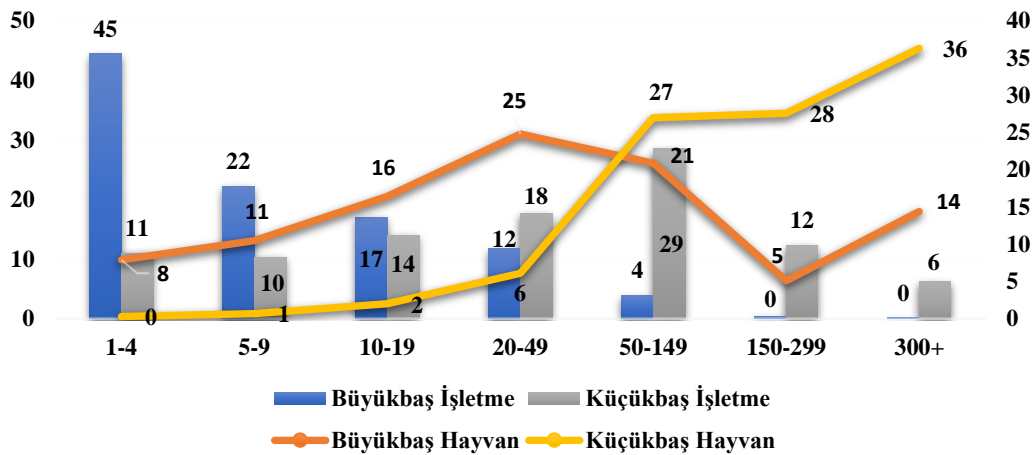
Çizelge 4’te tarım işletmelerinin yapısal özellikleri farklı bir perspektifte de gösterilmiştir. Buna göre Türkiye’de faaliyet gösteren tarım işletmelerinin %34.9’u 50 dekar üzerinde üretim yaparken bu işletmeler toplam arazinin ise %85.50’sini işlemektedirler. Buna göre Türkiye’de 50 dekar üzerinde faaliyet gösteren tarım işletmelerinin işletme başına düşen arazi varlığı 223.65 dekar olarak belirlenmiştir. Ayrıca işletmelerin %19.3’ü toplam arazinin %70.9’unu işlemekte olup 100 dekar üzerinde işletmelerin işletme başına düşen arazi varlığı 335.36 dekar olarak tespit edilmiştir. İşletme başına arazi varlığı işletme büyüklükleri arttıkça yükseldiği görülmekte olup buna göre Türkiye’de temel sorunun arazi ölçeğinden ziyade işletme ölçeği olduğu görülmektedir.

Çizelge 4. Türkiye tarım işletmelerinde işletme başına arazi varlığı (da)

İşletme Büyüklükleri	İşletme Sayısı	Dağılımı (%)	Arazi Miktarı (ha)	Dağılımı (%)	İşletme Başına Arazi Varlığı (da)
< 50	1 432 200.00	65.1	2 912 132.44	14.5	20.33
<100	1 775 400.00	80.7	5 844 348.55	29.1	32.92
<200	2 019 600.00	91.8	9 620 078.89	47.9	47.63
<500	2 156 000.00	98	14 540 578.53	72.4	67.44
<1000	2 184 600.00	99.3	17 030 953.86	84.8	77.96
Toplam	2 200 000.00	100	20 083 672.00	100	91.29
> 50	767 800.00	34.9	17 171 539.56	85.5	223.65
>100	424 600.00	19.3	14 239 323.45	70.9	335.36
>200	180 400.00	8.2	10 463 593.11	52.1	580.02
>500	44 000.00	2	5 543 093.47	27.6	1.259.79
>1000	15 400.00	0.7	3 052 718.14	15.2	1.982.28

Kaynak: TÜİK (2016)

Türkiye tarım işletmelerinin büyükbaş hayvan varlığı incelendiğinde ise tarım işletmelerinin % 44.5'i 5 baştan aşağı, % 66.7'si 10 baş, % 83.7'si 20 baş, % 95.5'i 50 baş ve % 99.4'ü 150 baş ve daha aşağı hayvan varlığına sahip işletmeler olduğu söylenebilir. Küçükbaş hayvan varlığına göre yapılan sınıflandırmada ise işletmelerin % 53'ü 50 baştan aşağı hayvan varlığına sahipken, % 66.7'i 20 baş, % 81.5'i 150 baş ve % 93.83'ü 300 baştan aşağı hayvan varlığına sahiptirler (Şekil 1).

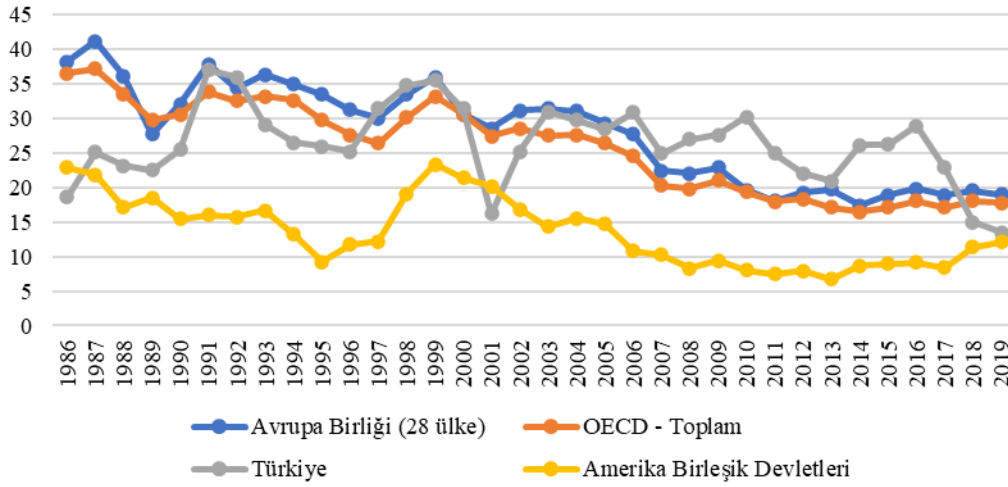
**Şekil 1.** Büyükbaş ve küçükbaş hayvanı olan işletmelerin işletme büyüklüğüne göre işletme ve hayvan varlığı dağılımı (TÜİK, 2016)

Türkiye tarım işletmeleri bu yapısı ile evrensel tarımsal işletme sınıflandırmasına göre küçük ölçekli aile işletme sınıfında yer almaktadır. Dünya genelinde 580 milyon tarım işletmesi var olup, bunun 500 milyonu küçük ölçekli aile işletmesi olarak farklı sınıflandırma yöntemlerine göre adlandırılmaktadır (Keskin ve ark., 2017; Yener, 2017). Aile işletmeleri toplam işletmelerin %85'ini oluşturmaktadır. Bu oransal çoğunluğun tarım piyasalarındaki davranışlarının tarım ürünleri piyasaları üzerindeki etkileri tartışılmazdır. Bu nedenle küçük ölçekli tarım işletmelerinin olumsuz piyasa şartlarındaki direncinin gıda güvenliği ve tarımsal ürün piyasalarına bağlı makroekonomik dengenin sağlanması adına korunması ve desteklenmesi önemlidir.

Tarımsal Desteklemeler

Türkiye'de tarımsal desteklemeler çiftlik gelirin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. OECD rakamlarına göre Türkiye'de tarımsal desteklemeler 1986 yılında toplam brüt çiftlik gelirin %18.6'sını oluştururken bu tarihten sonra 1991 yılında tarımsal desteklemelerin brüt çiftlik gelir içerisindeki payı ilk defa çiftlik gelirlerinin %37'sini oluşturmuş ve bu tarihten sonra genel olarak azalma eğilimi göstermiştir (Anonim, 2020a). Özellikle 2001 ekonomik kriziyle tarımsal desteklemeler gelirin

%16.2'sini oluştururken bu tarihten sonra desteklemelerin gelir içerisindeki oranında bir artış yaşanmıştır. Fakat 2016 yılından sonra tarımsal desteklemelerin gelir içerisindeki payı giderek azalma göstermiştir.



Şekil 2. Türkiye, AB, OECD ve ABD'de tarımsal desteklemelerin gelişimi (Anonim, 2020a)

Çizelge 5 ve Çizelge 6'da ise Türkiye'de 2006-2020 yılları arasında verilen gruplar itibariyle desteklemeler verilmiştir. Buna göre 2006 yılında merkez bütçesinden 4.784 milyon TL tarımsal amaçlı desteklemeler için pay ayrılmıştır. Bu dönem içerisinde en yüksek destekleme ödemesi ürün destekleme ve diğer tarımsal amaçlı transferlere aittir. Bu dönemden sonra verilen desteklemeler gruplar itibariyle verilmeye başlanmış ve en yüksek ödemeyi doğrudan gelir desteği oluşturmuştur. Yıllar içerisinde (2006-2020) tarımsal desteklemelerde önemli gelişmeler yaşanmış ve %358,90 oranında bir artış ile tarımsal desteklemeler 21.954 milyon TL'ye ulaşmıştır. Gruplar itibariyle de yüksek artışlar görülmüş olup örneğin mazot desteğinde %504, gübre desteğinde %143 ve süt desteğinde %761 oranında artışlar yaşanmıştır. Ürün bazlı destekleme artışları incelendiğinde ise buğdayda %337, çeltikte %682, yağlık ayçiçeğinde %196, kütlük pamukta %186, yem bitkilerinde %99 ve çayda %104 oranında bir artış görülmüştür. Görüldüğü üzere desteklemeler nicelik açısından artmasına rağmen nitelik açısından istenilen seviyede olmaması ve verilen desteklemelerin piyasa üzerinde nasıl bir etki oluşturduğuna dair bilgilerin olmaması bu alanda yapılacak her çalışmayı özgün kılmaktadır.

Çizelge 5. Türkiye'de tarımsal desteklemelerin gruplara göre gelişimi (2006-2020) (%)

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Tarımsal Amaçlı Transferler	4.8	5.6	5.8	4.5	5.8	7	7.6	8.7	9.2	10	11.5	12.7	14.6	17	22
Doğrudan Gelir Desteği	0	29.5	19.6	0	0	0	0.1	0	0	0	0.2	0.1	0.1	0.1	0
Ürün Destekleme Ödemeleri	27.1	0.1	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hayvancılık Desteği	13.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mazot Desteği Ödemeleri	0	8.7	8.5	10.4	8.8	7.4	7.9	7	7.1	7	6.3	5.5	13	14.1	13.2
Gübre Desteği Ödemeleri	0	6.2	6.1	13.3	10.7	8.9	9.4	8.3	8.5	8.3	7.6	6.3	3.8	3.3	3.8
Kütlü Pamuk Desteği Ödemeleri	0	14.7	13	13.3	9.2	10.6	10.6	9.4	12.4	12	12.5	12.8	9.8	13.9	10.6
Yağlık Ayçiçek Desteği	0	3.7	3.5	4.2	3.4	3.6	3.3	3.8	1.7	3.6	3.4	4.2	4.7	3.9	2.8
Soya Fasulyesi Desteği	0	0.2	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4	0.4	0.4
Kanola Desteği Ödemeleri	0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2
Dane Mısır Desteği Ödemeleri	0	4.3	2.8	0.4	2.6	3.4	3.2	0	1.1	2.1	2	1.1	1	0.6	0.5
Zeytinyağı Desteği Ödemeleri	0	0	0	0.2	0.3	0.4	0.4	0.5	0.6	0.6	0.7	0.8	0.7	0.6	0.1
Aspir Desteği Ödemeleri	0	0	0	0	0	0.1	0.1	0.1	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
Çay Desteği Ödemeleri	0	1.6	1.8	2.5	2	2.1	2.1	2	1.6	1.5	1.5	1.3	1.2	1.1	0.8
Buğday Desteği Ödemeleri	0	5.4	9	17.9	14.2	12.8	8.1	11.5	8.3	4.7	5.9	6.9	4.7	4.7	6
Çeltik Desteği Ödemeleri	0	0.2	0.3	1.4	0.7	0.9	1.1	0.4	0.7	0.6	0.2	0.6	0.5	0.4	0.4
Diğer Hububat Desteği	0	2.3	1.1	3.1	2.2	1.1	1.8	1.1	1.1	1	0.3	1.3	1.1	0.3	1.6
Yem Bitkileri Desteği	0	7.1	8.8	11.2	4.6	3.4	3.7	3.6	3.5	3.5	3	3.4	3.5	5.1	3.6
Süt Desteği Ödemeleri	0	2.9	5.3	4	6	6.5	5.8	6.7	5.8	6.7	5.3	5.1	4.2	4.4	6.4
Buzağı Desteği Ödemeleri	0	0.5	1	0	0.7	0.7	1	0.9	1	1.1	1	10.6	9.6	8.9	15.9
Arıcılık ve Bal Desteği	0	0.4	0.2	0.2	0.3	0.4	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.6
Hastalıklardan Arı İşletme Desteği	0	0.1	0.1	0	0.1	0.1	0.4	0.6	0.6	0.4	0.5	0.5	0.6	0.4	0.5
Aşı Desteği Ödemeleri	0	0	0.1	0	0.1	0.4	0.4	0.1	0.1	0	0.1	0.1	0.1	0	0

Çizelge 6. Türkiye'de tarımsal desteklemelerin gruplara göre gelişimi (2006-2020) (%) - devamı

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Su Ürünleri Desteği Ödemeleri	0	0.4	1.1	1.8	1.9	2.1	2.3	1.9	1.7	1.2	0.8	0.6	0.4	0.4	0.4
İslah Amaçlı Küçükbaş Hayvan Yetiştirici Birlik. Desteği	0	0.1	0.5	1.6	1.6	2.4	3.7	4.1	4.6	4.6	4.9	4.7	4.4	3.8	4.7
Hayvan Gen Kaynakları Desteği	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5	0.7	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.9	0.8	0.5
Büyükbaş Hayvan Hastalıkları Tazminatı Desteği Ödemeleri	0	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.4	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.7	1	1.4
ÇATAK Desteği	0	0	0.1	0.1	0.2	0.2	0.4	0.5	0.6	0.8	1.2	1.3	1	1	0.7
Kırsal Kalkınma Destekleme	0	1.4	1.9	5.5	5.2	3.6	2.7	3.5	3.4	3	4.4	1.8	4.6	2.5	1.9
Bitkisel Ürün Sigortası Desteği	0	0.3	0.5	0.6	0.9	2	2.2	1.9	2.4	3.7	4.3	4.8	5.5	4.9	5.3
Süt Sığırcı Sigortası Desteği	0	0.3	0.2	0.3	0.2	1.1	1.1	1.2	1.2	1.2	1.4	1.3	1.2	1.1	1
Sera Sigortası Desteği	0	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
K. Hayvanları Sigortası Desteği	0	0	0.1	0.1	0.1	0	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Hasar Fazlası Desteği Ödemeleri	0	0	0	0	0.2	0.1	0	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0
Diğer Tarım Sigortası Destek	0	0	0	0.1	0.1	0	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Patates Sigili Desteği Ödemeleri	0	0.4	0.4	0.2	0.1	0	0	0.2	0	0	0.1	0	0	0	0
Çay Budama Tazminatı Desteği	0	0.8	0.8	1.3	1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2	1.1	1.1	1.2	1.2
Çay Budama Masrafları	0	0.2	0.2	0.1	0.3	0.1	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.2
Ar-Ge Destekleri Ödemeleri	0	0	0	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Sertifikalı Tohum Kullanım Des.	0	0.5	0.5	1	1	0.8	0.9	0.6	0.9	0.9	1.6	1.4	1	1.4	1.1
Sertifikalı Fidan Kullanım Des.	0	0.4	0.5	0.8	0.5	0.4	0.4	0.3	0.4	0.5	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1
Toprak Analizi Desteği	0	0	0	0.1	1.2	1.2	1.2	1.1	1.1	1.1	0.9	0	0.3	0.2	0.1
Organik Tarım Desteği	0	0	0	0.1	0.1	0.8	0.9	0.5	0.8	0.9	0.9	0.8	0.8	0.9	0
İyi Tarım Uygulamaları Desteği	0	0	0	0.1	0	0	0.1	0.2	0.2	0.3	0.6	1.1	0.6	0.9	0
Bakliyat Desteği Ödemeleri	0	0	0	1.3	0.4	0.4	0.2	0.8	0.7	0.6	0.6	0.7	0.5	0.7	1

Kaynak: Anonim (2021)

Türkiye’de tarımsal yapı AB ülkelerinden ve ABD gibi gelişmiş olan ülkelere önemli ölçüde farklıdır. Sahip olduğu ekolojik ve stratejik konumu nedeniyle avantajlı konumda olmasına rağmen üretim maliyetlerinin döviz kuruna bağlı olarak artış göstermesi nedeniyle tarımsal ürünlerin satışından elde edilen gelir, üretim maliyetlerinin sadece bir kısmını karşılamaktadır. Örneğin bir litre sütün ortalama çiftlik düzeyinde üretim maliyetleri 2020 yılında 2.53 TL/kg olurken, çiğ süt fiyatı 2.30 TL/kg olarak hesaplanmıştır (Anonim, 2020b). Bu nedenle de üreticilere süt prim desteği verilmektedir. Fakat verilen desteklemeler yeterli olmamakla birlikte Dünya Ticaret Örgütü (WTO) kurallarına göre desteklemelerin payının artırılması gerektiği söylenebilir (Semerci, 2019).

Görüldüğü üzere Türkiye tarım işletmelerinin yapısal, sosyal ve ekonomik özellikleri nedeniyle desteklenmelerin zorunluğu olduğu görülmekte olup üretim faaliyetlerinin sürdürülebilirliği ancak kamu desteklemeleriyle sağlanmaktadır (Topcu, 2008). Nitekim kalkınma sürecinde olan ülkelere tarım sektörüne müdahale etmeden bırakılması serbest piyasa ekonomisi kurallarına göre telafisi güç sorunlara neden olacaktır. Ayrıca salgın ve iklimsel faktörler gibi kontrolü sınırlı olan doğal felaketlere karşı ülkelerin kendi yeterliliklerinin sağlanmasında da desteklemelerin önemli bir payı vardır. Fakat Türkiye’de uygulanan kamu destekleme programları niceliksel olarak büyümesine rağmen tarım sektörünün hedeflerine ulaşmasında yeterli görülmemektedir (Özkaya ve ark., 2010). Nitekim bazı ürünlerde girdi-fiyat pariteleri dikkate alınmadan prim ve destekleme ödemeleri yapılırken, bazı ürünlerde ise ekolojik ve doğal kaynaklar dikkate alınmadan desteklemeler yapılmıştır. Bu nedenle de bölgesel farklılıklar ortaya çıkmış olup ürünlere göre arz ve talep açığı meydana gelmiştir. Bu durum Türkiye’de uygulanan kamu desteklemelerinin tarım işletmelerini sürdürülebilir gelir hedefine ulaştırılamamış ve sonucunda da tarımsal ürün fiyatlarının genel fiyat seviyesinin altında kalmasına neden olmuştur. Bu yönü ile uygulanan destekleme politikaları sosyal ve ekonomik amacına ulaşamamış zamanla işletmelerin satın alma gücünün azalmasına neden olmuştur.

Türkiye’de bugüne kadar tarımsal desteklemelerin etki analizleri sınırlı sayıda araştırılmıştır. Erdal ve Erdal (2008) tarafından yapılan çalışmada prim ödemelerinin Pamuk, Ayçiçeği, Soya, Kanola, Mısır ve Aspir arzı üzerinde, Uzmay (2009) 1990-2006 dönemi itibarıyla pamuk fark ödeme ve desteklemelerinin pamuk arzı üzerinde artışa neden olduğunu, Aktaş ve ark. (2015) pazar fiyat ve girdi desteğinin tarımsal çıktıyı artırdığı, Işık ve Bilgin (2016) en etkili desteğin pazar fiyat desteği olduğunu,

Yavuz ve ark. (2016) buğday, dane mısır ve çeltik üreticilerinin en çok pazar fiyat desteğini tercih ettikleri, Özudoğru ve Miran (2015) fark ödemesi destekleri ve diğer alternatif destekleme yöntemlerinin pamuk arz üzerindeki artıcı etkisini olduğunu, Yıldız (2017) tarımsal desteklemeleri ile tarımsal üretim arasında karşılıklı ilişki bulunduğunu ve Yılmaz ve Çobanoğlu (2017) ise tarımsal üretim değeri üzerinde en etkili desteklerin pazar fiyatı, girdi desteği ve pazarlama desteği olduğunu ifade etmektedir. Ürün bazlı veya genel olarak desteklemelerin etkisi incelenmiş olmasına rağmen Türkiye geneli veya kurumlar itibarıyla desteklemelerin etki analizlerinin yapılmadığı Sayıştay raporlarıyla da ifade edilmektedir (Anonim, 2015). Bu durum III. Tarım Şurası raporu kapsamında da tartışılmış ve raporda 1991-2018 yılları arasında bitkisel üretime verilen destekler zaman serisi yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir (Çizelge 7). Buna göre desteklemelerin etkisi kısa ve uzun döneme göre değişmekle birlikte ürünlere göre de farklılık göstermektedir. Buna göre doğrudan gelir desteğinin kısa dönemde de uzun dönemde de etkisinin sınırlı olduğu desteklemeler içerisinde en yüksek etkinin fark ödemelerine ait olduğu görülmektedir. Fakat yapılan bu tahminler öngöründen ibaret olup ürünlerin elastikiyetlerinin, arz ve talep yapılarının, maliyetlerinin ve fiyatlarının bilinerek daha detaylı incelemelerin yapılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Çizelge 7. Bitkisel üretime verilen belli başlı desteklerin etkisi

	Kısa Dönem Etkisi					Uzun Dönem Etkisi				
	DGD	MGD	FARK	Rakip Ürün Fiyatı	Kendi Fiyat	DGD	MGD	FARK	Rakip Ürün Fiyatı	Kendi Fiyat
Arpa	O	Y	Y	Y	O	O	O	O	Y	O
Buğday	B	B	B	B	B	B	B	O	O	O
Mısır	O	B	B	B	B	B	B	O	O	O
Ayçiçeği	Y	B	Y	Y	Y	B	B	O	O	B
Pamuk	Y	Y	Y	Y	Y	O	Y	O	Y	Y
Çeltik	B	B	B	B	B	B	Y	B	B	O
Fındık	B	O	B	B	O	B	Y	B	B	O
Soğan	O	B	B	O	B	O	O	B	O	B
Patates	B	B	B	B	O	B	B	B	O	O
K. Fasulye	O	Y	O	Y	B	O	Y	O	Y	B
Nohut	B	B	Y	B	Y	B	O	Y	Y	O
Mercimek	Y	B	Y	Y	B	B	O	O	O	B
B	Etkisi tespit edilemedi									
O	Orta düzey etkiye sahip									
Y	Yüksek düzeyde etkiye sahip									

Kaynak: Anonim (2019)

SONUÇ

Bugüne kadar birçok çalışmada tarımsal desteklemelerin üretim üzerindeki etkisi, yeterliliği ve üreticilerin desteklemelere yönelik tutumları incelenmiştir. Fakat bu çalışma kapsamında desteklemelerin piyasalar üzerindeki etkisi vurgulanmaktadır. Bugüne kadar tarıma yönelik desteklemeler kısa vadede üretim üzerinde olumlu etki yapmasına rağmen uzun vadede sürdürülebilir bir tarımsal üretim için yeterli olmadığı, piyasalar üzerinde bozucu bir etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir. Tarımsal desteklemelerin tarımsal üretimi ve piyasaları yönlendirici bir faktör olarak tekrardan gözden geçirilmesi, üretkenliği artırıcı, verimlilik sağlayıcı ve işletmelerin sürdürülebilirliğini sağlayacak programlar geliştirilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Tarımda yeni destekleme programlarının geliştirilmesine yönelik olarak öncelikle yapılması gerekenler aşağıda sıralanmış olup bu konularda gerekli düzenlemelerin yapılmasıyla tarımsal üretimde etkinlik sağlanabilir, rekabet düzeyi artırılabilir ve tarımsal katma değer artışı sağlanabilecektir. Bu öneriler;

1. İklimsel ve doğal faktörler göz önünde bulundurularak gıda güvencesi ile güvenliğini sağlayıcı bölgesel farklılıkları azaltmaya yönelik ürünlere destek verilmesi
2. Bölgesel farklılığı azaltmaya yönelik bölgelere göre rekabet üstünlüğü sağlayan ürünlere yönelik daha etkin ve verimli bir üretim için destekleme programlarının hazırlanması
3. Desteklemelerin kalkınma planlarına yönelik olarak hazırlanarak uzun vadeli destekleme programlarının oluşturulması
4. Mevcut destekleme politikalarının ürünlere ve işletme tipolojilerine göre etki analizlerinin yapılarak ihtiyaca göre desteklemelerin verilmesi
5. Desteklemelerin çiftçi örgütleri üzerinden verilerek örgüt bilincinin oluşturulması
6. Katma değeri yüksek ve ihracata yönelik üretim yapan işletmelere yönelik ek destekleme programlarının açılması
7. Arz açığı olan ürünlerde talebin canlanmasına yönelik tüketici teşvik politikalarının uygulanması
8. Verilen kamu desteklemelerinin (Bakanlık, Belediye, Kooperatif, TKDK, Kalkınma Ajansları, Ziraat Bankası vb.) izlenebilirliğinin sağlanması ve etkinliğinin ölçülmesi
9. Tarımsal desteklemeleri izleme ve değerlendirme sisteminin oluşturulması
10. Bölgesel tarımsal desteklemeleri belirlemede üst örgütlenmenin oluşturulması
11. Genç çiftçilere ve kadınlara yönelik ek desteklemelerin artırılması olarak sıralanabilmektedir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Ağırbaş NC, Sapmaz K, Koç A, 2017. Eskişehir ilinde yem bitkileri ekiliş alanı ve üretim miktarı üzerine tarımsal desteklemelerin etkisi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 48 (1): 65-72.
- Aktaş E, Altıok M, Songur M, 2015. Farklı Ülkelerdeki Tarımsal Destekleme Politikalarının Tarımsal Üretim Üzerine Etkisinin Karşılaştırmalı Analizi, Anadolu Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, 15 (4): 55-74.
- Allanson P, 2006. The redistributive effects of agricultural policy on Scottish farm incomes, Journal of Agricultural Economics, 57 (1): 117-128.
- Anonim, 2015. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 2014 Yılı Sayıştay Denetim Raporu, https://www.sayistay.gov.tr/tr/Upload/62643830/files/raporlar/kid/2014/Genel_B%C3%BCt%C3%A7e_Kapsam%C4%B1ndaki_%20Kamu_%C4%B0dareleri/GIDA%20TARIM%20VE%20HAYVANCILIK%20BAKANLI%C4%9EI.pdf: [20.01.2021].
- Anonim, 2019. Tarımsal Destekleme Politikaları Grubu Çalışma Belgesi, 3. Tarım Şurası, 32, https://cdniys.tarimorman.gov.tr/api/File/GetFile/330/Sayfa/1416/1778/DosyaGaleri/14._tarimsal_destekleme_politikalari.pdf:
- Anonim, 2020a. Ülkelerin Tarımsal Desteklemeleri, <https://data.oecd.org/agrpolicy/agricultural-support.htm>: [19.12.2020].
- Anonim, 2020b. Süt Üretim Maliyeti ve Süt Fiyatları, <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/wp-content/uploads/kasim2020-maliyet.pdf>: [28.12.2020].
- Anonim, 2021. Merkezi Yönetim Bütçesi Denge Finansmanı, <https://www.hmb.gov.tr/kamu-finansmani-istatistikleri>: [12.02.2021].
- Demirdöğen A, Olhan E, Chavas J-P, 2016. Food vs. fiber: An analysis of agricultural support policy in Turkey, Food policy, 61: 1-8.
- Erdal G, Erdal H, 2008. Türkiye’de Tarımsal Desteklemeler Kapsamında Prim Sistemi Uygulamalarının Etkileri, GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi, 25 (1): 41-51.

- Erdal G, Erdal H, Gürkan M, 2013. Türkiye’de uygulanan tarımsal desteklerin üretici açısından değerlendirilmesi (Kahramanmaraş ili örneği), *International Journal of Social and Economic Sciences*, 3 (2): 92-98.
- Hennessy DA, 1998. The production effects of agricultural income support policies under uncertainty, *American Journal of Agricultural Economics*, 80 (1): 46-57.
- Işık HB, Bilgin O, 2016. The Effects of Agricultural Support Policies on Agricultural Production: The Case of Turkey, *RSEP International Conferences on Social Issues and Economic Studies, 2nd Multidisciplinary Conference Madrid SPAIN 2-4 November*, 111-119.
- Kandemir O, 2011. Tarımsal destekleme politikalarının kırsal kalkınmaya etkisi, *Ekonomi Bilimleri Dergisi*, 3 (1): 103-113.
- Keskin G, Kaplan G, Başaran H, 2017. Türkiye’de aile çiftçiliği, işgücü üretkenliği ve sürdürülebilirlik, *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21 (2): 209-218.
- Özkaya T, Günaydın G, Bozoğlu M, Olhan E, Sayın C, 2010. Tarım Politikaları ve Tarımsal Yapıdaki Değişimler, *Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*: 11-15.
- Özüdoğru T, Miran B, 2015. Türkiye’de farklı destekleme politikalarının pamuk arzı üzerine etkileri, *Tarım Ekonomisi Araştırmaları Dergisi*, 1 (2): 9-19.
- Sema Ezgi Y, Sibel T, Arif S, 2020. Türkiye’de 2000-2020 Döneminde Tarımsal Destekleme Politikalarının Gelişiminin İncelenmesi, *Lapseki Meslek Yüksekokulu Uygulamalı Araştırmalar Dergisi*, 1 (2): 36-46.
- Semerci A, 2019. Türkiye’de Tarımsal Destekleme Uygulamaları, *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 7 (1): 181-186.
- Songur M, 2015. Farklı ülkelerdeki tarımsal destekleme politikalarının tarımsal üretim üzerine etkisinin karşılaştırmalı analizi, *Anadolu Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 15 (4): 55-74.
- Şaşmaz MÜ, Öznur Ö, 2019. Tarım sektörüne sağlanan mali teşviklerin tarım sektörü gelişimi üzerindeki etkisi: Türkiye örneği, *Dumlupınar Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi* (61): 50-65.
- Topcu Y, 2008. Çiftçilerin tarımsal destekleme politikalarından faydalanma istekliliğinde etkili faktörlerin analizi: Erzurum ili örneği, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21 (2): 205-212.
- TÜİK, 2016. Türkiye Tarımsal İşletme Yapı Anketi, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24869>: [14.06.2018].
- TÜİK, 2019. Bitkisel Üretim İstatistikleri, Ankara, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr>: [30.09.2020].
- Uzmay A, 2009. Türkiye’de Pamukta Uygulanabilir Destekleme Araçlarından Destekleme Alımı ve Fark Ödeme Sisteminin Refah Etkileri: Kısmi Denge Analizi, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 46 (1): 53-62.
- Yavuz G, Miran B, Gürer BB, Yüksel NY, Demir A, 2016. Buğday, Dane Mısır ve Çeltik Üretiminde Fark Ödemesi Desteklerinin Etkisi, *Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE) Yayın*, 168,
- Yener A, 2017. Konya ilinde süt sığırcılığı yapan aile işletmelerinde yeniliklerin benimsenmesi ve yayılmasına etki eden faktörler. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*,
- Yıldız F, 2017. Türkiye’de Merkezi Yönetim Bütçesinden Yapılan Tarımsal Destekleme Ödemelerinin Tarımsal Üretim Üzerindeki Etkisi: 2006-2016 Dönemi, *Sayıştay Dergisi* (104): 45-63.
- Yılmaz Hİ, Çobanoğlu F, 2017. Türkiye’de Tarım Sektörünü Desteklemeye Yönelik Sağlanan Çeşitli Araçların Tarımsal Üretim Değeri Üzerine Etkilerinin Analizi, *Turkish Journal of Agricultural Economics*, 23 (2): 145-155.

Atf İçin: Tuğlu Ü, Baydar H, Erbaş S, 2021. Distilasyon Yöntemlerinin, Sürelerinin ve Fraksiyonlarının Kekik (*Origanum onites* L.) Uçucu Yağ Oranları ve Bileşenleri Üzerine Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3195-3202.

To Cite: Tuğlu Ü, Baydar H, Erbaş S, 2021. Influence of Distillation Methods, Times and Fractions on Essential Oil Contents and Compounds in Turkish Oregano (*Origanum onites* L.). Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3195-3202.

Distilasyon Yöntemlerinin, Sürelerinin ve Fraksiyonlarının Kekik (*Origanum onites* L.) Uçucu Yağ Oranları ve Bileşenleri Üzerine Etkisi

Ümmü TUĞLU^{1*}, Hasan BAYDAR¹, Sabri ERBAŞ¹

ÖZET: Bu araştırma, İzmir kekiği olarak bilinen Türk kekiğinin (*Origanum onites* L.) farklı distilasyon yöntemleri ile distilasyon süresi ve fraksiyon dilimlerinin uçucu yağ verimi ve kompozisyonu üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde 2014 yılında yürütülmüştür. Araştırmada pilot tip distilasyon kazanlarında iki farklı distilasyon yöntemi (su ve buhar), altı farklı distilasyon süresi (15, 30, 60, 90, 120 ve 150 dakika) ve altı farklı fraksiyon dilimi (0-15, 16-30, 31-60, 61-90, 91-120 ve 121-150 dakika) uygulanmıştır. Distilasyon yönteminin, distilasyon süresinin ve distilasyon dilimlerinin kekiğin uçucu yağ oranı ve bileşenleri üzerinde önemli etkileri ($p<0.01$) olduğu belirlenmiştir. Su distilasyonuna göre buhar distilasyonundan daha yüksek uçucu yağ verimi kazanılmıştır. Her iki yöntemde de en yüksek uçucu yağ oranları 150 dakikalık damıtma süresinde (su distilasyonunda %4.60 ve buhar distilasyonunda %5.11) ve 16-30 dakikalar arasındaki fraksiyon diliminde (toplam uçucu yağın su distilasyonunda %31.60'ı ve buhar distilasyonunda %35.77'si) elde edilmiştir. Kekik yağının temel bileşeni olan karvakrolün en yüksek oranları su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda 16-120 dakikalar arasında (%93.91-94.60), buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda ise 16-60 dakikalar arasında (%93.11-93.41) tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Türk kekiği, *Origanum onites*, distilasyon, uçucu yağ

Influence of Distillation Methods, Times and Fractions on Essential Oil Contents and Compounds in Turkish Oregano (*Origanum onites* L.)

ABSTRACT: This research was carried out to determine the influence of the distillation methods, times and fractions on essential oil yield and composition of Turkish oregano (*Origanum onites* L.) at Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops in 2014. In the study, two different distillation methods (water and steam), six different distillation times (15, 30, 60, 90, 120 and 150 minutes) and six different fraction slices (0-15, 16-30, 31-60, 61-90 91-120 and 121-150 minutes) were applied using pilot type distillation stills. The essential oil content and compounds were significantly affected by these applications ($p<0.01$). Steam distillation gave higher essential oil yield than water distillation. In both methods, the maximum percentages of essential oil were obtained from the distillation time in 150 minutes (4.60% in water distillation and 5.11% in steam distillation), and from the distillation fraction at 16-30 minutes (31.60% in water distillation and 35.77% in steam distillation as the rates in the total). The highest rates of carvacrol, which was the main component of oregano oil, were obtained by water distillation (between 93.91 and 94.60%) at 16-120 minutes and by steam distillation (between 93.11 and 93.41%) at 16-60 minutes during the distillation process.

Keywords: Turkish oregano, *Origanum onites*, distillation, essential oil

¹Ümmü TUĞLU (Orcid ID: 0000-0002-7580-8480), Hasan BAYDAR (Orcid ID: 0000-0003-1317-2066), Sabri ERBAŞ (Orcid ID: 0000-0003-0691-6127), Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ümmü TUĞLU, e-mail: ummutuglu123@gmail.com

GİRİŞ

Kekik, *Lamiaceae* familyasından Çalimsı formda çok yıllık bir tıbbi ve aromatik bitkidir. Kekik olarak tanımlanan ve bu amaçla kullanılan pek çok tür arasında özellikle uçucu yağında karvakrol/timol uçucu yağ bileşenleri bulunduranlar “kekik” olarak adlandırılmaktadır. Türkiye florasında yayılış gösteren kekik türleri *Origanum*, *Thymus*, *Satureja* ve *Thymbra* cinslerine aittir. Bu türlerin çoğunluğu otsu ve bazısı çalimsı, çoğunluğu çok yıllık ve bazısı tek yıllık (*Satureja hortensis* gibi) bitkilerdir. Türkiye’de kekik olarak en fazla *Origanum* türlerinden ekonomik olarak yararlanılmaktadır. Türkiye florasında *Origanum* cinsi 27 tür ve 31 tksonla temsil edilmekte olup tür bazında %67’si ve takson bazında %58’i endemiktir (Celep ve Dirmenci, 2017). Özellikle Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yayılış gösteren İzmir kekiği (*O. onites*), İstanbul kekiği (*O. vulgare* ssp. *hirtum*), Sütçüler kekiği (*O. minutiflorum*), Alanya kekiği (*O. majorana*, syn. *O. dubium*) ve Suriye kekiği (*O. syriacum* var. *bevanii*) ticari olarak büyük önem taşımaktadır (Baydar, 2019).

Kekiğin ticari olan en önemli endüstriyel ürünü uçucu yağıdır. Monoterpen ve bazı seskiterpen moleküllerinden oluşan kekik yağı, Türkiye uçucu yağ ihracatında miktar olarak ilk sırada ve değer olarak gül yağından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Genel olarak *Origanum*, *Thymbra* ve *Satureja* türü kekiklerin uçucu yağlarında karvakrol, *Thymus* türü kekiklerin uçucu yağında ise timol daha yüksek oranlarda bulunur (Başer ve Kırmıner, 2018). Kekiğin taze olarak tüm toprak üstü organları kullanılır ise de drog ve baharat olarak en fazla yapraklarından faydalanılmaktadır. Kekik yapraklarında ASTA standartlarına göre en az %2, Avrupa Farmakopesine göre ise en az %1 oranında uçucu yağ içermesi istenmektedir. Kekik, uçucu yağı dışında ayrıca çok değerli bir baharat ürünüdür. Kurutulmuş ve öğütülmüş kekik yaprakları baharat olarak özellikle et yemeklerine, pizzalara, çorbalara, salatalara ve soslara katılmaktadır. Herbal çay olarak ise geleneksel tıpta özellikle üşütme, grip, halsizlik, mide rahatsızlıkları ve sindirim sorunlarına karşı faydalanılmaktadır. Kekik yağı, içerdiği yüksek oranlardaki karvakrol ve timol bileşenleri nedeniyle antimikrobiyal ve antioksidan etkisi oldukça yüksektir (Baydar ve ark., 2004; Özkan ve ark., 2010; Chishti ve ark., 2013).

Kekik bitkisinin en değerli sekonder metaboliti terpenoitler olup Türkiye’de yayılış gösteren ticari *Origanum* türlerinin uçucu (eterik) yağ içerikleri %0.2-6.4 arasında değiştiği rapor edilmektedir (Başer, 1994). Yabani olarak kontrolsüz ve yoğun bir şekilde yapılan toplamalar kekiğin kültüre alınmasını zorunlu hale getirmiştir (Baydar, 2014). Türkiye genelinde son 20 yılda çok hızlı bir artışla 2020 yılında toplam kekik üretim (kültür) alanı 18.5 bin hektarı ve yıllık kültür kekiği üretimi 23.9 bin tonu bulmuştur (TUİK, 2021) Türkiye’de birçok ilde tarımı yapılan kekiğin en önemli iki kültür türü İzmir kekiğinin (*Origanum onites*) ve Manisa ilinde İstanbul kekiği (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*)’dir. Türkiye’de kültür kekiği üretim alanlarının %90’ı Denizli ilinde yer almakta ve bu ilin sulanmayan verimsiz ve kıraç topraklarında üretilen İzmir kekiğinin uçucu yağ oranı %2.5-5.0, karvakrol oranı %70-80, yaprak oranı %13-29, çiçek oranı %37-66 ve sap oranı %21-41 arasında değişmektedir (Baydar ve Arabacı, 2013).

Kekik yağı geleneksel olarak imbikte su distilasyonu yöntemi ile ve endüstriyel olarak damıtma kazanında buhar distilasyonu yöntemi ile üretilmektedir. Damıtma (distilasyon), etkin bir ayırma ve saflaştırma tekniği olarak pratikte en fazla aromatik bitkilerden uçucu yağların ve aromatik suların elde edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Damıtmada çözücü veya sürükleyici olarak su ve/veya su buharının kullanıldığı başlıca üç yöntem vardır: (1) suyla damıtma (su distilasyonu), (2) buharla damıtma (buhar distilasyonu) ve (3) su ve buharla damıtma (su ve buhar distilasyonu). Endüstriyel olarak uçucu yağ (eterik yağ) ve aromatik su (hidrosol) üretiminde kullanılan her üç damıtma

yönteminde birbirini takip eden dört temel adım; (1) aromatik ürünün su veya su buharı ile kaynatılması, (2) uçucu yağların su buharı ile sürüklenmesi, (3) soğutucuda yoğunlaşmanın gerçekleşmesi ve (4) uçucu yağ ve aromatik suyun ayrışmasıdır (Baydar, 2019). Uçucu yağ verimi ve kalitesi üzerine distilasyon yöntemi, damıtma süresi, buhar sıcaklığı ve basıncı, kondenser sıcaklığı, distilat akış hızı gibi faktörler önemli etkide bulunmaktadır. Distilasyon prosesine etki eden faktörler modifiye veya optimize edilerek pazar talebi ve uygulama alanına göre farklı kalitelerde uçucu yağlar üretilmektedir. Bu araştırma, İzmir kekiği olarak bilinen Türk kekiğinin (*Origanum onites* L.) farklı distilasyon yöntemleri ile distilasyon süresi ve fraksiyon dilimlerinin uçucu yağ verimi ve kompozisyonu üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde 2014 yılında yürütülen bu çalışmada materyal olarak Denizli ilinin Gözler kasabasında kültürü yapılan İzmir kekiği (*Origanum onites* L.) türünün tam çiçeklenme döneminde (Temmuz ayının ortası) biçilerek gölgede doğal olarak kurutulmuş yaprakları kullanılmıştır. Kuru yaprak örnekleri su ve buhar distilasyonu olmak üzere iki farklı şekilde damıtılmıştır. Damıtma işlemi, Dünder Makine Ltd. Şti (Senir/Isparta) tarafından çelikten özel olarak imal edilmiş su ve buhar damıtma sistemine uygun pilot tip kazanda yapılmıştır. Damıtma kazanı içerisine 2.5 kg kekik konularak üzerine 10 L su ilave edilerek su distilasyonu, aynı miktar kekik yaprağından sıcak su buharı geçirilerek buhar distilasyonu yapılmıştır. Su distilasyonu için kuru yapraklar suyla birlikte 100 °C'de kaynatılırken, buhar distilasyonunda damıtma kazanının altında su ceketini oluşturularak delikli ızgaranın üzerine konan kuru yapraklara direkt sıcak buhar verilmiştir. Her iki yöntemde de buhar ile birlikte sürüklenen kondenserde yoğunlaşan uçucu yağlar florentin kabında aromatik suyun üzerinde birikmiş ve üst fazda bulunan kekik yağı miktarı % (v/w) olarak ölçülmüştür. Her iki damıtma yönteminde 15, 30, 60, 90, 120 ve 150 dakika olmak üzere 6 farklı distilasyon süresi uygulanmış, ayrıca toplam 150 dakika uygulanan damıtma süresi boyunca 0-15, 16-30, 31-60, 61-90, 91-120 ve 121-150 dakika aralıklarında kazanılan uçucu yağlar ayrıştırılarak 6 farklı fraksiyon dilimi elde edilmiştir. Uçucu yağların bileşenleri belirleninceye kadar + 4 °C'de karanlık ortamda depolanmıştır.

Elde edilen uçucu yağların bileşen analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında bulunan GC/MS (QP 5050 gas chromatography/mass spectrometry) cihazında yapılmıştır. GC/MS analizi aşağıda belirtilen koşullara göre yapılmıştır; Kolon olarak CP-Wax 52 CB (50 m × 0.32 mm; film thickness = 0.25 µm) kullanılmıştır. Fırın sıcaklık programı: 60 °C'den 220 °C'ye dakikada 10 °C artırılarak çıkartılmış ve 220 °C'de 10 dakika bekletilmiştir. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı 240 °C, detektör sıcaklığı 250 °C, detektör enerji akışı 70 eV, iyonlaştırma türü: EI, taşıyıcı gaz: helyum (20 ml/dk) ve akış hızı 10 psi olarak ayarlanmıştır. Uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesinde Wiley, Nist, Tutor kütüphaneleri kullanılmıştır. Numuneler 7.5 µl uçucu yağ üzerine 1500 µl diklorometan katılarak hazırlanmıştır. Su ve buhar distilasyonundan elde edilen uçucu yağ oranlarına ilişkin veriler varyans analizi tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak SAS (1998) istatistik paket programında değerlendirilmiş ve ortalamalarına ait farklılıkların belirlenmesinde LSD (Least Significant Difference) testi kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Su ve buhar distilasyonu yöntemlerinde distilasyon süresinin uçucu yağ oranı ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisi Çizelge 1'de sunulmuştur. Kekik uçucu yağ oranı üzerine su ve buhar

distilasyon yöntemlerinin ve her iki yöntemde uygulanan farklı distilasyon sürelerinin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p \leq 0.01$) bulunmuştur. Her iki distilasyon yönteminde de damıtma süresi uzadıkça uçucu yağ verimi artış göstermiştir. Su distilasyonuna göre buhar distilasyonundan daha yüksek uçucu yağ verimi kazanılmıştır. Buhar distilasyonu yöntemi, su distilasyon yöntemine göre bütün distilasyon sürelerinde oransal olarak daha fazla uçucu yağ verimi vermiştir. Her iki yöntemde de en yüksek uçucu yağ oranları 150 dakikalık damıtma süresinde elde edilmiştir. Su ve buhar distilasyonunda damıtma süresi 15 dakika tutulduğunda uçucu yağ verimi sırasıyla %0.16 ve %0.20 olurken, damıtma süresi 150 dakika tutulduğunda uçucu yağ verimi sırasıyla %4.60 ve % 5.11 oranına ulaşmıştır (Çizelge 1). Kekik üzerine distilasyon süresi ile ilgili çalışmalarda en yüksek uçucu yağ verimi 60 dakika (Sadja ve ark., 2012) ve 240 dakika (Zheljzkov ve ark., 2012a) arasında elde edilmiştir. Her ne kadar geleneksel damıtma süresi 2 saat olarak uygulanmakla birlikte, yaptığımız bu araştırmada maksimum 150 dakikalık distilasyon süresinin uzatılarak uçucu yağ veriminin artıp artmayacağı üzerine ayrıca bir araştırma yapılmasının yararlı olacağı öngörülmüştür.

Çizelge 1. Distilasyon süresinin uçucu yağ oranı (%) üzerine etkisi ve uçucu yağ bileşenleri oranları (%)

Distilasyon yöntemi	Distilasyon süresi (dakika)	Uçucu yağ oranı (%)	Uçucu yağ bileşenleri (%)					
			δ -terpinen	Simen	Linalool	Isoborneol	Mirsen	Karvakrol
Su Distilasyonu	15	0.16 f*	2.25	2.70	0.93	1.87	0.00	92.25
	30	0.69 e	3.26	3.13	1.24	1.59	0.00	90.78
	60	1.43 d	2.76	2.36	0.34	1.14	0.81	92.59
	90	2.34 c	1.68	2.88	0.94	1.35	0.00	93.15
	120	3.42 b	1.36	3.66	0.87	1.54	0.00	92.57
	150	4.60 a	1.55	4.01	1.51	1.54	0.00	91.39
	Ortalama	2.11 B	2.14	3.12	0.97	1.51	0.20	92.12
Buhar Distilasyonu	15	0.20 f	1.81	3.13	0.44	2.95	0.00	91.67
	30	0.84 e	1.85	4.22	1.02	1.42	0.43	91.06
	60	1.68 d	2.01	4.05	1.31	1.53	0.00	91.10
	90	2.70 c	2.94	5.64	1.45	1.16	0.53	88.28
	120	3.86 b	1.63	3.69	1.46	1.46	0.89	90.87
	150	5.11 a	2.43	3.83	1.17	0.83	0.67	91.07
	Ortalama	2.40 A	2.11	4.09	1.14	1.55	0.63	90.97

*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.01$ ihtimal seviyesinde önemli değildir.

Su distilasyonu, kaynatmakla fiziksel ve kimyasal özellikleri fazla değişmeyen uçucu yağların elde edilmesinde uygulanan bir damıtma yöntemi olup diğer damıtma yöntemlerine göre uygulaması daha ekonomik ve daha pratiktir. Ayrıca petrokimyasallar kullanılmadığından elde edilen ürünler son derece sağlıklı ve natürel olup organik ürün olarak sertifikalandırılmaktadır. Su distilasyonunun sayılan pek çok avantajları olmakla birlikte bazı olumsuz yönleri de vardır. Kaynama sırasında ısının aşırı yükselmesi ve suyun pH'sının düşmesi nedeniyle bazı esterler kısmen hidrolize ve bazı aldehytlar ve asiklik monoterenler kısmen polimerize olurlar. Bir diğer olumsuzluk da suda çözünebilir bazı fenoller ile alkolik terpenlerin uçucu yağ fazına değil su fazına geçmesidir (Baydar ve ark., 2008; 2013).

Buhar distilasyonunun su distilasyonuna göre en önemli avantajı sıcaklığın ve basıncın kontrol altında tutularak daha kısa sürede distilasyon işleminin tamamlanabilmesidir. Bu sayede damıtma süresinde koku molekülleri uzun süre yüksek ısıya maruz kalmayarak dekompozisyon nispeten önlenmektedir. Ayrıca diğer distilasyon yöntemlerine göre damıtma süresi daha kısa, uçucu yağ verimi daha fazladır (Baydar, 2020). Kekik yapraklarında üst ve alt epidermis tabakaları üzerinde oluşan glandlı ve glandsız trichome hücreleri yüksek basınç etkisiyle patlatır. Açığa çıkan uçucu yağlar su buharıyla birlikte yoğunlaşacağı kondensere kadar sürüklenir ve daha sonra florentin tankında üst fazda toplanarak ayrılır.

Bu araştırmada, kekik yapraklarından aynı koşullarda su distilasyonu ile damıtıldığında ortalama %2.11 oranında, buhar distilasyon yöntemiyle damıtıldığında %2.4 oranında uçucu yağ verimi elde

edilmiştir (Çizelge 1). Uçucu yağ verimi ve kalitesi üzerine sadece damıtma süresinin değil damıtma kazanlarında uygulanan basıncın ve sıcaklığın da önemli etkisi vardır, Örneğin yağ gülü (*Rosa damascena*) çiçekleri normal atmosfer basıncından (760 mm Hg) daha yüksek basınç altında damıtıldığında sitronellol, geraniol ve nerol gibi alkolik bileşenlerin oranları artarken steareptenler ve parafinlerin oranları azalmıştır (Babu ve ark., 2002), Geleneksel olarak imbiklerde yapılan su distilasyonunda düşük basınç altında damıtma yapıldığından damıtma süresi uzamaktadır (Başer ve ark., 1990).

Bu araştırmada, su ve buhar distilasyonu yöntemleriyle elde edilen İzmir kekiği uçucu yağ bileşenlerinin GC/MS analizi geliş sırasına göre δ -terpinen, simen, linalool, isoborneol, mirsen ve karvakrol olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Genel ortalamalar yönüyle dikkate alındığında buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlarda simen, linalool, ve mirsen, su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağlarda ise karvakrol daha yüksek oranlarda tespit edilirken, δ -terpinen ve isoborneol bakımından her iki distilasyon yöntemi arasında kayda değer bir farklılık olmamıştır. Karvakrol oranı su distilasyonunda 90 dakika damıtma süresinde en yüksek (%93.15), buhar distilasyonunda ise aynı sürede en düşük (%88.28) oranda tespit edilmiştir (Çizelge 1). Olası deneysel hatalar da katıldığında, 15, 30, 60, 90, 120 ve 150 dakika uygulanan farklı damıtma sürelerinin karvakrol oranı üzerine önemli bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Distilasyon süresi ile ilgili yapılan çalışmalarda Baydar ve ark., (2008), yağ gülünde (*Rosa damascena*) uygulanan farklı su distilasyonu süreleri (30-180 dakika) arasında damıtma süresini 150 dakika kadar uzatılmasının uçucu yağ verimini arttırdığını, ancak ekonomik olarak 90-120 dakikanın yeterli olacağını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar damıtma süresi uzadıkça gül yağında sitronellol ve metil öjenol oranları artarken, geraniol oranlarının azaldığı tespit edilmiştir. Zheljzakov ve ark., (2012a) tarafından yapılan bir araştırmada, kekikte (*Origanum vulgare*) damıtma süresi uzadıkça uçucu yağ veriminin de artış (%0.1'den %2.3'e) gösterdiği, farklı buhar distilasyonu süreleri (1.25-360 dakika) arasında en yüksek uçucu yağ veriminin 240 dakikalık sürede elde edildiği bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar karvakrol oranının damıtma süresi uzunluğuna paralel olarak artış (%17.9'dan %81.8'e) gösterdiğini, ancak damıtma süresi 40 dakika ve sonrasında karvakrol oranını önemli şekilde etkilenmediğini açıklamışlardır.

Zheljzakov ve Astatkie (2012b) tarafından nanede (*Mentha canadensis*) farklı sürelerde (1.25-160 dakika) uygulanan buhar distilasyonunda en yüksek uçucu yağ verimi 80 dakikalık uygulamada elde edilmiş (%0.4'ten %1.1'e çıkmıştır), damıtma süresi uzadıkça mentol oranı %74.3 ten %79.0'a çıkarken, menton oranı %6.3'ten %4.3'e düşmüştür. Zheljzakov ve ark., (2013) tarafından lavantada (*Lavandula angustifolia*) damıtma süresi (1.5-240 dakika) üzerinde yapılan bir diğer araştırmada, damıtma süresine bağlı olarak uçucu yağ verimi %0.5'ten %6.8'e ve linalil asetat oranı %15.0'ten %37.3'e artış gösterirken, sineol oranı %34.5'ten %6.8'e azalış göstermiştir.

Gölükçü ve ark., (2018) farklı su distilasyonu sürelerinin (10, 20, 30, 60 ve 120 dakika) defnenin (*Laurus nobilis*) taze yapraklarında uçucu yağ verimi ve bileşenleri üzerine olan olası etkilerini saptamak üzere yaptıkları çalışmada en yüksek uçucu yağ veriminin %1.75 ile 90 ve 120 dakikada elde edildiğini, defne uçucu yağının en önemli bileşeni olan 1,8-sineolün damıtma süresi uzadıkça düzenli olarak %79.4'ten %57.7'ye azalış gösterdiğini saptamışlardır. Aynı araştırmacılar toplam uçucu yağın ilk 30 dakikalık sürede %80'inin kazanıldığını bildirmişlerdir.

Cannon ve ark., (2013) tarafından nane (*Mentha piperita*), limonotu (*Cymbopogon flexuosus*) ve palmarosa (*Cymbopogon martinii*) uçucu yağ bileşenlerinin distilasyon süresine bağlı olarak uçucu yağ bileşimlerini incelemişler, damıtma süresini değiştirerek uçucu yağların özel pazar taleplerine göre

modifiye edilebileceğini açıklamışlardır. Örneğin damıtma süresi kısaltılarak geraniol oranı yüksek palmarosa yağı, damıtma süresi kısaltılarak menthofuran oranı düşük nane yağı ve neral oranı yüksek limonotu yağı üretilebileceğini ifade etmişlerdir.

Çizelge 2. Su ve buhar distilasyonunda farklı fraksiyon dilimlerinde kazanılan uçucu yağ ve bileşen oranları

Distilasyon Yöntemi	Fraksiyonlar (dakika)	Uçucu yağ (toplamda %)	Uçucu yağ bileşenleri (%)					
			δ -terpinen	Simen	Linalool	Isoborneol	Mirsen	Karvakrol
Su Distilasyonu	0-15	13.72 bc*	2.25	2.70	0.93	1.87	0.00	92.25
	16-30	31.60 a	1.72	2.19	1.15	0.94	0.00	94.00
	31-60	17.94 b	1.53	1.29	1.25	1.13	0.49	94.31
	61-90	14.53 b	1.82	2.07	0.70	1.50	0.00	93.91
	91-120	13.67 bc	1.65	2.30	0.28	1.17	0.00	94.60
	121-150	8.54 c	2.53	2.58	1.40	1.01	0.00	92.48
	Toplam/Ortalama	100	1.91	2.18	0.95	1.27	0.08	93.59
Buhar Distilasyonu	0-15	16.26 b	1.81	3.13	0.44	2.95	0.00	91.67
	16-30	35.77 a	2.93	2.36	0.31	0.99	0.00	93.41
	31-60	16.26 b	2.44	2.74	0.69	1.02	0.00	93.11
	61-90	14.63 bc	2.50	2.34	1.26	1.43	0.72	91.75
	91-120	10.57 cd	4.61	3.50	0.95	1.43	0.00	89.51
	121-150	6.50 d	4.11	3.37	1.65	1.71	0.00	89.16
	Toplam/Ortalama	100	3.07	2.91	0.88	1.59	0.12	91.44

*Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.01$ ihtimal seviyesinde önemli değildir.

Su ve buhar distilasyonunda farklı fraksiyon dilimlerinde kazanılan uçucu yağ ve bileşen oranları Çizelge 2’de verilmiştir. Genel olarak ilk 30 dakika içinde uçucu yağ kazanımı buhar distilasyonunda daha yüksek olmuş, örneğin 0-15 dakikalık ilk dilimde toplamda kazanılan uçucu yağın oranı su distilasyonunda %13.72 buhar distilasyonunda ise %16.26 olarak gerçekleşmiştir. Yine 16-30 dakika olan ikinci dilimde kazanılan uçucu yağın oranı su ve buhar distilasyonu için sırasıyla %31.60 ve %35.77 olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Sonuç olarak buhar distilasyonu su distilasyonuna göre damıtma süresini kısaltarak daha ilk zaman dilimlerinde daha fazla uçucu yağın yoğunlaşarak birikmesine neden olmaktadır. Boutekedjiret ve ark., (2003) tarafından biberiye (*Rosmarinus officinalis*) yaprakları buhar distilasyonu ile damıtıldığında %1.2 ve su distilasyonu ile damıtıldığında %0.4 oranında uçucu yağ verimi elde edilmiş, buhar distilasyonunda 10 dakika içinde uçucu yağın %80’i kazanılırken, aynı miktar uçucu yağın kazanılması için su distilasyonunda 30 dakikaya ihtiyaç duyulmuştur.

Farklı fraksiyon dilimlerinde mirsen dışındaki diğer bileşenler her fraksiyon diliminde ortaya çıkarken, mirsen su distilasyonunda sadece 31-60 dakikalık dilimde, buhar distilasyonunda ise sadece 61-90 dakikalık dilimde ortaya çıkmıştır. Kekik yağının temel bileşeni olan karvakrol distilasyon fraksiyonlarına göre çok belirgin bir değişiklik göstermemiş, ancak su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda 16-120. dakikalar arasında (%93.91-94.60), buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda ise 16-60. dakikalar arasında (%93.11-93.41) daha yüksek oranlarda tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Anadolu adaçayının (*Salvia fruticosa*) kuru yaprakları 240 dakika süreyle damıtılmış, her 15 dakikada bir toplanan uçucu yağın miktarı ve bileşenleri tespit edilmiştir, Toplam uçucu yağ miktarının %90’ı ilk 60 dakika içinde kazanılmıştır, İlk 15 dakikada gelen uçucu yağın 1,8-sineol oranı %63 iken 240 dakika sonunda elde edilen uçucu yağın 1,8-sineol oranı %8 olarak tespit edilmiştir, Damıtma süresi uzadıkça 1,8-sineol oranı sürekli azalırken β -karyofillen oranı sürekli yükselmiştir (Başer, 2000). Rostro-Alanis ve ark., (2019) tarafından *Poliomintha longiflora* bitkisinde farklı sıcaklık derecelerinde (82, 100, 120 ve 140 °C) yapılan vakumlu fraksiyonel distilasyon işlemlerinde en yüksek karvakrol oranları (>%60) 120 °C’den itibaren uygulanan fraksiyonlarda tespit edilmiş, kaynama noktası giderek arttırılan ileri fraksiyon dilimlerinde daha fazla oranda karvakrol tespit

edilmiştir. Bizim araştırmamızda, ister su isterse buhar distilasyonu olsun damıtma kazanlarındaki suyun ve buharın sıcaklığı daha damıtma başlamadan önce 100 °C'nin üzerine çıktığından bütün fraksiyon dilimlerinde karvakrol oranı yüksek oranlarda (su distilasyonunda %92-25-94.60 ve buhar distilasyonunda %89.16-93.41) bulunmuştur.

Zheljzkov ve ark., (2012a) kekikte (*Origanum vulgare*) kaynama derecesi 183 °C olan γ -terpinenin 40. dakikaya kadar artış gösterirken daha sonraki sürelerde değişmediğini, ancak kaynama derecesi 238 °C olan karvakrolün daha ileri seviyelerde artışını sürdürdüğünü bildirmişlerdir. Zheljzkov ve Astatkie (2012b), nanede (*Mentha canadensis*) ilerleyen distilasyon sürelerinde kaynama noktası 212 °C olan mentol oranının %74.3'ten %79.0'a artarken kaynama noktası 207 °C olan menton oranının %6.3'ten %4.3'e azaldığını tespit etmişlerdir. Kara ve Baydar (2013) lavantada (*Lavandula intermedia*) kaynama derecesi 198 °C olan linalool ilerleyen fraksiyon dilimlerinde oranı sürekli azalırken (%51.3'ten %18'2'ye) kaynama derecesi 220 °C olan linalil asetat %28.2'den %34.4'e artış göstermiştir.

Sonuç olarak, uçucu yağ moleküllerinin farklı dilimlerde fraksiyonlanması her bir bileşenin diğerlerinden ayıran başta kaynama derecesi olmak üzere moleküler ağırlığı, yoğunluğu ve polaritesi (suda çözünürlüğü) gibi parametrelerden kaynaklanmaktadır. Örneğin damıtma sürecinde düşük kaynama derecesine sahip olan ve suda çözünürlüğü fazla olan uçucu yağ molekülleri, yüksek kaynama derecesine sahip olan ve suda çözünürlüğü düşük olan uçucu yağ moleküllerine göre daha erken kazanılmaktadır.

SONUÇ

Türkiye'de kültür koşullarında yetiştirilen İzmir kekiğinde (*Origanum onites* L.) farklı distilasyon yöntemlerinin, farklı damıtma sürelerinin ve farklı distilasyon fraksiyonlarının uçucu yağ verimi ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla yürütülen bu araştırmada, damıtma süresinin uçucu yağ verimi üzerine etkili olduğu, ancak uçucu yağ bileşenleri üzerine belirgin bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Distilasyonun ilk 60 dakikasında, 150 dakika sonunda kazanılan toplam uçucu yağ miktarının su distilasyonunda %63.26'sı ve buhar distilasyonunda %68.29'u kazanılmıştır. Kekik yağının temel bileşeni olan karvakrolün en yüksek oranları su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda 16-120 dakikalar arasında (%93.91-94.60), buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağda ise 16-60 dakikalar arasında (%93.11-93.41) tespit edilmiştir. Sonuç olarak kekik için en uygun distilasyon yönteminin buhar distilasyonu olduğu anlaşılmıştır. Her ne kadar uçucu yağ verimi 150 dakikaya kadar artış göstermiş olmakla birlikte ekonomik analizler yapılarak zaman ve enerji tasarrufu bakımından 120 dakikaya kadar düşürülebileceği öngörülmüştür.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

- Babu KG, Singh BS, Joshi PJ, Singh V, 2002. Essential oil Composition of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) Distilled under Different Pressures and Temperatures, *Flavour Fragr J*, 17: 136-140.
- Başer KHC, 1994. Essential Oils of Lamiaceae from Turkey: Recent Results. *Lamiales Newsletter* 3: 6-11.
- Başer K, Kırmır N, 2018. Essential Oils of Anatolian Lamiaceae - An Update, *Natural Volatiles and Essential Oils*, 5(4), 1-28.

- Başer KH, Kürkçüoğlu M, Konur OZ, 1990. Türk Gül Yağının Üretimi ve Özellikleri, Anadolu Üniversitesi, TBAM Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni Gül Özel Sayısı 4: 13-15.
- Başer KH, 2000. Sage, VII, Commercial Aspects 19, Production of Salvia Oil in Mediterranean Countries, Harwood Academic Publishers, pages 263-268.
- Baydar H, 2014. Denizli'de Kekik Tarımı, Harman Time 14: 58-62.
- Baydar H, 2020. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi, Nobel Akademik Yayıncılık, 8. Basım, pp. 77-86, Ankara.
- Baydar H, Arabacı O, 2013. Türkiye'nin Kekik Üretim Merkezi Olan Denizli'de Kültür Kekikinin (*Origanum onites* L.) Tarımsal ve Teknolojik Özellikleri. 10. Tarla Bitkileri Kongresi, 10-13 Eylül 2013, Konya.
- Baydar H, Sağdıç O, Özkan G, Karadoğan T, 2004. Antibacterial Activity and Composition of Essential Oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* Species with Commercial Importance in Turkey. Food Control 15: 169-172.
- Baydar H, Sangün MK, Erbaş S, Kara N, 2013. Comparison of Aroma Compounds in Distilled and Extracted Products of Sage (*Salvia officinalis* L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants 16(1): 39-44.
- Baydar H, Schulz H, Krüger H, Erbaş S, Kineci S, 2008. Influences of Fermentation Time, Hydro-Distillation Time and Fractions on Essential Oil Composition of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.). JEOP 11(3): 224-232.
- Boutedkjiret C, Bentahar F, Belabbes R, Bessiere JM, 2003. Extraction of Rosemary Essential Oil by Steam Distillation and Hydrodistillation. Flavour Fragr J 18: 481-484.
- Cannon JB, Cantrella CL, Astatkie T, Zheljzakov VD, 2013. Modification of Yield and Composition of Essential Oils by Distillation Time. Industrial Crops and Products 41 (2013): 214-220.
- Celep F, Dirmenci T, 2017. Systematic and Bio-geographic Overview of Lamiaceae in Turkey. Natural Volatiles and Essential Oils 4(4): 14-27.
- Chishti S, Kaloo ZA, Sultan P, 2013. Medicinal Importance of Genus Origanum: A Review. J. Pharmacognosy Phytother 5(10): 170-177.
- Gölküçü M, Tokgöz H, Yıldız D, 2018. Defne (*Laurus nobilis*) Uçucu Yağ Bileşimi Üzerine Distilasyon Süresinin Etkisi. Food and Health 4(1): 37-42.
- Kara N, Baydar H, 2013. Influence of Distillation Time and Fractions on Essential Oil Content and Composition of Lavandin (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Lois). Research on Crops 14(4): 1128-1134.
- Özkan G, Baydar H, Erbaş S, 2010. The Influence of Harvest Time on Essential Oil Composition, Phenolic Constituents and Antioxidant Properties of Turkish Oregano (*Origanum onites* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 90: 205-209.
- Rostro-Alanis MJ, Báez-González J, Torres-Alvarez C, Parra-Saldívar R, Rodriguez-Rodriguez J, Castillo S, 2019. Chemical Composition and Biological Activities of Oregano Essential Oil and its Fractions Obtained by Vacuum Distillation. Molecules (Basel, Switzerland) 24(10): 1904.
- Sadjia B, Naima S, Chahrazed B, 2012. Extraction of Thyme (*Thymus pallezens* de Noé) Essential Oil by SteamDistillation, Steam-Diffusion and Hydro-Distillation Processes: Optimization of Operating Conditions and Antioxidant Activity. Jeobp 15(2): 336-347.
- TUİK, 2021. Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri, Baharat Bitkileri, www.tuik.gov.tr (Erişim Tarihi: 13.05.2021).
- Zheljzakov VD, Astatkie T, Schlegel V, 2012a. Distillation Time Changes *Oregano* Essential Oil Yields and Composition but not the Antioxidant or Antimicrobial Activities. HortScience 47(6): 777-784.
- Zheljzakov VD, Astatkie T, 2012b. Effect of Distillation Time on *Mentha Canadensis* Essential Oil Yield and Composition. HortScience 47(5) 643-647.
- Zheljzakov VD, Cantrell CL, Astatkie T, Jeliaskova E, 2013. Distillation Time Effect on Lavender Essential Oil Yield and Composition. J Oleo Sci 62(4):195-199.

Atf İçin: Akçay E, Tan M, 2021. Farklı Sulama Seviyelerinin Bazı Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Çeşitlerinde Kök ve Sürgün Gelişmesine Etkileri. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3203-3212.

To Cite: Akçay E, Tan M, 2021. Effects of Different Irrigation Levels on Shoot and Root Development of Some Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Genotypes. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3203-3212.

Farklı Sulama Seviyelerinin Bazı Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Çeşitlerinde Kök ve Sürgün Gelişmesine Etkileri

Emre AKÇAY¹, Mustafa TAN^{2*}

ÖZET: Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) kuraklık gibi olumsuz çevre şartlarına dayanıklı bir bitkidir. Ancak bu dayanıklılık genotiplere bağlı olarak değişmektedir. Bu araştırma farklı kinoa genotiplerinin sürgün ve kök büyümesi üzerine değişik sulama seviyelerinin etkisini belirlemek amacıyla planlanmıştır. Araştırma Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi seralarında tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Farklı orijinlere sahip 10 çeşit kullanılmış ve fide döneminde 5 farklı sulama seviyesi (tarla kapasitesinde sulama, tarla kapasitesinin %50, 25, 10 ve 5'i oranında sulama) uygulanmıştır. Uygulamaların etkilerini belirlemek için sürgün ve kök uzunluğu, sürgün ve kök kuru ağırlıkları, kök/sürgün oranları ve kuraklık tolerans değerleri belirlenmiştir. Kinoa kök ve sürgün gelişmesi çeşitlere ve sulama seviyelerine bağlı olarak önemli değişimler göstermiştir. Sulama seviyesi azaldıkça sürgün ve kök uzunlukları ile kuru ağırlıkları ve kurağa tolerans yüzdeleri düşmüştür. Kök/sürgün oranı ise tarla kapasitesinin %50'si seviyesindeki sulamada daha yüksek bulunmuştur. Su kısıtlamasına çeşitlerin tepkileri farklılık göstermiştir. Titicaca, Sandoval Mix, Moqu Arrochilla ve Mint Vanilla kuraklık tolerans yüzdesi yüksek olan çeşitler olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kinoa, *Chenopodium quinoa*, kuraklık, kök ve sürgün gelişmesi

Effects of Different Irrigation Levels on Shoot and Root Development of Some Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Genotypes

ABSTRACT: Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) is a plant resistant to adverse environmental conditions such as drought. However, this resistance varies depending on the genotypes. This research was planned to determine the effect of different irrigation levels on shoot and root growth of different quinoa genotypes. The research was carried out in three replications in Atatürk University Faculty of Agriculture greenhouses according to the completely randomized plots experimental design. 10 varieties with different origins were used and 5 different irrigation levels (irrigation at field capacity, irrigation at the rate of 50, 25, 10 and 5% of the field capacity) were applied during the seedling period. Shoot and root length, shoot and root dry weights, root/shoot ratios and drought tolerance values were determined to determine the effects of the applications. Root and shoot development in quinoa showed significant changes depending on the varieties and irrigation levels. Shoot and root lengths, dry weights and drought tolerance values decreased as the irrigation level decreased. Root/shoot ratio was found higher in irrigation at the level of 50% of the field capacity. The reactions of the varieties to water limitation differed. Titicaca, Sandoval Mix, Moqu Arrochilla and Mint Vanilla have been identified as varieties with high drought tolerance.

Keywords: Quinoa, *Chenopodium quinoa*, drought, shoot and root development

¹Emre AKÇAY ([Orcid ID: 0000 0002 8868 7825](https://orcid.org/0000-0002-8868-7825)) Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum, Türkiye

²Mustafa TAN ([Orcid ID: 0000-0001-7939-7087](https://orcid.org/0000-0001-7939-7087)), Trakya Üniversitesi Havsa Meslek Yüksekokulu, Havsa, Edirne, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mustafa TAN, e-mail: mustafatan@trakya.edu.tr

Bu çalışma Emre AKÇAY'ın Yüksek Lisans Tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Kuraklık dünyada tarımsal üretimi sınırlandıran en önemli abiyotik stres sorunlarından birisidir. Dünya tarım arazilerinin yaklaşık olarak %45'i sürekli olarak kuraklık stresine maruz kalmaktadır (Asraf ve Foolad, 2007). Bu nedenle yağışın yetersiz olduğu ve sulama yapılamayan yerlerde kurağa dayanıklı bitki yetiştiriciliği öne çıkmaktadır. Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) suyu çok etkili kullanan ve kurağa dayanıklılık gösteren bir türdür. Kurak ve yarı kurak bölgelere adaptasyonunda su stresine dayanıklılık sağlayan bazı mekanizmalara sahiptir (Jensen ve ark., 2000; Geren ve ark., 2014; Geren ve Geren, 2015; Tan ve Temel, 2019). Yüksek su kullanım etkinliğine sahip olduğundan 100-200 mm yağış alan yerlerde bile yetişebilir (Garcia ve ark., 2003, 2007; Bertero ve ark., 2004). Kuraklık ile birlikte bitkinin sapı lifli yapıya dönüşmekte, kök ise büyüyüp güçlenmektedir. Bitkinin sahip olduğu derin ve yoğun kök sistemi, kurak şartlarda transpirasyon alanını küçültmesi, dinamik stoma yapısı, kalın çeperli hücre duvarları ve özel kabarcıklı bezeler kuraklığa karşı geliştirmiş olduğu dayanıklılık mekanizmalarıdır (Bosque Sanchez ve ark., 2003; Jacobsen ve ark., 2003).

Kinoanın kurağa dayanıklılığı üzerine yapılan çalışmalarda bazı araştırmacılar verim ve bitkisel özelliklerin belirli bir seviyeye kadar kuraklıktan etkilenmediğini ileri sürmüşlerdir (Garcia ve ark., 2003; İncekaya, 2010). Buna karşılık birçok araştırmacı en iyi bitki gelişmesini su kısıtlaması yapılmayan uygulamalarda belirlemişlerdir (Geerts ve ark., 2008; Gonzales ve ark., 2009; Stikic ve ark., 2015). Geerts ve ark. (2008), Bolivya'da tam sulama ile dekara 204.0 kg, kısıtlı sulama ile 201.0 kg ve hiç sulanmayan koşullarda ise 168.0 kg tohum verimleri elde etmişlerdir. Kuraklığın olumsuz etkileri ortaya çıktığı gelişme dönemine bağlıdır. Çimlenme, çiçeklenme veya süt olum gibi hassas fenolojik evrelerde gerçekleşen kuraklık verimde önemli düşüşler yapmaktadır (Geerts ve ark., 2006). Kinoa kuraklığa toleransı etkileyen diğer bir faktör ise genotiptir. Raney ve ark. (2014) çeşitlerin kurağa toleranslarının farklı olduğunu bildirmişlerdir. Kinoanın Güney Amerika'da binlerce çeşit ve popülasyonu bulunmaktadır. Bu önemli genetik materyalin çevre şartlarına dayanıklılıklarının belirlenmesinde fayda vardır. Bu çerçevede planlanan bu çalışma farklı kaynaklardan temin edilen kinoa çeşit veya popülasyonlarının farklı sulama seviyelerine tepkilerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Araştırma 2015 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi seralarında saksı çalışması olarak yürütülmüştür. Çalışmada farklı kaynaklardan temin edilen 10 kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) çeşidi kullanılmıştır. Bu materyaller ve bazı özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Sera şartlarındaki deneme 25/15±5°C gündüz/gece sıcaklık rejiminde yürütülmüştür. Saksılar %10 oranında yanmış çiftlik gübresi karıştırılan bahçe toprağından 2'şer kg karışım doldurularak hazırlanmıştır. Yapılan analizlerde bu toprak karışımının tınlı yapıda, organik maddece zengin (%4.7), nötr karakterli (pH: 7.04), tuzsuz (toplam tuz: %0,032), kireç yönünden düşük (%0.72), alınabilir fosfor yönünden yeterli (4.20 ppm) seviyede olduğu belirlenmiştir.

Deneme sera koşullarında tesadüf parselleri deneme deseninde üç tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Her saksıya 10 adet tohum ekilmiş ve çıkıştan sonra 3 bitki kalacak şekilde seyreltilmiştir. Çıkıştan sonraki ilk 2 hafta bütün saksılar standart olarak tarla kapasitesinde sulanmıştır. İkinci haftadan sonra kontrol ile birlikte 5 farklı sulama seviyesi uygulanmıştır. Bu uygulamalar kontrol (tarla kapasitesinde sulama), tarla kapasitesinin %50'si (düşük kuraklık), %25'i (orta seviyede kuraklık), %10'u (yüksek seviyede kuraklık) ve %5'i (şiddetli kuraklık) şeklinde planlanmıştır. Saksılar her gün aynı saatte tartılarak eksilen miktar kadar su saksılara ilave edilmiştir. Böylelikle saksılar deneme boyunca hedeflenen tarla kapasitesi seviyesinde sabit olarak tutulmuştur.

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan kinoa çeşitleri ve bazı özellikleri

Çeşit/Popülasyon	Geldiği Yer	Kabuk Rengi
Titicaca	Danimarka	Beyazımsı-sarı
Rainbow	USA	Beyaz
Read Head	USA	Beyaz
Sandoval Mix	İngiltere	Krem
Cherry Vanilla	USA	Beyaz
French Vanilla	USA	Beyaz-krem
Mint Vanilla	USA	Parlak beyaz
Oro de Valle	USA	Sarımsı-kahve
Qhaslala Blanca	Peru	Krem
Moqu-Arochilla	Peru	Beyaz

Deneme kuraklık uygulamalarına başladıktan sekiz hafta sonra tamamlanarak sürgün ve kök uzunluğu, sürgün ve kök kuru ağırlığı, kök/sürgün oranı ve kurağa tolerans yüzdesi (KTY) belirlenmiştir (Bosque Sanchez ve ark., 2003; Gonzalez ve ark., 2009; Raney ve ark., 2014). Kurağa dayanıklılık testleri 150 saksıda (10 genotip x 3 tekrür x 5 uygulama) yapılmıştır. Kurağa tolerans yüzdesi aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesap edilmiştir.

$$KTY (\%) = (\text{Kuraklık uygulamasındaki bitki kuru ağırlığı} / \text{kontrol uygulamasındaki bitki kuru ağırlığı}) \times 100 \quad (1)$$

Bu çalışmada tarla kapasitesinin belirlenmesinde Earl (2003)'ın izlediği yöntem kullanılmıştır. Bunun için önce saksılara 80 °C'de 48 saat süreyle kurutulmuş 3 kg toprak konulmuştur. Sonra kuraklık uygulamalarını kalibre etmek için içerisine 3 kg kuru toprak konulmuş dört saksı su tutma kapasitesinin üzerinde sulanmış ve hemen ardından buharlaşma kayıplarını önlemek için saksıların üstü alüminyum folyo ile sıkıca kapatılmıştır. Fazla su tamamen drene olup saksılar sabit bir ağırlığa (tarla kapasitesine) ulaşmaya kadar beklenmiş ve saksıların tarla kapasitesinde tutmuş olduğu su miktarı aşağıda belirtildiği şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{Tarla kapasitesinde tutulan su miktarı (g saksı}^{-1}) = [\text{Tarla kapasitesindeki toprağın ağırlığı} - \text{kuru ağırlık (3 kg)}] \quad (2)$$

Çalışmadan elde edilen veriler MSTAT-C paket programı yardımıyla varyans analizine tabi tutulmuştur. İncelenen bütün parametrelerde varyasyon kaynaklarının tamamı önemli bulunmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar %5 seviyesinde LSD çoklu karşılaştırma testi kullanılarak gruplandırılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Sürgün Uzunluğu

Araştırmada elde edilen sonuçlara göre kinoada sürgün uzunluğu kuraklığın şiddetine ve çeşitlere bağlı olarak değişmiştir (Çizelge 2). Çeşitler arasında en uzun sürgün R. Head (36.6 cm), en kısa ise O. Valle çeşidinde (22.9 cm) belirlenmiştir. Tarla kapasitesinde sulanan bitkilerin sürgün uzunlukları 38.4 cm olarak ölçülmüştür. Sulama seviyesi tarla kapasitesinin %50, 25, 10 ve 5'i seviyesine düşürüldüğü zaman sürgün uzunlukları önemli seviyede azalmalarla 35.5, 28.6, 25.9 ve 20.2 cm'ye düşmüştür. Her bir seviyenin değeri istatistiksel olarak diğerlerinden farklı bulunmuştur. Araştırmada kinoa çeşitlerinin sürgün uzunlukları kuraklığın şiddetine bağlı olarak farklılıklar göstermiştir. Bu durum interaksiyonun önemli çıkmasına yol açmıştır. Genel olarak kuraklık şiddeti arttıkça bitkilerin sürgün uzunlukları azalmıştır. Fakat azalışlar bütün çeşitlerde aynı derecede olmamış, hatta bazı çeşitlerde dalgalanmalar görülmüştür. Örneğin C. Vanilla çeşidinde tarla kapasitesinde 33.3 cm olan sürgün uzunluğu %50

sulama seviyesinde düşme göstermemiş ve 33.9 cm olarak belirlenmiştir. Benzer bir durum Rainbow çeşidinde de görülmektedir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Kinoa çeşitlerinin farklı sulama uygulamalarında sürgün uzunlukları (cm)

Çeşitler (Ç)	Sulama Seviyesi (S) (Tarla Kapasitesinin %'si)					Ortalama*
	100	50	25	10	5	
R. Head	49.0	43.8	35.4	30.3	24.7	36.6 A
S. Mix	41.7	35.8	34.6	28.8	26.2	33.4 B
Titicaca	38.3	35.3	32.9	30.3	24.4	32.3 B
Rainbow	39.0	35.2	29.8	30.9	23.7	31.7 B
M. Vanilla	41.8	41.5	27.9	24.7	18.9	30.9 BC
M. Arochilla	34.9	34.8	26.7	24.6	21.1	28.4 CD
F. Vanilla	35.5	33.5	28.3	26.0	15.8	27.8 D
Q. Blanca	37.5	36.4	24.8	19.8	15.1	26.7 D
C. Vanilla	33.3	33.9	24.2	24.0	16.7	26.4 D
O. Valle	33.2	24.9	21.2	20.0	15.0	22.9 E
Ortalama*	38.4 A	35.5 B	28.6 C	25.9 D	20.2 E	29.7

LSD Ç: 2.8, S: 1.7, Ç x S: 6.5

* Değişik harfle işaretlenen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır

Bitkilerde belirli bir süre içerisinde kaybedilen suyun, alınan su miktarından fazla olması durumunda kuraklığın etkileri ortaya çıkmaya başlar. Su miktarı azalan dokular arasında suyun paylaşımı için rekabet başlar. Başka bir ifadeyle bitki dokuları arasındaki su dengesi bozulur. Stres durumunda turgor kaybı nedeniyle hücre büyümesi olumsuz olarak etkilendiğinden hücreler küçük kalırlar. Bu nedenle sürgün veya kök kısalması görülür. Bitkiler kuraklık ve benzeri stres şartlarında öncelikli olarak topraküstü yeni dokularının oluşumunu durdurarak tepki verirler. Bu durum genotiplere bağlı olarak farklılıklar gösterir (Raney ve ark., 2014). Bu çalışmada da azalan sulama ile birlikte kinoalarda sürgün uzunlukları doğrusala yakın seviyede azalmıştır. Fakat bazı çeşitlerde azalma daha yavaş ve dalgalı gerçekleşmiştir. Yang ve ark. (2016) ile Razzaghi ve ark. (2020) kinoada su kısıtlaması ile sürgün ağırlığı ve bitki boyunun azaldığını belirlemişlerdir. Kuraklık ile bitki boyunun kısaldığını Stikic ve ark. (2015) da belirlemişlerdir.

Kök Uzunluğu

Çalışmada farklı kuraklık uygulamalarından elde edilen sonuçlara göre kinoa çeşitlerinin kök uzunluğu önemli farklılık göstererek en yüksek 23.0 cm (Titicaca) ile en düşük 10.8 cm (M. Vanilla) arasında değişmiştir (Çizelge 3). Kuraklığın şiddeti arttıkça kök uzunluğunda azalma gerçekleşmiş, ancak bu azalma %50 seviyesinden sonra önemli bulunmuştur. Daha şiddetli kuraklıkta azalma devam etse de istatistiksel olarak önemli olmamıştır. Çeşitlerin sulama uygulamalarına verdiği tepkiler farklılık göstermiştir. Kuraklığın şiddeti arttıkça çeşitlerin kök uzunluğu genel olarak azalmamıştır, fakat bazı çeşitlerde artış ve düşüşlerin olduğu görülmektedir.

Bitkiler kuraklık gibi bir stres ortamında bazı tepkiler vererek bu şartlara uyum sağlamaya çalışırlar. Kök uzaması özellikle erken dönemlerde kuraklıkla birlikte yavaşlar (Szira ve ark., 2008), fakat daha sonra bitkinin kurak ortamda su bulma ihtiyacından dolayı kök gelişmesinde artışların olduğu bilinmektedir. Bu durum bitki tür ve çeşitlerine bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Stikic ve ark. (2015) kuraklığın kinoada kök uzunluğunu düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Çizelge 3. Kinoa populasyon ve çeşitlerinin farklı sulama uygulamalarında kök uzunluğu (cm)

Çeşitler (Ç)	Sulama Seviyesi (S) (Tarla Kapasitesinin %'si)					Ortalama*
	100	50	25	10	5	
Titicaca	23.3	28.3	19.7	24.4	19.4	23.0 A
S. Mix	18.2	18.7	20.5	20.4	22.1	19.9 B
Rainbow	24.6	15.6	17.1	22.9	17.4	19.6 BC
C. Vanilla	20.1	18.7	16.1	17.9	15.3	17.6 CD
F. Vanilla	17.7	20.0	22.7	11.0	15.9	17.4 D
Q. Blanca	22.3	18.5	19.4	13.8	11.6	17.1 DE
R. Head	19.3	22.7	10.3	16.3	15.7	16.8 DE
O. Valle	13.5	17.6	15.5	12.5	16.3	15.1 E
M. Arrochilla	15.5	11.9	12.9	12.6	11.7	12.9 F
Mint Vanilla	12.7	12.5	9.1	10.3	9.5	10.8 F
Ortalama*	18.7 A	18.5 A	16.3 B	16.2 B	15.5 B	17.0

LSD Ç: 2.1, S: 1.9, Ç x S: 7.3

* Değişik harfle işaretlenen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır

Sürgün Kuru Ağırlığı

Kinoa çeşitlerinin sürgün kuru ağırlıkları çok önemli farklılık göstererek 3.42 g'dan, 2.11 g'a kadar değişmiştir. R. Head çeşidi en fazla sürgün kuru ağırlığına sahip olurken, en düşük sürgün kuru ağırlığı Titicaca çeşidinde belirlenmiştir (Çizelge 4). Sulama uygulamalarına göre sürgün kuru ağırlıkları 4.11 g ile 1.59 g arasında değişmiştir. Araştırmada çeşitlerin sulama uygulamalarına farklı tepkiler vermesi interaksyonun önemli çıkmasına neden olmuştur. Genel olarak kuraklık şiddetinin artması sürgün kuru ağırlığını düşürürken Rainbow gibi bazı çeşitlerde sürgün kuru ağırlıkları düzensiz değişimler göstermiştir. Daha önce sürgün uzunluğu konusunda da bahsedildiği gibi bitkiler kuraklık stresi altında toprak üstü aksamının büyümesini yavaşlatmakta ve hatta durdurmaktadır. Bu çalışmada da azalan sulamaya bağlı olarak sürgün kuru ağırlıkları azalmıştır. Benzer sonuçları Gonzalez ve ark. (2009) ile Çaygaracı ve Kuşçu (2019) da belirlemişlerdir. Fakat bitkilerin sürgün ağırlıklarının kuraklığa verdiği tepki genotiplere göre değişiklik gösterebilir. Kuraklığa adapte olmuş genotiplerde kayıplar daha az olmaktadır.

Çizelge 4. Kinoa çeşitlerinin farklı sulama uygulamalarında sürgün kuru ağırlıkları (g)

Çeşitler (Ç)	Sulama Seviyesi (S) (Tarla Kapasitesinin %'si)					Ortalama*
	100	50	25	10	5	
R. Head	5.75	4.28	2.74	2.29	2.07	3.42 A
F. Vanilla	4.95	3.48	3.39	2.87	1.75	3.29 A
S. Mix	3.58	2.84	2.85	2.07	2.20	2.70 B
M. Vanilla	3.89	3.14	2.40	2.21	1.63	2.65 BC
M. Arrochilla	3.73	3.68	2.27	1.98	1.58	2.64 BC
C. Vanilla	4.09	3.12	1.98	2.27	1.27	2.54 BCD
Rainbow	3.86	1.90	2.54	2.56	1.63	2.49 BCD
Q. Blanca	4.49	2.54	1.88	1.82	1.31	2.41 BCD
O. Valle	4.23	2.62	1.72	1.39	1.06	2.20 CD
Titicaca	2.52	2.36	2.17	2.13	1.37	2.11 D
Ortalama*	4.11 A	3.00 B	2.39 C	2.16 C	1.59 D	2.65

LSD Ç: 0.45 S: 0.26 Ç x S: 0.10

* Değişik harfle işaretlenen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır

Kök Kuru Ağırlığı

Çeşitler arasında en fazla kuru kök üretimi 0.41 g ile Q. Blanca'da görülmüştür. En az kuru kök üretimi ise 0.23 g ile Titicaca çeşidinde belirlenmiştir. M. Vanilla ve S. Mix çeşitlerinin kök kuru madde üretimleri (0.27 g) de düşüktür (Çizelge 5). Sulama uygulamaları kök kuru ağırlıklarını önemli seviyede etkilemiş, ortalamalar istatistiki olarak 4 farklı grup oluşturmuştur. Sulamanın azalmasıyla birlikte kök kuru ağırlığı önemli seviyede düşmüş, tarla kapasitesinin %25 ve %10'u seviyesinde sulamalarda ise kök kuru ağırlıkları benzerlik göstererek aynı grupta bulunmuşlardır. Kontrol koşullarında yetiştirilen bitkilere göre kuraklık olumsuz etki yapmıştır. Genel olarak kuraklık seviyesinin artmasıyla kök kuru ağırlıklarında azalma gözlenirken bazı çeşitlerin kök kuru ağırlığı artış göstermiştir.

Çizelge 5. Kinoa çeşitlerinin farklı sulama uygulamalarında kök kuru ağırlıkları (g)

Çeşitler (Ç)	Sulama Seviyesi (S) (Tarla Kapasitesinin %'si)					Ortalama*
	100	50	25	10	5	
Q. Blanca	0.80	0.55	0.29	0.22	0.18	0.41 A
F. Vanilla	0.69	0.41	0.38	0.22	0.18	0.37 AB
R. Head	0.62	0.50	0.25	0.20	0.15	0.34 ABC
O. Valle	0.72	0.36	0.24	0.13	0.20	0.33 ABC
C. Vanilla	0.63	0.45	0.25	0.25	0.09	0.33 ABC
M. Arochilla	0.42	0.35	0.36	0.21	0.19	0.30 BCD
Rainbow	0.41	0.21	0.30	0.34	0.14	0.28 CD
S. Mix	0.36	0.40	0.26	0.17	0.18	0.27 CD
M. Vanilla	0.44	0.32	0.19	0.27	0.13	0.27 CD
Titicaca	0.25	0.27	0.21	0.28	0.16	0.23 D
Ortalama*	0.53 A	0.38 B	0.27 C	0.23 C	0.16 D	0.31

LSD Ç: 0.08, S: 0.05, Ç x S: 0.21

* Değişik harfle işaretlenen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır

Bitki kök aksamı kurağa dayanıklılıkta çok önemli bir karakterdir. Dolayısı ile birçok araştırmacı tarafından yapılan araştırmalarda incelenen bir özellik olmuştur. Kuraklık stresi şiddetine bağlı olarak bazı kök özelliklerini olumsuz yönde etkilemektedir. Örneğin, Geren ve Geren (2015), tarla kapasitesinde (%100) sulanan kinoada 16.3 g olan kök kuru ağırlığının, sulama seviyesi %80, %60, %40 ve %20'ye düşürüldüğünde sırasıyla 17.8, 21.5, 12.3 ve 8.5 g'a düştüğünü saptamışlardır. Yin ve ark. (2004), kuraklık stresinin bitkilerde gövde boyu, toplam ağırlık ve kök kuru ağırlıklarını düşürdüğünü belirtmişlerdir. Ancak kurak şartlarda kök yayılımı, kök derinliği ve yoğunluğunda genotipler arasında önemli farklılıklar görülebilmektedir (Kinyua ve ark., 2006).

Kök/sürgün oranı

Çalışmada kinoanın kök/sürgün oranları çeşitlere ve sulama uygulamalarına göre çok önemli farklılıklar sergilemiştir. Çeşitler arasında Q. Blanca ve O. Valle'nin kök/sürgün değerleri yüksek bulunmuş, R. Head ise en düşük değere sahip olmuştur (Çizelge 6). Kuraklık stresinin olmadığı kontrol şartlarında kinoa çeşitlerinin ortalama kök/sürgün oranı 0.130 olarak hesaplanmıştır. Su uygulaması tarla kapasitesinin %50, 25, 10 ve 5'i seviyesine düşürüldüğünde elde edilen değerler sırasıyla 0.134, 0.117, 0.112 ve 0.108'dir. Bu sonuçlar kuraklık şartlarında kinoanın kök gelişmesinin sürgün gelişmesine göre daha fazla olumsuz etkilendiğini ortaya koymaktadır. Buna rağmen tarla kapasitesinin %50'ye düşmesiyle yapılan sulamada (hafif kuraklık) kök/sürgün oranının artması dikkat çekicidir. Çeşitler ayrı ayrı incelendiğinde sulama seviyesinin azalmasına bağlı olarak kök/sürgün oranlarında artış ve azalışlar görülmektedir. Bu durum O. Valle ve C. Vanilla dışındaki bütün çeşitlerde belirgin olarak görülmektedir.

Çizelge 6. Kinoa çeşitlerinin farklı kuraklık uygulamalarında kök/sürgün oranları

Çeşitler (Ç)	Sulama Seviyesi (S) (Tarla Kapasitesinin %'si)					Ortalama*
	100	50	25	10	5	
Q. Blanca	0.180	0.277	0.157	0.124	0.137	0.175 A
O. Valle	0.169	0.138	0.136	0.095	0.191	0.146 AB
M. Arrochilla	0.112	0.094	0.159	0.152	0.121	0.128 BC
C. Vanilla	0.161	0.142	0.127	0.111	0.072	0.123 BC
Titicaca	0.098	0.114	0.098	0.131	0.128	0.114 BC
Rainbow	0.108	0.103	0.119	0.134	0.099	0.112 BC
F. Vanilla	0.136	0.115	0.109	0.077	0.103	0.108 C
M. Vanilla	0.122	0.102	0.080	0.125	0.080	0.102 C
S. Mix	0.102	0.139	0.090	0.086	0.081	0.099 C
R. Head	0.113	0.117	0.097	0.086	0.069	0.096 C
Ortalama*	0.130 AB	0.134 A	0.117 BC	0.112 C	0.108 C	0.120

LSD Ç: 0.035, S; 0.016, S x Ç: 0.072

* Değişik harfle işaretlenen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır

Kurak ve yarı kurak alanlarda bitkisel üretimi en fazla sınırlayan faktör bitkilerin yetiştirildiği ortamdaki suyun durumudur. Su, bitki metabolizmasında hücrel ve bitki düzeyinde yaşamsal role sahiptir. Kurak ortamda yetiştirilen bitkiler bu koşullara uyum sağlamak için bazı fizyolojik ve morfolojik değişimler yaparlar. Stomalarındaki değişimler, yaprak alanını azaltma, yaprak kalınlığını artırma, yaprakta tüylülük ve mumsu tabaka oranlarını artırmak, kök/sürgün oranını düşürmek bunların bazılarını örnek olarak sayılabilir. Kinoa kuraklığa dayanabilmek için bu mekanizmalardan bazılarını kullanmaktadır (Jacobsen, 2003). Bosque Sanchez ve ark. (2003) hafif ve şiddetli kuraklık şartlarında kinoa kök/sürgün oranlarını kontrol şartlarında yetişenlerden daha yüksek bulmuşlardır. Çünkü kök büyümesi kurak şartlarda sürgün büyümesinden daha az etkilenmektedir (Franco, 2011). Bitkilerin kök/sürgün oranlarının yüksek olması kurağa dayanıklılıklarının bir göstergesidir. Bu durum birçok bitkide olduğu gibi genotiplere göre değişim gösterir. Bu çalışmada Q. Blanca ve O. Valle kök/sürgün oranı yüksek olan genotiplerdir. Güçlü kök gelişimi ve yüksek kök/sürgün oranı kurağa dayanıklılığın göstergesidir (Simane ve ark., 1993).

Kuraklık tolerans yüzdesi

Çeşitlerin kurağa tolerans değerleri %83.8 (Titicaca) ile %52.2 (O. Valle) arasında önemli değişim göstermiştir (Çizelge 7). Titicaca, S. Mix, M. Arrochilla ve M. Vanilla toleransı yüksek olan çeşitler olarak öne çıkmaktadırlar. Q. Blanca ile O. Valle çeşitleri ise kurağa toleransı en az olan çeşitler olarak belirlenmişlerdir. Sulama seviyesinin tarla kapasitesinde olduğu kontrol uygulamasında kurağa tolerans %100 kabul edilmiştir. Kuraklık seviyesi tarla kapasitesinin sırasıyla %50, %25, %10, %5 seviyesine düşürüldüğünde kurağa tolerans değerleri sırasıyla %76.6, %61.3, %56.3 ve %40.7 olarak hesaplanmıştır. Çeşitler sulama uygulamalarına farklı tepkiler verdiği için çeşit x sulama interaksyonu önemli bulunmuştur. M. Arrochilla'nın %50 seviyesindeki kuraklık tolerans yüzdesi kontrolden daha yüksek (%103.7) bulunmuştur.

Kuraklık tolerans değerleri kuraklık uygulamasındaki bitki kuru ağırlığının kontrol şartlarındaki bitki kuru ağırlığına oranlanmasıyla belirlenmektedir. Bu nedenle kuraklık şartlarında kuru madde üretimi yüksek olan uygulamaların kurağa tolerans yüzdeleri daha fazla bulunmuştur. Aksine normal şartlarda üretimi yüksek, kuraklık şartlarında düşük olan uygulamaların toleransları ise düşük çıkmaktadır. Bu çalışmada Titicaca kuraklık toleransı en yüksek olan çeşittir. Çeşidin sürgün kuru ağırlığı diğerlerine göre düşüktür (Çizelge 4), fakat kuraklık uygulamaları ile sürgün kuru ağırlıklarında çok fazla düşüş gerçekleşmemiştir. Bu nedenle kurağa tolerans yüzdeleri yüksek bulunmuştur.

Çizelge 7. Kinoa çeşitlerinin farklı kuraklık uygulamalarında kurağa tolerans yüzdesi (%)

Çeşitler (Ç)	Sulama Seviyesi (S) (Tarla Kapasitesinin %'si)					Ortalama*
	100	50	25	10	5	
Titicaca	100	93.9	86.0	84.7	54.7	83.8 A
S. Mix	100	78.2	79.4	59.5	64.3	76.3 AB
M. Arrochilla	100	103.7	62.4	54.7	43.1	72.6 ABC
M. Vanilla	100	85.0	66.8	62.4	44.8	71.8 ABC
F. Vanilla	100	78.4	71.2	62.0	37.8	69.9 BC
Rainbow	100	52.1	66.9	67.6	41.6	65.6 BCD
C. Vanilla	100	76.8	48.2	56.6	31.8	62.7 CD
R. Head	100	78.0	49.9	39.7	36.3	60.8 CD
Q. Blanca	100	57.7	41.9	41.0	29.2	53.9 D
O. Valle	100	61.8	40.7	35.0	23.3	52.2 D
Ortalama*	100 A	76.6 B	61.3 C	56.3 C	40.7 D	67.0

LSD Ç: 13.4, S: 6.9 Ç x S: 20.2

* Değişik harfle işaretlenen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır

SONUÇ

Fide döneminde uygulanan farklı seviyelerdeki sulamalar kinoada kök ve sürgün gelişmesini önemli seviyede etkilemiştir. Sulama seviyesi azaldıkça sürgün ve kök uzunlukları ile kuru ağırlıkları ve kurağa tolerans yüzdeleri düşmüştür. Kök/sürgün oranı ise tarla kapasitesinin %50'si seviyesindeki sulamada daha yüksek bulunmuştur. En fazla sürgün uzunluğu ve kuru ağırlığı R. Head, kök uzunluğu ve kurağa tolerans yüzdesi Titicaca, kök kuru ağırlığı ve kök/sürgün oranı Q. Blanca çeşidinde bulunmuştur.

Elde edilen bu sonuçlar kinoada kuraklık stresinin sürgün ve kök gelişmesine olumsuz etki yaptığını ortaya koymuştur. Ancak çeşitlerin stres faktörlerine karşı gösterdikleri tepkiler farklı olmuştur. Özellikle bazı çeşitlerin hafif kuraklık şartlarında (%50 sulama) daha yüksek değerler vermeleri dikkat çekicidir. Bu durum özellikle kök parametrelerinde görülmekte olup, bazı çeşitlerin kısıtlı sulama şartlarında daha iyi kök gelişmesi yaptığını ortaya koymaktadır. Örneğin Titicaca, F. Vanilla, R. Head ve O. Valle'nin kök uzunlukları hafif su kısıtlamasında daha fazla bulunmuştur. Benzer olarak S. Mix ve Titicaca hafif su kısıtlamasında daha fazla kök kuru ağırlığına sahip olmuşlardır. Bu nedenle elde edilen veriler kurağa dayanıklılık ıslahında yol gösterici olabilir. Tarla kapasitesinin %50 seviyesinde sulama yapıldığında birçok parametrede iyi sonuçlar veren Titicaca, R. Head, S. Mix, Q. Blanca ve M. Arrochilla gibi çeşitler üzerinde durulmalıdır.

TEŞEKKÜR

Bu makale Emre AKÇAY'ın Yüksek Lisans Tezinden üretilmiştir. Çalışmaya destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederiz (Proje No: TOVAG-214O232).

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Ashraf M, Foolad MR, 2007. Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59 (2): 206-216.
- Bertero HD, Vega AJ, Correa G, Jacobsen SE, Mujica A, 2004. Genotype and Genotype-by-Environment Interaction Effects for Grain Yield and Grain Size of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as Revealed by Pattern Analysis of International Multienvironment Trials. *Field Crops Research*, 89: 299-318.
- Bosque Sanchez H, Lemeur R, Van Damme P, Jacobsen SE, 2003. Ecophysiological Analysis of Drought and Salinity Stress of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Reviews International*, 19: 111-119.
- Çaygaracı A, Kuşçu H, 2019. Farklı Sulama Suyu Miktarı ve Besin Çözeltisi Uygulamalarının Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Verim, Bazı Verim Bileşenleri ve Su Kullanım Etkinliği Üzerine Etkisi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 22 (3): 370-380.
- Earl HJ, 2003. A Precise Gravimetric Method for Simulating Drought Stress In Pot Experiments. *Crop Science*, 43 (5): 1868-1873.
- Franco J, 2011. Technology and Knowledge Transfer e-Bulletin. Universidad Politecnica de Cartagena Vol: 2, No: 6.
- Garcia M, Raes D, Jacobsen SE, 2003. Evapotranspiration Analysis and Irrigation Requirements of Quinoa (*Chenopodium quinoa*) in the Bolivian Highlands. *Agricultural Water Management* 60: 119-134.
- Garcia M, Raes D, Jacobsen SE, Michel T, 2007. Agroclimatic Constraints for Rainfed Agriculture in the Bolivian Altiplano. *Journal of Arid Environment* 71: 109-121.
- Geerts S, Raes D, Garcia M, Vacher J, Mamani R, Mendoza J, Huanca R, Morales B, Miranda R, Cusicanqui J, Taboada C, 2008. Introducing Deficit Irrigation to Stabilize Yields of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *European Journal of Agronomy*, 28: 427-436.
- Geerts S, Raes D, Garcia M, Del Castillo C, Buytaert W, 2006. Agro-Climatic Suitability Mapping for Crop Production in the Bolivian Altiplano: A Case Study for Quinoa. *Agricultural and Forest Meteorology*, 129: 399-412.
- Geren H, Kavut YT, Topçu GD, Ekren S, İştıpliler D, 2014. Akdeniz İklimi Koşullarında Yetiştirilen Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)’da Farklı Ekim Zamanlarının Tane Verimi ve Bazı Verim Unsurlarına Etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 51(3): 297-305.
- Geren H, Geren H, 2015. A Preliminary Study on the Effect of Different Irrigation Water Levels on the Grain Yield and Related Characteristics of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), 26th International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry, 27-30 September 2015, 61(66/1): 269-272.
- Gonzalez JA, Gallardo M, Hilal M, Rosa M, Prado, FE, 2009. Physiological Responses of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to Drought and Waterlogging Stresses: Dry Matter Partitioning. *Botanical Study*, 50: 35-42.
- İnce Kaya Ç, 2010. Akdeniz Bölgesinde Damla Sistemiyle Tatlı ve Tuzlu Su Kullanılarak Uygulanan Farklı Sulama Stratejilerinin Kinoa Bitkisinin Verimiyle Toprakta Tuz Birikimine Etkileri ve Saltmed Modelinin Test Edilmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Jacobsen SE, 2003. The Worldwide Potential for Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Review International*, 19 (1-2): 167-177.

- Jacobsen SE, Mujica A, Jensen AC, 2003. The Resistance of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to Adverse Abiotic Factors. *Food Reviews International*, 19: 1-2.
- Jensen CR, Jacobsen SE, Andersen MN, Nunez N, Andersen SD, Rasmussen L, Mogensen VO, 2000. Leaf Gas Exchange and Water Relations of Field Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) During Soil Drying. *European Journal of Agronomy*, 13: 11-25.
- Kinyua M, Njoka EM, Gesimba RM, Birech RJ, 2006. Selection of Drought Tolerant Bread Wheat Genotypes Using Root Characteristics at Seedling Stage. *International Journal of Agriculture and Rural Development*. School of Agriculture and Agricultural Technology, Federal University of Technology.
- Raney JA, Reynolds DJ, Elzinga DB, Page J, Udall JA, Jellen EN, Bonfacio A, Fairbanks DJ, Maughan PJ, 2014. Transcriptome Analysis of Drought Induced Stress in *Chenopodium quinoa*. *American Journal of Plant Sciences*, 5: 338-357.
- Razzaghi F, Bahadori-Ghasroldasthi MR, Henriksen S, Spaskhah AR, Jacobsen SE, 2020. Physiological Characteristics and Irrigation Water Productivity of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) in Response to Deficit Irrigation Imposed at Different Growing Stages-A Field Study from Southern Iran. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206(3): 390-404.
- Simane B, Struik, PC, Nachit MM, Peacock JM, 1993. Ontogenetic Analysis of Yield Components and Yield Stability of Durum Wheat in Water-Limited Environments. *Euphytica*, 71(3): 211-219.
- Stikic R, Jovanovic Z, Marjanovic M, Dordevic S, 2015. The Effect of Drought on Water Regime and Growth of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Ratarstvo i Povrtarstvo* 52(2): 80-84.
- Szira F, Bálint AF, Börner A, Galiba G, 2008. Evaluation of Drought-Related Traits and Screening Methods at Different Developmental Stages in Spring Barley. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(5): 334-342.
- Tan M, Temel S, 2019. Her Yönüyle Kinoa. Önemi, Kullanılması ve Yetiştiriciliği. İksad Yayınevi, Ankara, ISBN: 978-605-7875-88-4, 177 s.
- Yang A, Akhtar SS, Amjad M, Jacobsen S, 2016. Growth and Physiological Responses of Quinoa to Drought and Temperature Stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202 (6): 445-453.
- Yin C, Wang X, Duan B, Luo J, Li C, 2004. Early Growth, Dry Matter Allocation and Water Use Efficiency of Two Sympatric *Populus* Species as Affected by Water Stress. *Environmental and Experimental Botany*, 53: 315-322.

Atf İçin: Öztürk E, Akay H, Sezer İ, 2021. Şeker Mısırdaki Çimlenme ve Erken Fide Gelişimi Döneminde Tuz Stresine Karşı Salisilik Asit Ön Uygulamasının Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3213-3221.

To Cite: Öztürk E, Akay H, Sezer İ, 2021. The Effect of Salicylic Acid Pre-Application Against Salt Stress During Germination and Early Seedling Development in Sugar Corn. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3213-3221.

Şeker Mısırdaki Çimlenme ve Erken Fide Gelişimi Döneminde Tuz Stresine Karşı Salisilik Asit Ön Uygulamasının Etkisi

Elif ÖZTÜRK^{1*}, Hasan AKAY¹, İsmail SEZER¹

ÖZET: Bu araştırma, farklı NaCl konsantrasyonları ve salisilik asit uygulamalarının şeker mısırdaki çimlenme ve erken fide gelişimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen Merit F1 (su) çeşidi kullanılmıştır. Şeker mısır tohumları üç farklı salisilik asit dozu (0, 1 ve 2 mM) ile priming yapılmıştır. Priming yapılan tohumlar beş farklı (0.38, 1.50, 3.00, 6.00, 10.00 dSm⁻¹) NaCl konsantrasyonlarında hazırlanan çözelti kullanılarak çimlenme ve fide döneminde sulama yapılmıştır. Tohum ekiminden 5 gün sonra çimlenme oranı, 15 gün sonra kök ve gövde uzunluğu, kök gövde oranı, kök ve gövde kuru madde oranı, fide gücü indeksi, tuz toleransı ve vigor indeksi ölçümleri yapılmıştır. Araştırmada incelenen karakterler arasında istatistiki açıdan önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Tuz dozu arttıkça çimlenme oranı ve fide gelişimi özelliklerinin azaldığı belirlenmiştir. 1 mM salisilik asit uygulamasında tuz stresinin önemli ölçüde baskılandığı, ancak 2 mM ve üzeri uygulamalarda ise bu baskılamının ortadan kalktığı görülmüştür. Analiz sonucunda elde edilen formül yardımıyla % 80 çimlenme oranı için 0, 1 ve 2 mM uygulamaları için sırasıyla maksimumu 1.62, 5.02 ve 4.14 dSm⁻¹ sulama suyu tuzluluğunda belirlenmiştir. Salisilik asit uygulanmayan ile uygulaması yapılan şeker mısır tohumları arasında 4 – 5 kat tuza dayanıklı sağladığı belirlenmiştir. Şeker mısırdaki tuzluluk açısından en iyi sonucun 1 mM dozunda uygulandığında tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Şeker Mısır, Tuz Stresi, Salisilik Asit, Priming

The Effect of Salicylic Acid Pre-Application Against Salt Stress During Germination and Early Seedling Development in Sugar Corn

ABSTRACT: This research was carried out to determine the effects of different NaCl concentrations and salicylic acid treatments on germination and early seedling growth in sweet corn. Merit F1 (su) variety, which is widely grown in our country, was used in the study. Sweet corn seeds were primed with three different salicylic acid doses (0, 1 and 2 mM). Priming seeds were irrigated during germination and seedling periods using the solution prepared at five different (0.38, 1.50, 3.00, 6.00, 10.00 dSm⁻¹) NaCl concentrations. Germination rate 7 days after sowing, root and stem length, root and stem ratio, root and stem dry matter ratio, seedling vigor index, salt tolerance and vigor index measurements were made after 15 days. It was determined that there were statistically significant differences between the characters examined in the study. As a result of the salt ratio increases to different salt concentrations, the germination rate and seedling growth characteristics decrease. However, it was determined that the applied salicylic acid significantly suppressed salt stress at a dose of 1 mM, but the suppressive property of salicylic acid application decreased when the dose was increased to 2 mM. With the help of the formula obtained as a result of the analysis, the maximum for 0, 1 and 2 mM applications for 80% germination rate was determined at 1.62, 5.02 and 4.14 dSm⁻¹ irrigation water salinity, respectively. It has been determined that it provides 4-5 times salt resistance between the sweet corn seeds that are not treated with salicylic acid and the applied sweet corn seeds. The best result in terms of salinity in sweet corn was determined when applied at a dose of 1 mM.

Keywords: Sweet Corn, Salt Stress, Salicylic Acid, Priming

¹Elif ÖZTÜRK ([Orcid ID: 0000-0001-9723-6092](https://orcid.org/0000-0001-9723-6092)), Hasan AKAY ([Orcid ID: 0000-0003-1198-8686](https://orcid.org/0000-0003-1198-8686)), İsmail SEZER ([Orcid ID: 0000-0002-8407-7448](https://orcid.org/0000-0002-8407-7448)), Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Samsun, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Elif ÖZTÜRK, e-mail: elif.ozturk@omu.edu.tr

GİRİŞ

Şeker mısır (*Zea mays* L. *sacharata* STURT.) diğer mısır alttürleri içerisinde en büyük embriyoya sahip olduğundan en yüksek yağ ve protein oranına sahip olması yanında, endospermelerinde yüksek oranda şeker bulundurmasından dolayı besin değeri oldukça yüksektir. Şeker mısır koçanları hem suda kaynatılarak hemde ateşte közlenerek tüketildiği gibi; koçandan ayrılan taneler konserve ve dondurularak uzun süre muhafaza edilmektedir (Erdal ve Pamukçu, 2005). Bu sayede tüketimi yıl boyu devam etmektedir. Ülkemizde şeker mısıra olan talebin artmasıyla üretim alanı genişlemeye eğilimindedir.

Bitkilerde tuz stresinin tüm gelişme dönemlerini etkilediği, ancak pek çok bitki türünde en çok zararın çimlenme ve erken gelişme dönemlerinde görüldüğü bildirilmektedir (Munns, 2002). Önümüzdeki yıllarda da iklim değişikliğinin neden olduğu yağış rejimindeki farklılıklardan dolayı tarım topraklarında tuz stresinde önemli bir artış öngörülmektedir (Abdelgawad ve ark., 2016).

Şeker mısır diğer mısır varyeteleri içerisinde stres faktörlerine karşı çok hassastır (Anıl ve Sezer, 2003). Şeker mısır abiyotik stres faktörlerinden tuzluluğa karşı toleransı oldukça düşüktür. Şeker mısırın, abiyotik stres faktörlerinden tuzluluğa karşı toleransı oldukça düşüktür. Özellikle şeker mısır abiyotik stres faktörü olan tuzluluk şartlarından olumsuz yönde etkilenmektedir (Sun ve ark., 2016).

Çeşitli stres ortamlarında yetiştirilen bitkilerde, priming uygulamalarına bitki büyüme düzenleyicilerinin ve hormonların dâhil edilmesiyle; tohum çimlenme ve fide gelişimi performansını artırdığı gözlemlenmiştir (Lee ve ark., 1998). Salisilik asit (SA), özellikle çimlenme olmak üzere, fotosentez, solunum, çiçeklenme ve yaşlanma gibi büyüme ve gelişme evrelerinin düzenlenmesinde katkıda bulunan, fitohormon olarak bilinen bir fenolik bileşiktir (Rivas-San Vicente ve Plasencia, 2011). Ayrıca abiyotik stres faktörlerine karşı oluşturulan bitki savunma cevaplarında önemli role sahip bir sinyal molekülüdür (Hara ve ark., 2012; Miura ve Tada, 2014; Semida ve ark., 2017). Salisilik asit ile priming uygulamasının tuzluluğun bitkiler üzerindeki etkilerini azalttığı çeşitli araştırmalarla kanıtlanmıştır (Jini ve Joseph, 2017; Anaya ve ark., 2018). Bu araştırma salisilik asit ön uygulamasının farklı NaCl konsantrasyonlarında şeker mısırın (*Zea mays* L. *sacharata* STURT.) çimlenme ve erken fide gelişimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Laboratuvarlarında, Merit F1(su) şeker mısır çeşidi kullanılarak 2020 yılında yürütülmüştür.

Araştırmada, tohumlara 3 farklı salisilik asit priming uygulaması (0 (S0), 1 (S1), 2 (S2) mM) ile NaCl tuzu kullanılarak, 5 farklı tuzlu su konsantrasyonu (0.38 dS m⁻¹ (T0), 1.5 dS m⁻¹ (T1), 3 dS m⁻¹ (T2), 6 dS m⁻¹ (T3), 10 dS m⁻¹ (T4)) işlemleri tesadüf parselleri deneme desenine 3 tekrarlı olarak planlanmıştır. Çimlendirme öncesinde tohumlar %5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur (Uyanık ve ark., 2014). Sterilizasyon sonrasında tohumlar priming uygulaması için salisilik asit çözeltilerinde 12 saat bekletilmiştir. Ön uygulamadan sonra tohumlar uygun nem içeriğine dönmesi için oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Çift katlı kurutma kâğıdı bulunan kapaklı şeffaf plastik kaplara (10×10×4cm), 20 adet tohum cımbız yardımıyla ekilip, tuz dozlarına göre 10 ml NaCl eklenmiştir (Akay ve ark., 2019). Çimlendirme kapları iklim dolabında 25±1°C sıcaklık ve %75 nem olacak şekilde günlük 12 saat 12.000 lüks ışık ile yetiştirme ortamı oluşturulmuştur. Tuz birikimini önleyebilmek için filtre kâğıtları 2 gün aralıklarla değiştirilmiştir (Rehman ve ark., 1996). Araştırmada, ilk 7 gün çimlenen tohumlar sayılmış ve 2 mm kökçük uzunluğuna sahip olan tohumlar, çimlenmiş olarak kabul edilmiştir (ISTA, 2003). Araştırmada 15. günün sonunda kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök gövde oranı, kök kuru madde oranı, gövde kuru

madde oranı, çimlenme hızı, çimlenme oranı (Akay ve ark., 2019), fide gücü indeksi (Butola ve Badola, 2004), tuz toleransı indeksi (Matwijcuk ve ark., 2012), vigor indeksi (Hu ve ark., 2005) ölçümleri yapılmıştır.

Verilerin istatistiksel analizi JMP istatistik programı aracılığıyla yapılmıştır. Grupların ortalamaları arasındaki farkın önemlilik kontrolü Tukey testi kullanılarak yapılmıştır. İncelenen karakterler arasındaki ilişki için Biplot, Pearson ve Kümeleme analizi (JMP, 2019), Curve fitting with MATLAB modelleme ile yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Salisilik asit ve farklı NaCl dozlarının, şeker mısırdaki çimlenme ve erken fide dönemine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, incelenen bütün parametrelerin ortalaması ve TUKEY gruplandırılması Çizelge 1’de verilmiştir. Salisilik Asit, Tuz Dozları ve Salisilik Asit ile Tuz İnteraksiyonlarının (SA x NaCl) istatistiki yönden incelenen bütün parametrelerde ortalamalar arası farkları önemli ölçüde etkiledikleri görülmüştür.

Bitkilerde kökler su ve besin maddesi alımını sağlayan ve stres faktörlerinden etkilenen önemli kısımlarıdır. Yapılan çalışmada stres faktörü olarak kullanılan NaCl tuzunun miktarı arttıkça, kök uzunluğu azalmaya başlamıştır. Yapılan çalışmada salisilik asit uygulaması S0 ile S2 benzer sonuçları verdiği S1 dozunun ise NaCl etkisini azaldığı tespit edilmiştir. Tuz stresinin 1.5 dS m⁻¹ (T1) doz uygulamasından sonra belirgin bir şekilde etkisi ortaya çıkmaktadır.

Yapılan çalışmada salisilik asit uygulaması yapılmadan kontrol ile T1 (1.5 dS m⁻¹) dozu arasında kök uzunluğu % 26.43 bir artış olurken T2 (% 21.77) ile T4 (%52.44) arasında T3 dozundaki bu fark (% 3.47) oranında azalma olduğu tespit edilmiştir. Salisilik asit 1 (1 mM) uygulamasında T2 tuzluluk seviyesinde en yüksek kök uzunluğunun (14.50 cm) olduğunu S0 uygulamasına göre % 100 daha uzun olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Tuz stresinin bitkilerde sürgün uzunluğuna olumsuz etkisinin olduğu pek çok çalışmada ifade edilmiştir (Yousofinia ve ark., 2012; Hossain ve ark., 2013; Özkan ve Demiroğlu Topçu, 2017; Vazirimehr ve ark., 2014; Jini ve Joseph, 2017).

Bitkilerde fide dönemindeki gövde uzunluğu, sağlıklı ve kaliteli fide yetiştirmek için önemli bir parametredir. Gövde uzunluğu ile yaprak sayısı, gövde yaş ve kuru ağırlığı arasında önemli bir pozitif ilişki bulunmaktadır (Vazirimehr ve ark., 2014; Jini ve Joseph, 2017). Araştırmada gövde uzunluğu, salisilik asit uygulamalarında S2 dozunda genel ortalamanın düştüğü tespit edilmiştir. Çalışmada, S1 (11.49 cm) ve S0 (11.27 cm) dozları arasında istatistiki açıdan aynı grupta yer alıp aralarında herhangi bir fark bulunmamıştır. Gövde uzunluğu, NaCl dozlarında, T2 dozundan sonra fide uzunluğunu baskılamaya başladığı ve kontrol ile T4 dozu arasında % 30’luk azalma olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Gövde yaş ve kuru ağırlıkları birlikte incelendiğinde, tuzluluk konsantrasyonlarına göre en fazla gövde yaş - kuru ağırlıkları sırasıyla 429 – 41 mg ile T0 konsantrasyonunda tespit edilmiştir. T4 tuz konsantrasyonunun, kontrole göre gövde yaş ağırlığının %30 ve kuru ağırlığının ise % 27 azaldığı belirlenmiştir (El Goumi ve ark., 2014; Demiroğlu Topçu ve ark., 2018). Çalışmada gövde yaş ağırlıkları bakımından ortalama salisilik asit dozları incelendiğinde, S0 (400 mg) ve S1 (386 mg) dozları istatistiki açıdan aynı grupta yer almıştır. Ortalama salisilik asit dozları incelendiğinde, kontrol (S0) dozunun istatistiksel olarak en iyi grupta olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çalışmada kök yaş ve kuru ağırlıkları incelendiğinde, farklı tuz konsantrasyonlarına göre en fazla kök yaş – kuru ağırlıkları sırasıyla, 170 (T1) – 17 (T0) mg olarak tespit edilmiştir. T4 tuz konsantrasyonunun, kontrole göre kök yaş ağırlığının %57 ve kuru ağırlığının ise % 47 azaldığı belirlenmiştir. (Palma ve ark., 2013). Kök yaş ağırlıkları bakımından ortalama salisilik asit dozları incelendiğinde, S1 (156 mg) dozu istatistiksel olarak en iyi grupta yer almıştır. Kök kuru ağırlıkları

yönünden incelendiğinde ise, S0 (14 mg) ve S1 (13 mg) dozları istatistiksel açıdan aynı grupta yer almıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Salisilik asit ön uygulamasının farklı NaCl konsantrasyonlarında incelenen parametreler*

Tuz Seviyeleri	Salisilik Asit Dozları							
	S0	S1	S2	Ort.	S0	S1	S2	Ort.
	Kök Uzunluğu (cm)				Gövde Uzunluğu (cm)			
T0	9.23 cde	12.23 abc	9.90 bcd	10.46 a	12.26 ab	12.79 ab	11.71 abc	12.25 a
T1	11.67 abc	13.40 ab	10.52 bcd	11.86 a	12.15 ab	12.57 ab	12.48 ab	12.40 a
T2	7.22 def	14.50 a	9.96 bcd	10.56 a	11.22 a-d	12.94 a	11.48 a-d	11.88 a
T3	8.91 cde	7.70 def	7.50 def	8.04 b	10.92 bcd	11.46 a-d	9.70 de	10.69 b
T4	4.39 f	7.50 def	5.43 ef	5.77 c	9.82 cde	7.71 f	8.04 ef	8.53 c
Ort.	8.28 b	11.07 a	8.66 b	9.34	11.27 a	11.49 a	10.68 b	11.15
	Gövde Yaş Ağırlığı (mg)				Gövde Kuru Ağırlığı (mg)			
T0	461 a	440 a	387 abc	429 a	52 a	36 def	34 d-g	41 a
T1	417 ab	428 a	389 abc	411 a	41 bc	32 fg	38 b-e	37 b
T2	352 a-d	438 a	336 a-d	375 ab	44 b	29 g	37 c-f	37 b
T3	384 abc	397 ab	254 cd	345 bc	39 bcd	39 bcd	36 def	38 b
T4	388 abc	229 d	29 bcd	302 c	39 bcd	18 h	33 efg	30 c
Ort.	400 a	386 a	331 b	373	43 a	31 c	35 b	36
	Kök Yaş Ağırlığı (mg)				Kök Kuru Ağırlığı (mg)			
T0	153 a-d	191 a	156 abc	167 ab	14 b-f	18 ab	21 a	17 a
T1	159 abc	191 a	159 abc	170 a	16 abc	15 b-e	10 e-1	14 b
T2	124 b-e	176 ab	125 b-e	142 b	13 b-g	13 b-g	11 d-1	12 bc
T3	108 c-f	160 abc	69 ef	112 c	16 abc	9 gh1	9 gh1	11 c
T4	98 def	63 f	57 f	72 d	11 d-1	8 h1	7 1	9 d
Ort.	128 b	156 a	113 b	133	14 a	13 ab	12 b	13
	Gövde Kuru Madde Oranı (%)				Kök Kuru Madde Oranı (%)			
T0	88.75 c-f	91.88 abc	91.19 a-d	90.61 a	90.64 a-e	90.72 a-e	86.73 gh	89.37 b
T1	90.01 a-e	92.23 ab	90.11 a-e	90.78 a	89.88 b-g	92.24 a-d	93.49 ab	91.87 a
T2	87.60 ef	93.24 a	89.05 b-f	89.96 ab	89.53 c-g	92.76 abc	91.15 a-e	91.15 a
T3	89.76 b-e	90.11 a-e	85.98 f	88.62 b	85.22 h	94.19 a	86.63 gh	88.68 b
T4	89.79 b-e	91.96 abc	88.57 def	90.10 a	88.88 d-h	86.84 fgh	87.60 e-h	87.77 b
Ort.	89.18 b	91.88 a	88.98 b	90.01	88.83 b	91.351 a	89.12 b	89.77
	Çimlenme Hızı (%)				Çimlenme Oranı (%)			
T0	63.33 b	75.00 a	50.00 cd	62.78 a	95.00 a	93.33 ab	91.67 abc	93.33 a
T1	56.66 bc	56.67 bc	50.00 cd	54.44 b	81.67 cde	91.67 abc	83.33 bcd	85.56 b
T2	46.67 cd	46.67 cd	31.67 ef	41.67 cd	71.67 efg	85.00 a-d	85.00 a-d	80.56 c
T3	41.67 de	45.00 d	41.67 de	42.78 d	71.67 efg	76.67 def	75.00 def	74.44 d
T4	40.00 de	43.33 d	28.33 f	37.22 d	63.33 g	68.33 fg	61.67 g	64.44 e
Ort.	49.67 b	53.33 a	40.33 c	47.78	76.67 b	83.00 a	79.33 b	79.667
	Toplam Kuru Madde Oranı (%)				Fide Gücü İndeksi			
T0	65.59 a	53.42 bcd	54.82 bc	57.95 a	10.07 a	10.08 a	9.64 b	9.96 a
T1	57.28 b	47.18 def	48.26 c-f	50.91 b	8.99 d	10.25 a	9.35 bc	9.56 b
T2	56.68 b	42.06 fg	47.62 def	48.79 b	8.14 f	9.28 cd	7.60 g	8.34 c
T3	54.69 bc	48.22 c-f	44.65 efg	49.19 b	7.10 h	8.56 e	7.22 h	7.66 d
T4	49.86 cde	26.09 h	40.15 g	38.70 c	7.41 gh	7.24 h	6.26 ı	6.97 e
Ort.	56.82 a	43.39 c	47.10 b	49.10	8.34 b	9.081 a	8.012 c	8.48
	Tuz Tolerans İndeksi				Vigor İndeksi			
T0	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	2045 ab	2338 a	1979 abc	2121 a
T1	87.29 bc	88.45 ab	88.17 b	87.97 b	1950 abc	2379 a	1916 a-d	2082 a
T2	86.48 bc	78.83 bcd	87.14 bc	84.15 b	1322 efg	2343 a	1819 b-e	1828 b
T3	83.45 bcd	90.28 ab	81.47 bcd	85.07 b	1424 def	1468 c-f	1291 fg	1394 c
T4	76.06 cd	48.90 e	73.53 d	66.16 c	900 g	1038 fg	831 g	923 d
Ort.	86.65 a	81.29 b	86.06 a	84.67	1528 b	1913 a	1567 b	1670

* S0: Salisilik asit uygulaması yok; S1: Salisilik asit 1 mM uygulaması; S2: Salisilik asit 2 mM uygulaması; T0: 0.38 dS m⁻¹

¹ NaCl Dozu; T1: 1.5 dS m⁻¹ NaCl Dozu; T2: 3 dS m⁻¹ NaCl Dozu; T3: 6 dS m⁻¹ NaCl Dozu; T4: 10 dS m⁻¹ NaCl Dozu.

Gövde ve kök kuru madde oranları incelendiğinde, ortalama tuz konsantrasyonlarına göre en fazla kuru madde oranları sırasıyla, T2 (%90.78) ve T1 (%91.87) dozlarında belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonları arttıkça gövde ve kök kuru madde oranları azalmıştır (Vazirimehr ve ark., 2014; Jini ve Joseph, 2017). Gövde ve kök kuru madde oranları bakımından ortalama salisilik asit değerleri incelendiğinde, her iki parametrede de S1 dozu istatistiksel olarak en iyi grupta yer almıştır (Çizelge 1).

Çimlenme hızı ve çimlenme oranı değerleri birlikte incelendiğinde, farklı tuz konsantrasyonlarına göre en yüksek çimlenme hızı ve gücü, kontrol dozunda sırasıyla % 62.78 ve % 93.33 olarak tespit edilmiştir. Tuz konsantrasyon seviyeleri arttıkça çimlenme hızı ve gücü oranları azalmıştır (Asgharipour ve Rafiei, 2011; Islam ve ark., 2012; Güldüren ve Elkoca, 2012). T4 tuz konsantrasyonunun kontrol grubuna göre çimlenme hızı %41, çimlenme oranı ise %31 azalma göstermiştir. Ortalama salisilik asit değerleri incelendiğinde hem çimlenme hızı hem de çimlenme oranı bakımından S1 dozu (% 53.33 ve 83) istatistiksel olarak en iyi grupta yer almıştır (Çizelge 1).

Toplam kuru madde oranı ortalama tuz konsantrasyonları ve salisilik asit bakımından incelendiğinde, sırasıyla %57.95 ve %56.82 olarak her iki parametrede de kontrol uygulamasında belirlenmiştir (Çizelge 1). Tuz konsantrasyon seviyeleri arttıkça toplam kuru madde oranı azalmıştır (Hussein ve ark., 2007; Suhaib ve ark., 2018).

Fide gücü indeksi değerleri ortalama tuz konsantrasyonu seviyelerine göre incelendiğinde, T0 dozunda 9.96 değeri ile istatistiksel olarak en iyi grupta yer almıştır. Tuz konsantrasyonları arttıkça fide gücü indeksi değerleri azalmıştır. T4 tuz konsantrasyonunun, kontrol grubuna göre % 30 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Ortalama salisilik asit değerleri bakımından fide gücü indeksi incelendiğinde, istatistiksel olarak en iyi dozun S1 olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1).

Tuz tolerans indeksi, yüksek oranlardaki tuz içeriğine sahip olan ortamlarda bitkilerin büyüme ve gelişmesini sürdürebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (Maathuis ve Altmann, 1999). Çizelge 1 incelendiğinde, artan tuz seviyelerine bağlı olarak tuz tolerans indeksi değerleri azalmıştır (Abdi ve ark., 2016; Özkan ve Demiroğlu Topçu, 2017). Ortalama tuz seviyeleri incelendiğinde tuz tolerans indeksi, kontrol uygulaması hariç 87.97 ile 66.16 değerleri arasında değişmiştir. Ortalama salisilik asit dozları açısından tuz tolerans indeksi incelendiğinde, S0 (86.65) ve S2 (86.06) uygulamaları aynı istatistiksel grupta yer almıştır (Çizelge 1).

Çalışmada artan tuz seviyelerine bağlı olarak vigor indeksi değerleri azalmıştır. Ortalama tuz seviyeleri incelendiğinde T0 ve T1 tuz konsantrasyonlarında vigor indeksi değeri sırasıyla 2121 ve 2082 olarak belirlenmiştir. Her iki işlem de istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı için uygulamalar arasındaki ilişki farksız olarak tespit edilmiştir. Ortalama tuz seviyeleri arasında T4 tuz konsantrasyonunun kontrole göre vigor indeksi değeri %56 azalmıştır. Ortalama salisilik asit değerleri vigor indeksi değerleri bakımından incelendiğinde, S1 uygulaması istatistiksel olarak diğer işlemlere göre daha iyi olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1).

Araştırmada incelenen parametreler arasında korelasyon analizi yapılmıştır (Çizelge 2). Korelasyon analiz sonuçlarına göre, gövde uzunluğu ile kök uzunluğu arasında pozitif ve çok önemli iken gövde yaş ağırlığı, gövde kuru ağırlığı, kök kuru ağırlığı, tuz tolerans indeksi, fide gücü indeksi, çimlenme gücü, çimlenme oranı ve vigor indeksi arasında pozitif ve önemli ilişki tespit edilmiştir. Kök uzunluğu ile kök yaş ağırlığı, toplam kuru ağırlığı ve vigor indeksi haricinde pozitif yönde önemli korelasyon bulunmuştur. Çimlenme oranı ile kök yaş madde ağırlığı, kök kuru madde ağırlığı ve vigor indeksi haricinde önemli ilişki tespit edilmiştir. Kök yaş ağırlığı ile toplam kuru madde oranı arasında negatif ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Çeşitli araştırmacılar, gövde uzunluğu ile kök uzunluğu ve gövde kuru ağırlığı arasında pozitif ve önemli (Shahzad ve ark., 2012); tuz tolerans

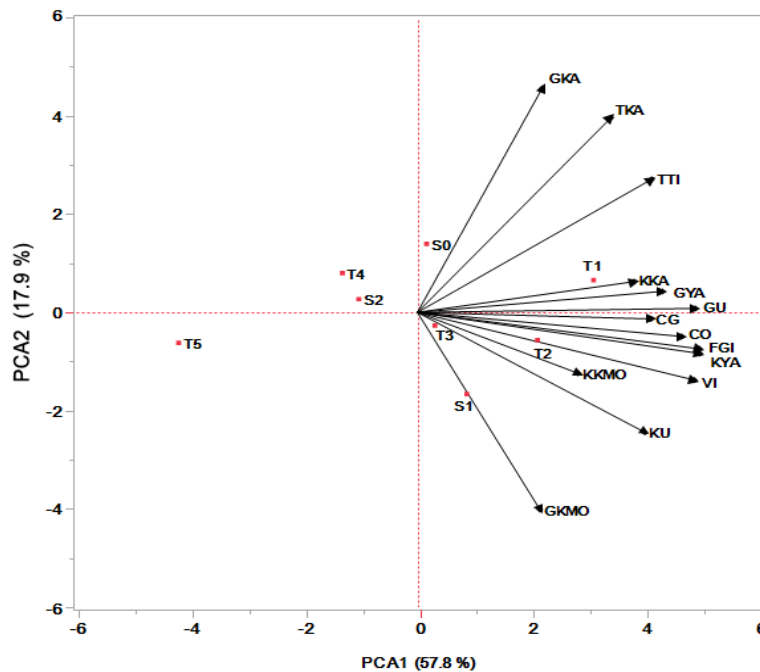
indeksi ile kök kuru ağırlığı, sürgün kuru ağırlığı ve çimlenme oranı arasında pozitif ve önemli ilişkiler (Bağcı ve ark., 2007; Kumar ve ark., 2014) olduğunu bildirdikleri çalışmalar araştırma sonuçlarını desteklemektedir.

Çizelge 2. İncelenen parametreler arasındaki korelasyon tablosu*

	KU	GU	GYA	KYA	GKA	KKA	TKA	GKMO	KKMO	TTI	FGI	ÇG	ÇO
GU	0.69**												
GYA	0.94**	0.60*											
KYA	0.43	0.36	0.26										
GKA	0.63*	0.57*	0.63*	0.24									
KKA	0.62*	0.54*	0.49	0.91**	0.62*								
TKA	0.34	0.11	0.55*	-0.53*	0.36	-0.27							
GKMO	0.63*	0.21	0.69**	0.18	-0.11	0.11	0.33						
KKMO	0.78**	0.45	0.70**	0.71**	0.65**	0.85**	-0.07	0.33					
TTI	0.85**	0.57*	0.92**	0.25	0.63*	0.48	0.50*	0.57*	0.67**				
FGI	0.65**	0.53*	0.72**	0.27	0.63*	0.48	0.37	0.30	0.55*	0.84**			
ÇG	0.82**	0.55*	0.81**	0.24	0.65**	0.47	0.37	0.44	0.72**	0.90**	0.72**		
ÇO	0.90**	0.64*	0.90**	0.13	0.64*	0.39	0.52*	0.53*	0.64*	0.89**	0.69**	0.94**	
VI	0.32	0.55*	0.27	0.45	0.58*	0.61*	0.08	-0.15	0.25	0.22	0.41	0.03	0.10

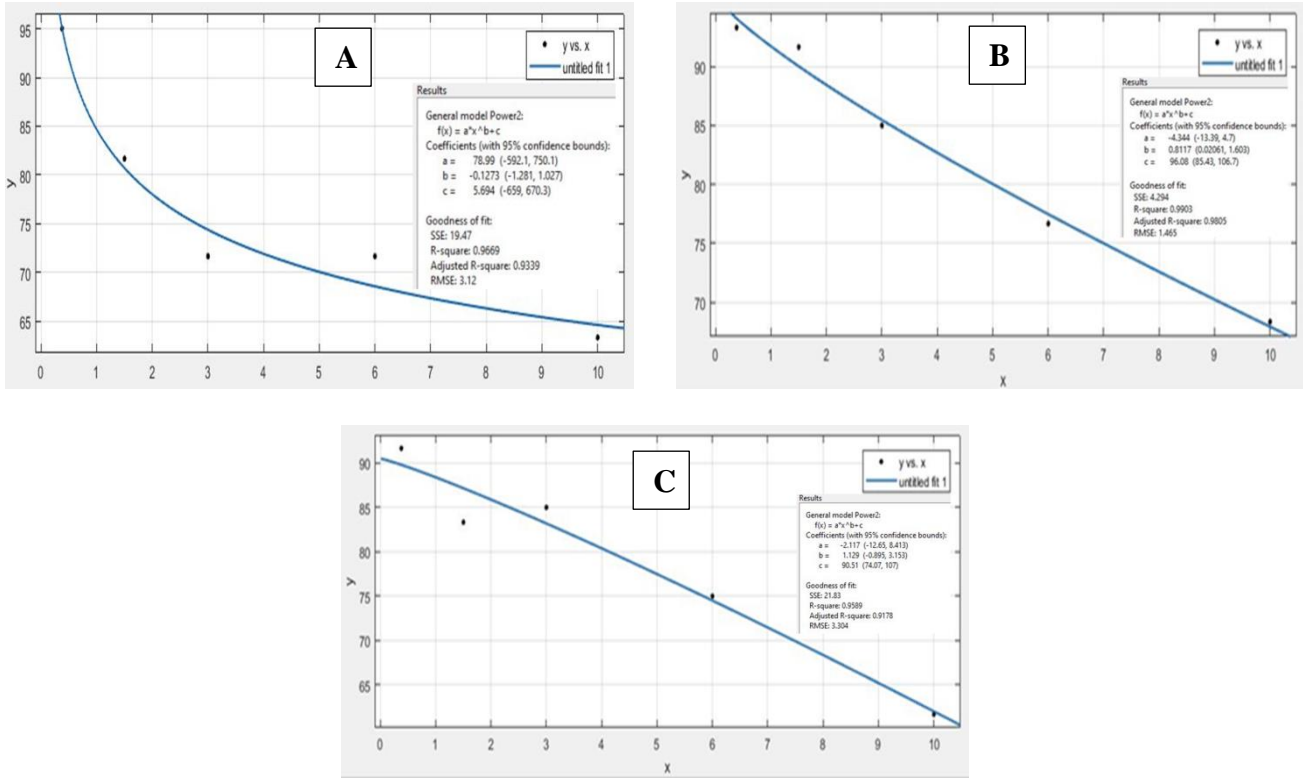
*KU=Kök Uzunluğu; GU= Gövde Uzunluğu; GYA= Gövde Yaş Ağırlığı; KYA= Kök Yaş Ağırlığı; GKA= Gövde Kuru Ağırlığı; KKA= Kök Kuru Ağırlığı; TKA= Toplam Kuru Ağırlığı; GKMO= Gövde Kuru Madde Oranı; KKMO= Kök Kuru Madde Oranı; TTI= Tuz Tolerans İndeksi; FGI= Fide Gücü İndeksi; ÇG= Çimlenme Gücü; ÇO= Çimlenme Hızı; VI= Vigor İndeksi

Biplot grafiği incelenen özellikler ile salisilik asit ve sulama suyu tuzluluk konsantrasyonları arasındaki ilişkiler bir bütün olarak Şekil 1’de verilmiştir (Yan ve Frégeau-Reid, 2008). Bu çalışmada ana bileşen 1 % 57.8 ve ana bileşen 2 % 17.9 olmuş, bu iki bileşen toplamda varyasyonu % 75.7 olmuştur. Biplot grafiğinde vektörlerin açısı daraldıkça, vektörlerin oluşturan parametreler arasındaki ilişkinin güçlendiği, vektörlerin açısı arttıkça ise zayıfladığını anlaşılmaktadır. Ayrıca en kısa vektör uzunluğu kısa olması en ayırt edici bir özellik olarak ortaya çıkmaktadır. (Erbaş Köse ve ark., 2019). Araştırmada gövde kuru madde oranı ile gövde kuru ağırlığı arasında zayıf ilişki iken fide gücü indeksi ile kök yaş ağırlığının en güçlü olduğu tespit edilmiştir. İncelenen parametreler arasında kök kuru madde oranı en ayırt edici özellik olarak tespit edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Biplot analiz grafiği

Araştırmada çimlenme oranı açısından yapılan MATLAB regresyon modellemesinde sulama suyu tuzluluk seviyesi arttıkça çimlenme oranının azaldığı tespit edilmiştir. Bu modelleme salisilik asit dozlarının için ayrı ayrı yapılmıştır. Yapılan S0, S1, S2 için R^2 değeri sırasıyla 0.9669, 0.9903, 0.9589 çok önemli ilişki ve $y_{s0} = 78.99 x^{-0.1273} + 5.694$; $y_{s1} = -4.344 x^{0.8117} + 96.08$ ve $y_{s2} = -2.117 x^{1.129} + 90.51$ formülleri tespit edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen formül yardımıyla % 80 çimlenme oranı için S0, S1 ve S2 uygulamaları için sırasıyla maksimumu 1.62, 5.02 ve 4.14 dSm^{-1} sulama suyu tuzluluğunda belirlenmiştir (Şekil 2). Salisilik asit uygulanmayan ile uygulaması yapılan şeker mısır tohumları arasında 4 – 5 kat tuza dayanıklı sağladığı belirlenmiştir.



Şekil 2. MATLAB Regresyon Grafikleri (A: Salisilik Asit Uygulaması 0 mM; B: Salisilik Asit Uygulaması 1 mM; C: Salisilik Asit Uygulaması 2 mM uygulaması).

SONUÇ

Araştırmada şeker mısırdaki farklı sulama suyu tuzluluğunun oluşturduğu abiyotik stresin salisilik asit uygulamasıyla azaltılması amaçlanmıştır. Araştırmada incelenen özelliklerin ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak çok önemli olduğu gözlemlenmiştir. Artan tuz dozlarının şeker mısırdaki incelenen çimlenme ve fide özellikleri üzerinde strese ve azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Ancak uygulanan salisilik asit ile salisilik asit 1 mM (S1) dozunda tuz stresinin önemli ölçüde baskılandığı ancak salisilik asit 2 mM (S2) dozuna çıktığında ise salisilik asit uygulamasının baskılama özelliğinin azaldığı tespit edilmiştir. Kök Uzunluğunda S1 uygulaması 1.5 $dS m^{-1}$ (T1) ve 3.0 $dS m^{-1}$ NaCl dozlarının etkilerini baskılandığı ve kök uzunluğuna olumlu etki yaptığı görülüyor. Ancak Gövde Uzunluğunda S1 uygulamasının 1.5 $dS m^{-1}$ (T1), 3.0 $dS m^{-1}$ (T2) ve 6.0 $dS m^{-1}$ (T3) NaCl etkilerini baskılandığı, S2 uygulamasının ise T1 ve T2 NaCl dozlarının etkilerini baskılandığı görülüyor. Gövde ve kök yaş ağırlığında S1 uygulaması 1.5 $dS m^{-1}$ (T1), 3.0 $dS m^{-1}$ (T2) ve 6.0 $dS m^{-1}$ (T3) baskılandığı, S2 uygulamasının ise 1.5 $dS m^{-1}$ (T1) ve 3.0 $dS m^{-1}$ (T2) NaCl dozlarının etkilerini baskılandığı tespit edilmiştir. Gövde kuru madde oranı bakımından bütün tuz uygulama dozlarını S1 baskılandığı, kök kuru madde oranında ise 1.5 $dS m^{-1}$ (T1), 3.0 $dS m^{-1}$ (T2) ve 6.0 $dS m^{-1}$ (T3) tuz

dozunu baskıladığı belirlenmiştir. Çimlenme oranı bakımından değerlendirildiğinde salisilik asit 1 mM uygulamasının 1.5 dS m⁻¹ (T1) ve 3.0 dS m⁻¹ (T2) kadar baskıladığı tespit edilmiştir. Fide gücü indeksi ve tuz tolerans indeksi bakımından ise 1.5 dS m⁻¹ (T1) NaCl uygulamasında kadar salisilik asit 1 mM uygulamasının baskı oluşturduğu gözlenmiştir. Vigor indeksi bakımından da 1.5 dS m⁻¹ (T1) ve 3.0 dS m⁻¹ (T2) dozlarında salisilik asit uygulaması ön plana çıkmıştır. Araştırmada incelenen özellikler dikkate alındığında tuz stresinin olumsuz etkilerinin en iyi şekilde 1 mM Salisilik Asit dozunda tolere edildiği ve baskılandığı gözlenmiştir. Yapılan biplot grafiği sonucunda bu tip çalışmalarda en ayırt edici parametrenin kök kuru madde oranı olduğu belirlenmiştir. Yapılan modelleme sonucunda şeker mısır tarımı yapılan tuzlu topraklarda maksimum çimlenme oranı ve optimum fide gelişimi için ekim öncesi tohumlara 1 mM Salisilik Asit uygulamasının faydalı olacağı ve tuz stresinin olumsuz etkilerini giderebileceği belirlenmiştir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Abdelgawad H, Zinta G, Hegab MM, Pandey R, Asard H, Abuelsoud W, 2016. High Salinity Induces Different Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Maize Seedlings Organs. *Frontiers in Plant Science*, 7 (3): 276.
- Akay H, Öztürk E, Sezer İ, Bahadır MC 2019. Effects of Different Salt Concentrations on Germination and Early Seedling Growth in Sugar Maize (*Zea mays* L. Var. *sacharata* sturt.) Cultivars. *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*. 7(2): 103-108.
- Anaya F, Fghire R, Wahbi S, Loutfi K, 2018. Influence of Salicylic Acid on Seed Germination of *Vicia faba* L. Under Salt Stress. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17: 1-8.
- Anıl H, Sezer İ, 2003. Çarşamba Ovası'nda Şeker Mısırın Verim, Verim Unsurları ile Bazı Kalite Karakterlerine Şaşırtmanın ve Farklı Ekim Zamanlarının Etkisi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 18(2): 17-23.
- Asgharipour MR, Rafiei M, 2011. Effect of Salinity on Germination and Seedling Growth of Lentils. *Australian Journal of Basic Applied Science*, 5(11):2002-2004.
- Bağcı, S.A., Ekiz, H., Yılmaz, A., 2007. Salt Tolerance of Sixteen Wheat Genotypes During Seedling Growth. *Turkish J. Agric. Forestry*, 31: 363-372.
- Butola JS, Badola HK, 2004. Seed Germination Improvement Using Chemicals in *Heracleum candicans* Wall, a Threatened Medicinal Herb of Himalaya. *Indian Forester* 130(5): 565-572.
- Demiroğlu Topçu G, Dumanoglu Z, Özkan ŞS, 2018. The Effects of Different Seed Size and Salinity on Germination and Some Early Growth Parameters of Annual Ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) Cultivars, 2nd International Vocational Science Symposium, 26-28 April 2018, Abstract Book, Pp:200, Antalya/Turkey.
- El Goumi Y, Fakiri M, Lamsaouri O, Benchekroun M, 2014. Salt Stress Effect on Seed Germination and Some Physiological Traits in Three Moroccan Barley (*Hordeum vulgare* L.) Cultivars. *Journal of Materials Environmental Science*, 5(2):625-632.
- Erbaş Köse ÖD, Mut Z, Akay H. 2019. Grain Yield And Some Quality Properties Of Domestic And Foreign Oat Genotypes, . International Conference on Agriculture, Food, Veterinary and Pharmacy Sciences (ICAFOP 2019/Trabzon), 16 -18 Nisan 2019 186-190.
- Erdal, Ş., Pamukçu, M., 2005. Tatlı Mısır (*Zea mays* L. var. *saccharata* Sturt.). *Derim*, 22(2): 41-46.
- Güldüren Ş, Elkoca E, 2012. Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi ve Çoruh Vadisi'nden Toplanan Bazı Fasulye (*Phaseolus Vulgaris* L.) Genotiplerinin Çimlenme Döneminde Tuza Toleransları. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 43 (1): 29-41
- Hara T, Tetsuka T, Matsui K, 2012. New Buckwheat Cultivar "Harunoibuki". *Bulletin of the National Agriculture Research Center Kyushu Okinawa Region*, 58: 37-48.
- Hossain MA, Mostofa MG, Fujita M, 2013. Heat-Shock Positively Modulates Oxidative Protection of Salt and Drought-Stressed Mustard (*Brassica Campestris* L.) Seedlings, *Journal of Plant Science Molecular Breeding*, 2: 2389-2402.
- Hu J, Zhu ZY, Song WJ, Wang JC, Hu WM, 2005. Effects of Sand Priming on Germination and Field Performance in Direct-Sown Rice (*Oryza sativa* L.). *Seed Science and Technology*, 33(1): 243-248.

- Hussein MM, Balbaa LK, Gaballah MS, 2007. Salicylic Acid and Salinity Effects on Growth of Maize Plants, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3(4): 321-328.
- Islam MT, Jahan NA, Sen AK, Pramanik MHR, 2012. Effects of Salinity on Morpho-Physiological Attribute and Yield of Lentil Genotypes. *International Journal of Sustainable Crop Production*, 7(1):12-18.
- ISTA, 2003. Handbook of Vigour Test Methods. 2nd Edition. International Seed Testing Association, Zürich, Switzerland. 49-56.
- Jini D, Joseph B, 2017. Physiological Mechanism of Salicylic Acid for Alleviation of Salt Stress in Rice. *Rice Science*, 24: 97-108.
- JMP, 2019. JMP Users Guide. Version 13.0.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Kumar, R., Bhushan, B., Pal, R., Gaurav, S.S., 2014. Correlation and Path Coefficient Analysis for Quantitative Traits in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Under Normal Condition, *Annals of Agri-Bio Research*, 19(3), 447-450.
- Lee EA, Byrne PF, McMullen MD, Snook ME, Wiseman BR, Widstrom NW, Coe EH, 1998. Genetic Mechanisms Underlying Apimaysin and Maysin Synthesis and Corn Earworm Antibiosis in Maize (*Zea Mays* L.). *Genetics*, 149 (4): 1997-2006.
- Maathuis FJM, Altmann A, 1999. K⁺ Nutrition and Na⁺ toxicity: The basis of cellular K⁺ /Na⁺ ratios. *Ann. Bot.*, 10: 123-133.
- Matwijcuk A, Kornarzynski K, Pietruszewski S, 2012. Effect of Magnetic Field on Seed Germination and Seedling Growth of Sunflower. *International Agrophysics*, 26: 271-278.
- Miura K, Tada Y, 2014. Regulation of Water Salinity and Cold Stress Responses by Salicylic Acid, *Frontiers Plant Science*, 5(4): 1-12.
- Munns R, 2002. Comparative Physiology of Salt and Water Stress. *Plant Cell Environment*, (25):239-250.
- Özkan ŞS, Demiroğlu Topçu G, 2017. Farklı Tuz (NaCl) Konsantrasyonlarının Bazı Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Çeşitlerinin Çimlenme Özelliklerine Etkisinin Belirlenmesi. *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(2):37-43.
- Palma F, López-Gómez M, Tejera N, Lluch C, 2013. Salicylic Acid Improves The Salinity Tolerance of *Medicago Sativa* in Symbiosis with *Sinorhizobium Meliloti* by Preventing Nitrogen Fixation Inhibition. *Plant Science*, 208: 75-82.
- Rehman K, Saunders WP, Foye RH, Sharkey SW, 1996. Calcium Ion Diffusion From Calcium Hydroxide-Containing Materials in Endodontically Treated Teeth: A *In Vitro* Study. *International Endodontic Journal*, 29: 271-279.
- Rivas-San Vicente M, Plasencia J, 2011. Salicylic Acid Beyond Defence: Its Role in Plant Growth and Development. *Journal of Experimental Botany*, 62 (10): 3321-3338.
- Semida WM, Abd El-Mageed TA, Mohamed SE, El-Sawah NA, 2017. Combined Effect of Deficit Irrigation and Foliar-Applied Salicylic Acid on Physiological Responses, Yield, and Water-Use Efficiency of Onion Plants in Saline Calcareous Soil. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63 (9): 1227-1239.
- Shahzad, A., Ahmad, M., Iqbal, M., Ahmed, I., Ali, G.M., 2012. Evaluation of Wheat Landrace Genotypes for Salinity Tolerance at Vegetative Stage by Using Morphological and Molecular Markers. *Genet. Mol. Res.* 11 (1): 679-692
- Suhaib M, Ahmad I, Munir M, Iqbal MB, Abuzar MK, Ali S, 2018. Salicylic Acid Induced Physiological and Ionic Efficiency in Wheat Under Salt Stress. *Pakistan Journal Agricultural Research*, 31(1):79-85.
- Sun X, Sun C, Li Z, Hu Q, Han L, Luo H, 2016. *AsHSP17*, a Creeping Bentgrass Small Heat Shock Protein Modulates Plant Photosynthesis and ABA-Dependent and Independent Signalling to Attenuate Plant Response to Abiotic Stress. *Plant Cell Environmental* 39(6):1320-1337.
- Uyanık M, Kara ŞM, Korkmaz K, 2014. Bazı Kışlık Kolza (*Brassica napus* L.) Çeşitlerinin Çimlenme Döneminde Tuz Stresine Tepkilerinin Belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 20: 368-375.
- Vazirimehr M, Rigi K, Branch Z, 2014. Effect of Salicylic Acid in Agriculture. *International Journal of Plant Animal. Environmental Sciences*, 4: 291-296.
- Yan W, Frégeau-Reid JA, 2008. Breeding Line Selection Based on Multiple Traits. *Crop Sciences* 48:417-423.
- Yousofinia, M., Ghassemian, A., Sofalian, O., Khomari, S., 2012. Effects of Salinity Stress on Barley (*Hordeum vulgare* L.) Germination and Seedling Growth. *International Journal of Agriculture Crop Science*, 4(18):1353-1357.

Atf İçin: Şelem E, Nohutçu N, Tunçtürk R, Tunçtürk M, 2021. Vermikompostlu Ortamda Yetiştirilen *Calendula officinalis* L. Bitkisinde Tuz Stresinin Morfolojik ve Anatomik Gelişim Parametreleri Üzerindeki Etkisi Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3222-3231.

To Cite: Selem E, Nohutcu N, Tuncturk R, Tuncturk M, 2021. Effect of Salt Stress on Morphological and Anatomical Growth Parameters of *Calendula officinalis* L. Plant Grown in Vermicompost Medium. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3222-3231.

Vermikompostlu Ortamda Yetiştirilen *Calendula officinalis* L. Bitkisinde Tuz Stresinin Morfolojik ve Anatomik Gelişim Parametreleri Üzerindeki Etkisi

Ezelhan ŞELEM^{1*}, Lütfi NOHUTÇU¹, Rüveyde TUNÇTÜRK¹, Murat TUNÇTÜRK¹

ÖZET: Tarım arazilerinde yaşanan tuzluluk sorunu yoğun olarak üretimi yapılan türlerde yetiştiriciliği sınırlandırmaktadır. Özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde yaşanan tuzluluk sorununa yönelik alternatifler geliştirilmekte ve toprağın organik maddece zenginleştirilmesi bunların en önemlilerinden birisi olarak görülmektedir. Toprak yapısını iyileştirme, verim ve kalitede artış, bitki büyüme ve gelişimi üzerinde olumlu etki gösteren vermicompost yetiştiricilikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle abiyotik stres faktörlerinden olan tuzluluk stresinde zararlanma derecesini kontrol grubuna kıyasla ciddi oranlarda azalttığı bilinmektedir. Yapılan çalışmada %30 vermicompostlu tarla toprağı ile %100 tarla toprağında yetiştirilen bitkilerin farklı tuz konsantrasyonundaki (kontrol (0), 50, 100, 150 mM NaCl) gelişimi incelenmiş ve bitkilerin vermicompostlu ortamda daha iyi bir gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada stoma eni, stoma boyu, stoma yoğunluğu, epidermal hücre sayısı, stoma indeksi, yaprak alanı, klorofil miktarı ve renk değerleri (L*, a*, b*, Chroma ve Hue) incelenmiştir. Renk değerlerinden L*, a*, b* ve Chroma'nın istatistiksel olarak önemsiz olduğu fakat Hue açısı değerinin vermicompostlu ortamda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yaprak alanının vermicompostlu ortamda daha yüksek olduğu ve artan tuz stresine paralel olarak azalış gösterdiği görülmüştür. Stoma boyutlarının da benzer şekilde vermicompostlu ortamda en yüksek değere sahip olduğu tuz dozu artışına paralel olarak azalış gösterdiği saptanmıştır. Stoma ve epidermal hücre yoğunluğunun korelasyon içerisinde olduğu ve vermicompostlu ortamın yoğunlukta daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Abiyotik stres, aynısafa, renk, stoma, vermicompost

Effect of Salt Stress on Morphological and Anatomical Growth Parameters of *Calendula officinalis* L. Plant Grown in Vermicompost Medium

ABSTRACT: The salinity problem experienced in agricultural land limits the cultivation of intensively produced species. Alternatives are developed for the salinity problem, especially in arid and semi-arid regions, and the enrichment of the soil with organic matter is seen as one of the most important of these. Vermicompost, which has a positive effect on improvement of soil structure, increase in yield and quality, plant growth and development, is widely used in cultivation. It is known that salinity stress, which is one of the abiotic stress factors, significantly reduces the degree of damage compared to the control group. In the study, the development of the plants grown in the field soil with 30% vermicompost and 100% field soil in different salt concentration (control (0), 50, 100, 150 mM NaCl) was examined and it was determined that the plants showed a better development in the vermicompost medium. In the study were examined stoma width, stoma length, stoma density, epidermal cell number, stoma index, leaf area, chlorophyll amount and color values (L *, a *, b *, Chroma and Hue). Among the color values, it was determined that L *, a *, b * and Chroma were statistically insignificant, but the Hue angle value was higher in the vermicompost medium. It was observed that the leaf area was higher in the vermicompost medium and decreased in parallel with the increasing salt stress. Similarly, it was determined that the size of the stoma decreased in parallel with the increase in the salt dose and has the highest value in vermicompost medium. It was concluded that stoma and epidermal cell density were in correlation and vermicompost medium was more effective in density.

Keywords: Abiotic stress, common marigold, color, stoma, vermicompost

¹Ezelhan ŞELEM ([Orcid ID: 0000-0003-4227-5013](https://orcid.org/0000-0003-4227-5013)), Lütfi NOHUTÇU ([Orcid ID: 0000-0003-2250-2645](https://orcid.org/0000-0003-2250-2645)), Rüveyde TUNÇTÜRK ([Orcid ID: 0000-0002-3759-8232](https://orcid.org/0000-0002-3759-8232)), Murat TUNÇTÜRK ([Orcid ID: 0000-0002-7995-0599](https://orcid.org/0000-0002-7995-0599)), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Van, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ezelhan ŞELEM, e-mail: ezelhansalem@hotmail.com

GİRİŞ

Sürekli artan insan nüfusu ve küresel iklim değişikliği göz önüne alındığında topraklarda tuzlanmanın artış gösterdiği ve bu noktada abiyotik stres çalışmalarının giderek daha önemli hale geldiği görülmektedir (Kozminska ve ark., 2017). Tuzluluk yaprak ve köklerde mitoz bölünmenin yavaşlamasına, reaktif oksijen türleri (ROS) seviyelerinin artmasına ve detoksifiye yeteneğinin bozulmasına, doku zedelenmesine, klorofil yoğunluğunda azalma gibi hasarlara sebebiyet vermektedir. Belirtilen zararlanmalar neticesinde bitkilerin uzun süre ve yoğun şekilde tuzluluğa maruz kaldığında hayatiyetlerinin sonlandığı pek çok çalışma ile ortaya konulmuştur (Sharp ve ark., 1988; Durand ve ark., 1995; Apel ve Hirt, 2004; Munns ve Tester, 2008; Allu ve ark., 2014; Kozminska ve ark., 2017). Yapılacak olan tarımsal üretimde özellikle tuzluluk sorunu olan alanların değerlendirilmesinde tuza toleranslı ekonomik öneme sahip alternatif türlerin yetiştirilmesi önerilmektedir. Bu noktada tıbbi ve aromatik özellikteki bitkilere bir yönelim olduğu görülmektedir (Muhammad ve Hussain, 2010).

Tuz toleransı fazla bilinmeyen ve süs bitkisi olarak da kullanılan tıbbi bir bitki olan *C. officinalis* çoğunlukla kadife çiçeği ile karıştırılmaktadır. Asteraceae familyasından olan Aynısafa veya tıbbi nergis olarak da bilinen tür özellikle antienflamatuvar özellikleri nedeniyle uzun bir tıbbi kullanım geçmişine sahiptir. *Calendula* özünü içeren kremler ve jellerin özellikle radyoterapi sonrası cilt tahrişi ve iltihaplanmaları, yanık tedavisi ve yara iyileşmesine yardımcı olmak için yaygın olarak kullanıldığı belirlenmiştir (Edwards ve ark., 2015). Yapılan çalışmalarda tuzlu ortamlarda yetiştirilen *C. officinalis*' te tohum çimlenmesi, fide büyümesi, bitki-su ilişkisi, iyonik denge ve biyokimyasal tepkileri araştırılmıştır (Chaparzadeh ve ark., 2004; Torbaghan, 2012; Gharineh ve ark., 2013; Oprica ve ark., 2015). Türün ekonomik değeri göz önüne alındığında özellikle kurak ve yarı kurak alanlarda yetiştirilme potansiyeli yüksek alternatif bitkilerden olduğu görülmektedir.

Tuzluluk sorununun olduğu tarımsal üretimde etkin olarak kullanılmayan alanlarda toprak yapısını iyileştirici organik maddelerin kullanımının çözüm noktasında ön plana çıktığı görülmektedir. Tuzluluğun yanı sıra organik maddece fakir olan alanlarda verimliliği ve sürekliliği sağlama açısından da önemli bir girdi olduğu bilinmektedir. Bu noktada vermikompost, humik asit gibi organik maddelerin kullanımına yönelik çalışmalar yapılmış ve bitkilerin stres fizyolojisi üzerinde olumlu etkileri olduğu bilimsel araştırmalar ile ortaya konmuştur (Kıran, 2019; Benazzouk ve ark., 2020; Tunçtürk ve ark., 2020; García-Galindo ve ark., 2021). Solucan gübresi ile organik materyallerin birlikte kullanılmasıyla elde edilen vermikompostun ürün verimi ve besin elementi alımı üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Garg et al., 2010; Küçükyumuk ve ark., 2014). Vermikompost içerdiği makro ve mikro yararlı elementler bakımından da toprak düzenleyicisi olarak büyük yarar sağlamaktadır (Bellitürk, 2016).

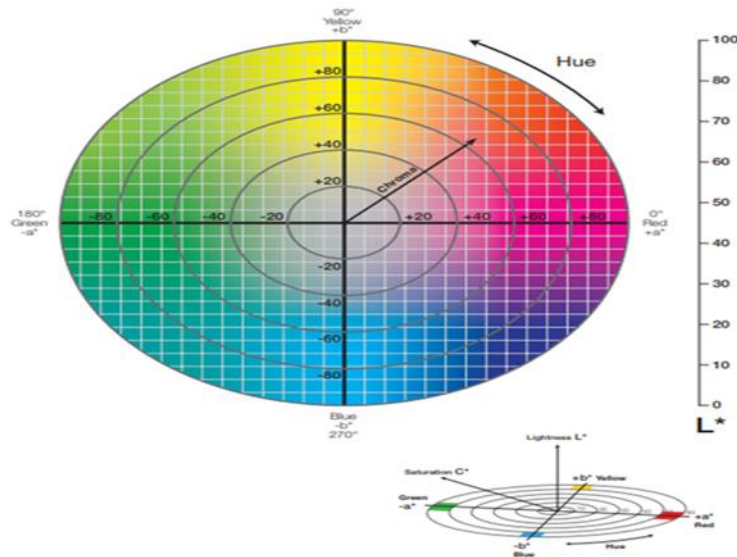
Tuz stresi ve vermikompostun bitki gelişimi ve fizyolojisi üzerine etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar oldukça kapsamlı iken *C. officinalis* üzerindeki etkilerine yönelik çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada iki farklı ortamda (%30 vermikompostlu tarla toprağı ile %100 tarla toprağı) dört farklı konsantrasyondaki tuz dozunun (kontrol (0), 50, 100, 150 mM NaCl) bitkideki morfolojik ve anatomik parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıbbi Bitkiler Bahçesi' nde yetiştirilen *C. officinalis* bitkilerinden elde edilen tohumların materyalini oluşturduğu çalışma Van YYÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü iklim odasında Bölünmüş Parseller Deneme Deseni' ne göre faktöriyel düzende kurulmuştur. Üç tekerrürlü yürütülen çalışmada bitkiler 25°C sıcaklık, 8/16 saatlik karanlık/aydınlık fotoperiyotta ve

% 65 neme sahip olan ortamda 500cc'lik saksılarda yetiştirilmiştir. Çalışmada faktör olarak iki farklı yetiştirme ortamı (toprağı O₁: %100 tarla toprağı ile O₂: %30 vermikompostlu tarla toprağı) ve dört tuz dozu konsantrasyonu (kontrol (0), 50, 100, 150 mM NaCl) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan toprağın kumlu killi tın tekstür yapısında, kireçli (% 17.9), pH alkali reaksiyonlu (8.18) olup tuz oranı (% 0.021), organik madde (% 1.17), azot içeriğı (0.049 me/100g) ve yarayışlı fosfor içeriğı (6.70 ppm) ile potasyum miktarı (488 ppm) belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan vermikomposta ait özellikler; organik madde miktarı % 51.4, Toplam N % 2.5, organik N % 2.3, suda çözünür Potasyum Oksit % 2.04, toplam Fosfor Penta Oksit % 2.4, C/N 8.3, maksimum EC %5.6 dS/m ve pH 7 – 9.5 şeklindedir. Tarla toprağı 121°C'deki otoklavda 45 dk bekletilerek sterilize edilmiştir (Alef ve Nannipleri, 1995). Tohumlar 31.08.2020 tarihinde ekilmiştir. Denemede farklı konsantrasyonlara sahip tuz (NaCl) solüsyonları bitkilerin 5-6 yapraklı olduğı dönemde uygulanmıştır. Çalışma, 60. günde gerekli ölçüm ve gözlemler yapılmak üzere sonlandırılmıştır.

Renk değerleri Minolta CR-400 (Osaka, Japan) marka renk ölçer ile L* , a* , b* C ve Hue° açı değeri olarak ifade edilmiştir. L* açıklık (L*=0 siyah ve L*=100 beyaz), a* kırmızı/yeşil (+a* kırmızı, – a* ise yeşil), b* sarı/mavi (+b* sarı, -b* mavi), Chroma canlılık veya matlık, Hue ise algılanan renk ve rengin ismini belirleyen değerlerdir (Anonim, 2021).



Şekil 1. L*, a*, b*, Chroma ve Hue değerinin renk aralığı (Anonim, 2021).

Klorofil ölçümü taşınabilir Minolta SPAD-502 (Osaka, Japan) klorofil metre cihazı ile yaprak alanı ölçümü ise Easy Leaf Area programı kullanılarak yapılmıştır.

Stoma analizleri Sitoloji Laboratuvarlarında ışık mikroskobunda (Leica DM500) ve Leica LAS EZ (versiyon 3.0) yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Stoma eni, boyu ve yoğunluklarını belirlemek amacıyla tırnak cilası yöntemi kullanılmış ve örnekler mikroskopta incelenmiştir. Stoma ve epidermal hücre sayısı mm²'lik alana düşen sayı olarak hesaplanmıştır. Stoma indeksi ise aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir (Meidner ve Mansifield 1968).

Stoma İndeksi= mm² 'deki stoma sayısı / (mm² 'deki stoma sayısı + mm²'deki epidermis hücre sayısı) ×100

Elde edilen verilerin hesaplanması COSTAT (6.3 versiyonu) bilgisayar analiz programı kullanılarak yapılmış olup önemli çıkan uygulamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Yöntemi' ne göre karşılaştırılmıştır (Düzgüneş ve ark. 1987).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Yürütülen çalışmada renk değerlerinden L^* , a^* , b^* , Chroma ve Hue değerleri ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 1’de verilmiştir. L^* , a^* , b^* ve Chroma değerlerinin ortam, tuz dozları ve ortam \times tuz dozu interaksyonunun istatistiksel olarak önemsiz olduğu sonucuna varılmıştır. Renk değerlerinden a^* ’nın eksilerde olduğunda yeşilin daha hâkim olduğu bilinmekte olup bu değer O_2 ’de daha yüksek olduğu fakat farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür. Hue açısı değeri tuz dozu ile ortam \times tuz dozu interaksyonunda istatistiksel olarak önemsiz iken farklı yetiştirme ortamlarında istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu görülmüştür. En düşük Hue açısı değerinin 124.01 ile O_1 ’de, en yüksek değer ise 126.34 ile O_2 ’de olduğu saptanmıştır. Rengin ismini belirleyen Hue değerinin Şekil 1’de belirtildiği gibi 90° ’dan 180° ’e doğru gidildikçe daha yeşil olduğu anlaşılmaktadır. Elde edilen sonuçlarda vermikompostlu ortamda yetişen (O_2) bitkilerin yeşil renk değerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Yaprak alanının tuz dozu ve ortam uygulamalarında istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu, ortam \times tuz dozu interaksyonunun ise istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. Ortam uygulamalarında en düşük yaprak alanı O_1 ’de 5.02 cm^2 iken en yüksek değer vermikompostlu ortamda yetişen bitkilerde 7.31 cm^2 olduğu belirlenmiştir. Tuz dozu uygulamalarında ise yaprak alanının artan tuz dozlarına paralel olarak azalış gösterdiği saptanmıştır. En fazla yaprak alanı (7.79 cm^2) kontrol uygulamalarından, en düşük yaprak alanının ise 4.42 cm^2 T_3 uygulamasından tespit edilmiştir.

İncelenen parametrelerden klorofil miktarının ortam ile ortam \times tuz dozu interaksyonu bakımından istatistiksel olarak önemsiz olduğu fakat tuz dozlarının istatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. En yüksek klorofil miktarının 44.76 SPAD değeri ile T_2 ’den en düşük klorofil miktarının 39.6 SPAD değeri ile kontrolden sağlandığı Çizelge 1’de görülmektedir.

Çizelge 1. *C. officinalis* bitkisinde ölçülen renk değerleri, yaprak alanı ve klorofil değeri

Uygulamalar		Özellikler						
Tuz Dozları	Ortamlar	L^*	a^*	b^*	Chroma	Hue	Yaprak alanı (cm^2)	Klorofil miktarı (SPAD)
T_0	O_1	43.43	-12.79	19.31	23.15	124.13	6.54	39.93
	O_2	43.56	-13.95	19.33	23.86	126.07	9.04	39.26
T_0 Ortalama		43.49	-13.37	19.32	23.50	125.1	7.79A	39.6B
T_1	O_1	42.22	-13.19	20.07	24.05	123.97	5.30	42.53
	O_2	43.39	-13.66	19.04	23.44	125.77	7.57	43.8
T_1 Ortalama		42.80	-13.425	19.55	23.74	124.87	6.43B	43.16A
T_2	O_1	41.75	-12.28	17.55	21.43	125	4.63	44.7
	O_2	43.25	-13.11	17.34	21.74	127.19	7.01	44.83
T_2 Ortalama		42.50	-12.6975	17.45	21.58	126.09	5.82C	44.76A
T_3	O_1	45.94	-13.81	22.18	26.18	122.96	3.62	42.03
	O_2	44.41	-12.86	17.83	22.01	126.33	5.61	42.46
T_3 Ortalama		45.17	-13.34	20.00	24.09	124.64	4.42C	42.25AB
O Ortalaması	O_1	43.33	-13.02	19.78	23.70	124.01B	5.02B	42.3
	O_2	43.65	-13.39	18.38	22.76	126.34A	7.31A	42.59
VK (%)		6.47	10.49	17.86	15.46	1.51	10.72	5.96
T		öd	öd	öd	öd	öd	**	*
O		öd	öd	öd	öd	**	**	öd
T \times O		öd	öd	öd	öd	öd	öd	öd

T: Tuz, O: Ortam, T \times O: Tuz ve ortam interaksyonu, O_1 : Tarla toprağı, O_2 : %30 vermikompost ilaveli tarla toprağı, T_0 : Kontrol (0 NaCl), T_1 : 50 mM NaCl, T_2 : 100 mM NaCl, T_3 : 150 mM NaCl, öd: Önemi değil.

* $P < 0.05$ düzeyinde, ** $P < 0.01$ düzeyinde önemli

Tuz stresi altında farklı ortamlarda yetiştirilen *C. officinalis* bitkisinin stoma özellikleri incelendiğinde stoma eni, stoma boyu, stoma yoğunluğu ve epidermal hücre sayısının ortam ve tuz dozundan %1 seviyesinde istatistiksel olarak etkilendiği tespit edilirken, O \times T interaksyonundan istatistiksel olarak stoma eni %5 diğer parametreler ise %1 düzeyinde etkilenmişlerdir. Stoma eni ve

stoma boyu değerleri artan tuz dozlarına paralel olarak azalış göstermekte olup en yüksek değerler sırasıyla; 24.62 μm ve 31.82 μm ile kontrolden, en düşük değerler ise 14.25 μm ile 24.27 μm T_3 uygulamalarından tespit edilmiştir. $O \times T$ interaksyonu bakımından en yüksek stoma eni ve boyu sırasıyla; 26.91 μm ve 36.60 μm ile $T_0 \times O_2$ uygulamasından tespit edilmiştir.

Stoma yoğunluğu incelendiğinde vermikompostlu ortamda yetiştirilen bitkilerde sayının daha yüksek (148.83 adet mm^{-2}) olduğu görülmüştür. Uygulanan tuz dozlarında ise en yüksek değer 161.28 adet mm^{-2} ile T_0 uygulamasından, en düşük değer ise 131.69 adet mm^{-2} ile T_2 uygulamalarından elde edildiği ve kontrol dışındaki diğer tuz uygulamaları ile aralarında istatistiksel farklılığın olmadığı dikkat çekmektedir.

Epidermal hücre sayısı ile stoma yoğunluğunun korelasyon içerisinde olduğu, epidermal hücre sayısının en yüksek değerinin O_2 'de 769.63 adet mm^{-2} ve bunu O_1 'in 631.32 adet mm^{-2} ile takip ettiği, tuz dozu uygulamalarında ise en yüksek değer (732.46 adet mm^{-2}) kontrol uygulamalarından elde edildiği, en düşük değer ise (656.11 adet mm^{-2}) T_2 uygulamalarından elde edildiği Çizelge 2' de görülmektedir. Ayrıca söz konusu parametre ile ilgili olarak kontrol dışındaki diğer tuz dozlarından elde edilen değerler aynı Duncan grubu içerisinde yer almıştır.

Stoma indeksi üzerine, istatistiksel olarak ortam %5, ortam \times tuz dozu interaksyonu %1 düzeyinde önemli iken tuz dozunun önemsiz olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmada ortam uygulamaları bakımından en yüksek stoma indeksi oranının % 17.06 ile O_1 ortamında olduğu belirlenmiştir. En yüksek stoma indeksi oranı (% 17.59) $T_0 \times O_2$ kombinasyonundan elde edilmiştir.

Çizelge 2. *C. officinalis* bitkisindeki anatomik ölçümler.

Uygulamalar		Özellikler				
Tuz Dozları	Ortamlar	Stoma eni(μm)	Stoma boyu(μm)	Stoma yoğunluğu (adet mm^{-2})	Epidermal hücre sayısı (adet mm^{-2})	Stoma indeksi (%)
T_0	O_1	22.33b	27.05cd	88.40d	468.35e	15.87ab
	O_2	26.91a	36.60a	234.17a	1096.56a	17.59a
T_0 Ortalama		24.62A	31.82A	161.28A	732.46A	16.71
T_1	O_1	18.02cd	24.70de	120.25cd	544.30de	18.09a
	O_2	21.15b	31.33b	143.95bc	855.40b	14.40b
T_1 Ortalama		19.59B	28.02B	132.10B	699.85B	16.24
T_2	O_1	17.32d	24.00de	145.56bc	708.85c	17.03a
	O_2	19.19c	29.64c	117.82cd	603.37d	16.33a
T_2 Ortalama		18.25B	26.82B	131.69B	656.11B	16.59
T_3	O_1	10.98e	22.78e	167.70b	803.79b	17.26a
	O_2	17.52d	25.77d	99.38d	523.20e	15.96ab
T_3 Ortalama		14.25C	24.27C	133.54B	663.49B	16.61
O Ortalaması	O_1	17.16B	24.63B	130.48B	631.32B	17.06A
	O_2	21.19A	30.84A	148.83A	769.63A	16.02B
VK (%)		5.97	3.57	10.48	5.87	7.10
T		**	**	**	**	öd
O		**	**	**	**	*
T \times O		*	**	**	**	**

T: Tuz, O: ortam, T \times O: Tuz ve ortam interaksyonu, O_1 : Tarla toprağı, O_2 : %30 vermikompost ilaveli tarla toprağı, T_0 : Kontrol (0 NaCl), T_1 : 50 mM NaCl, T_2 : 100 mM NaCl, T_3 : 150 mM NaCl, öd: Önemli değil.

* $P < 0.05$ düzeyinde, ** $P < 0.01$ düzeyinde önemli.

Araştırmalar solucan gübresinin biyolojik aktiviteyi kalıcı olarak artırdığını ve zararlanmaları azalttığını ortaya koymuştur (Atiyeh ve ark., 2000). *C. officinalis* bitkisinde vermikompostun gelişim ve çiçeklenme üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada %10, %20, %30, %40, %50 ve %60 oranlarında toprağı vermikompost karıştırılmış ve gelişim parametrelerinde en iyi sonucun %30'luk orandaki ortamda olduğu belirtilmiştir (Sardoei, 2014). Yürütülen çalışmada %30'luk vermikompostlu ortam kullanılmış olup incelenen parametrelerde O_1 'den daha etkili olduğu görülmüştür.

Birçok araştırmacı çilek (Tekin ve Çavuşoğlu, 2018), nohut (Aydoğan ve ark., 2014), ıspanak (Dadali ve ark., 2007) ve patlıcan (Taşova, 2018) gibi farklı bitkilerde uygulamalar arasındaki renk değişimlerini L*, a*, b* Chroma ve Hue açısı değeri cinsinden belirtmiştir. Çağında ve Ötleş (2008), ıhlamur, siyah çay, adaçayı, kuşburnu, kekik, ısırgan, papatya, yeşil çay, nane ve biberiye bitkilerinin farklı demlenme sürelerindeki L*, a*, b* renk değişimlerini incelemiş ve renk değerleri ile toplam antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarı arasında korelasyon olduğunu saptamıştır. Nohut yaprağında renk parametrelerinden olan L* değerinin 32.29 ile 35.57, a* değerinin -4.11 ile -3.46 ve b* değerinin 5.07 ile 6.31 aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Aydoğan ve ark., 2014). Patlıcanda L* değerinin 72.92, a* değerinin -0.68, b* değerinin 13.49, Chroma değerinin 13.51 ve Hue açısı değerinin -87.04 olduğunu belirlemiştir (Taşova, 2018). Yürütülen çalışmada yeşil renge sahip olan *C. officinalis* yapraklarının tuz uygulamalarından kaynaklı renk parametrelerinde değişimin olmadığı fakat ortam uygulamalarında rengin ismini belirleyen değer olan Hue açısı değerinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür.

C. officinalis bitkisinde farklı konsantrasyonlarda tuz uygulaması yapılmış ve artan tuz stresine paralel olarak yaprak alanının 700, 500 ve 300 cm² g⁻¹ olarak azalış gösterdiği bildirilmiştir (Bayat ve ark., 2012). Vermikompost uygulamaların biber, domates, çilek (Arancon ve ark., 2003), ıspanak (Toksoy, 2019) ve pazı (Altay ve ark., 2017) bitkilerinde yaprak alanını artırma üzerinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Yüksek ve ark. (2020), Küba kekiği (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng) bitkisinde katı ve sıvı formdaki solucan gübresinin yaprak alanında artış sağladığını, 450 cc'lik saksılarda 10 gr katı vermikompost içeren uygulamalarda en yüksek değere ulaşıldığını bildirmiştir. Çalışmamızda tuz konsantrasyonlarına paralel olarak yaprak alanlarının azaldığı fakat vermikompostlu ortamlarda yetiştirilen bitkilerde yaprak alanının daha yüksek olduğu ve ilgili literatür ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

Sardoei, (2014), yaptığı çalışmada en yüksek klorofil miktarının %30 vermikompost içeren ortamda olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda vermikompostlu ortamda klorofil miktarının daha yüksek olduğu fakat bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür. Artan tuz dozlarının klorofil miktarında düşümlere neden olduğu bilinmektedir. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen *C. officinalis* bitkisinde klorofil değerinin ortalama 37.30 ve 38.26 SPAD değerine sahip olduğu ve en yüksek değerin kontrol grubundan elde edildiği belirtilmiştir (Swaefy ve ark., 2020). Çalışma sonucundan elde edilen verilere göre; tuz dozlarındaki artışın klorofil miktarında azalışlara neden olmadığı görülmüştür. Bu durumun Chaparzadeh ve ark., (2004)'nin belirttiği gibi *C. officinalis*'in tuza dayanıklı bir tür olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

C. officinalis'de genel olarak stomalar yaprak yüzeyinin her iki tarafında (amfistomatoz) eşit yoğunlukta bulunmaktadır. Bu yoğunluğun stres altında çoğunlukla artış gösterdiği bildirilmiştir (Nazdar ve ark., 2019). İki farklı *C. officinalis* varyetesinde yapılan çalışmada "Candyman" varyetesinin stoma yoğunluğunun 192.31 adet mm⁻² olduğu ve artan sıcaklık stresinde bu oranın 118.59 adet mm⁻²'ye kadar düştüğü, Indian Prince varyetesinde ise yoğunluğun 230.77 adet mm⁻² artan strete bu sayının 160.26 adet mm⁻²'ye kadar gerilediği bildirilmiştir (Nazdar ve ark., 2019). Tuz stresi altında yetiştirilen *C. officinalis* bitkisinin stoma ve epidermal hücre yoğunluğunun O₁ ve O₂ ortamlarında tutarsız sonuçlar verdiği görülmüştür. Artan tuz stresine bağlı olarak O₁ ortamında stoma ve epidermal hücre yoğunluğunun artış gösterdiği fakat O₂ ortamında ise azalış gösterdiği görülmüştür. Bu durumdan kullanılan vermikompostlu ortamın olumlu etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu hususta araştırmacıların bir kısmı strese bağlı olarak stoma yoğunluğunun ve epidermal hücre sayısının artış gösterdiğini bildirirken (Xu ve ark., 2009; Zhang, ve ark., 2010; Gan ve ark., 2010; Sarker ve Hara,

2011) diğer bir kısmı tersi bir durumun söz konusu olduğunu belirtmiştir (Ferris ve ark., 1996; Bañon Fernandez ve ark., 2004; Mehri ve ark., 2009; Ozyigit ve Akinci, 2009; Nazdar ve ark., 2019). Bu durumun farklı tür, stres yoğunluğu, fizyolojik olaylar ve ortam şartları gibi nedenlerden kaynaklanabileceği vurgulanmıştır (Mısırlı ve Aksoy, 1994; Çınar ve ark., 2016; Şelem ve ark., 2020). Elde edilen veriler ışığında vermikompostlu ortamın stoma ve epidermal hücre yoğunluğunda strese karşı etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Su stresinin bitkide anatomik değişimlere neden olduğu ve stomaların bu durumdan etkilendiği kaydedilmiştir (Haworth ve ark., 2018). Su stresi altında yetiştirilen türlerin stoma boyutlarında değişimlerin olduğu araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (Yang ve Wang, 2001; Zhang ve ark., 2004; Haworth ve ark., 2018). Mirzaie ve ark. (2020), *Cymbopogon citratus* L. bitkisinde stoma eni ve boyunun artan su stresine paralel olarak azalış gösterdiğini ortaya koymuştur. Çalışmamıza benzer şekilde Xu ve Zhou, (2008)'da stresin artmasının stoma boyutlarını olumsuz yönde etkileyerek küçülmelerine sebep olduğunu bildirmiştir. Ansari, (2020), *C.officinalis* bitkisinde stoma enininin 20.5 µm ve boyunun 29.5 µm olduğunu ve stresin artan dozlarında azalış gösterdiğini ortaya koymuştur. Kastori ve ark. (2008)'da *Helianthus annuus* bitkisinde de benzer sonuçlar elde etmiştir. En yüksek stoma indeksinin kontrol grubunda elde edildiği çalışmamız Sarker ve Hara (2011)'nin patlıcan bitkisinde, Çınar ve ark. (2016)'nın yer fıstığında elde ettiği sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

SONUÇ

C. officinalis'in Güney Avrupa'ya özgü bir tür olmasına karşın Kuzey Avrupa, Kuzey Afrika, Çin ve Amerika Birleşik Devletleri'nin birçok ılıman bölgesinde doğallaşmıştır. Türkiye de ise kültür formu olduğu ve doğal olarak yetiştiği bilinmektedir. Önemli tıbbi bitkilerden olan tür farmakoloji ve süs bitkileri sektöründe yaygın olarak kullanılmakta ve ticari üretimine yönelik çalışmalar yürütülmektedir.

Yapılan çalışmada tuz stresi altında yetiştirilen *C. officinalis*'in vermikompostlu ortamda daha iyi gelişim gösterdiği belirlenmiştir. İncelenen parametreler açısından artan tuz dozlarına bağlı olarak stoma ölçümlerinde farklılıkların olduğu fakat renk değerleri açısından değişimin olmadığı belirlenmiştir. Yaprak alanının vermikompostlu ortamda daha yüksek olduğu fakat artan tuz dozlarına paralel olarak azalış gösterdiği ve en yüksek alanın kontrol gruplarında olduğu görülmüştür. Tuzluluk sorununun artış gösterdiği alanlarda vermikompost ile iyileştirilmiş tarım arazilerinde yetiştirilebileceği ve tuz stresine orta düzeyde toleranslı bir tür olduğu sonucuna varılmıştır.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığı beyan olunur.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Alef K, Nannipleri P (1995) Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press.
- Allu AD, Soja AM, Wu A, Szymanski J, Balazadeh S, 2014. Salt Stress and Senescence: İdentification of Cross-Talk Regulatory Components. Journal of Experimental Botany. 65, 3993-4008.
- Altay H, Aksu G, & Köksal SB, 2017. Vermikompostun Bazı Toprak Özellikleri ve Pazı Bitkisinde Verim Üzerine Etkisi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5(2), 123-128.
- Ansari BK, 2020. Çinko (Zn²⁺) Toksikitesi Koşullarında Aynısefa (*Calendula Officinalis*) Bitkisinin Morfolojik ve Fizyolojik Değişimlerinin Ve Fitoremediasyon Potansiyelinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (Basılmış).
- Anonim, 2021. <https://leventkirca.com.tr/hue-acisi-nedir-excelde-hue-acisi-nasil-hesaplanır#:~:text=Hue%20de%20C4%9Feri%200%20ise%20renk,ise%20ye%20C5%9Fil%2C%20370%20is>

- e%20mavidir.&text=Renk%20uzay%20C4%B1nda%20yer%20alan%20noktan%20C4%B1n,artt%20C4%B1k%20C3%A7a%20genel%20olarak%20renk%20parlakla%20C5%9F%20C4%B1r. (Erişim tarihi: 19.03.2021).
- Apel K, Hirt H, 2004: Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annu. Rev. Plant Biology*. 55, 373-399.
- Arancon NQ, Edwards CA, Bierman P, Metzger JD, Lee S, Welch C, 2003. Effects of Vermicomposts on Growth and Marketable Fruits of Field-Grown Tomatoes, Peppers and Strawberries. *Pedobiologia* 47: 731-735.
- Atiyeh RM, Subler, S, Edwards CA, Bachman G, Metzger JD, and Shuster W, 2000. *Pedo Biologia*, 44: 579- 590.
- Aydoğan A, Gürbüz A, Kaplan Evlice A, Karaca K, 2014. Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Yaprak ve Un Rengi ile Bazı Karakterler Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 20 (2), 17-23.
- Bañon Fernandez JA, Franco JA, Torrecillas A, Alarcón JJ, & Sánchez-Blanco MJ, 2004. Effects of Water Stress and Night Temperature Preconditioning on Water Relations and Morphological and Anatomical Changes of *Lotus Creticus* Plants. *Scientia Horticulturae*, 101, 333–342.
- Bayat H, Alirezaie M, & Neamati H, 2012. Impact of Exogenous Salicylic Acid on Growth and Ornamental Characteristics of *Calendula (Calendula Officinalis* L.) under Salinity Stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 8(1).
- Benazzouk S, Dobrev PI, Djazouli ZE, Motyka V, & Lutts S, 2020. Positive İmpact of Vermicompost Leachate on Salt Stress Resistance in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) at the Seedling Stage: A Phytohormonal Approach. *Plant and Soil*, 446(1), 145-162.
- Bellitürk, K, 2016. Sürdürülebilir Tarımsal Üretimde Katı Atık Yönetimi İçin Vermikompost Teknolojisi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 31(3), 1-5.
- Chaparzadeh N, D'Amico ML, Khavari-Nejad R, Izzo R, NavariIzzo F, 2004. Antioxidative Responses of *Calendula officinalis* under Salinity Conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42, 695-701.
- Çağındı, Ö, & Ötleş, S, 2008. Farklı Demleme Sürelerinde Hazırlanan Bitki Çaylarının Antioksidan Aktiviteleri İle Renkleri Arasındaki Korelasyonun Belirlenmesi. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*; 10, 21-23.
- Çınar N, Aydınşakir K, Dinç N, Büyüктаş D & Işık M, 2016. Yerfıstığında (*Arachis hypogaea* L.) Su Stresinin Stoma Özellikleri Üzerine Etkisi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 29(2).
- Dadali G, Demirhan E & Özbek B, 2007. Color Change Kinetics of Spinach Undergoing Microwave Drying. *Drying Technology*, 25(10), 1713-1723.
- Durand JL, Onillon B, Schnyder H, Rademacher I, 1995. Drought Effects on Cellular And Spatial Parameters of Leaf Growth in Tall Fescue. *Journal of Experimental Botany*. 46, 1147-1155.
- Düzgüneş O, Kesici T, Kavuncu O, Gürbüz F, 1987. Research and Experimental Methods. *Statistical Methods-II*. Ankara University, Agriculture Faculty Press., 1:1021-1295.
- Edwards SE, Costa Rocha I, Williamson EM, Heinrich M, 2015. *Phytopharmacy: An Evidence-Based Guide to Herbal Medicinal Products*. ISBN: 978-1-118-54356-6, 414 pages, Wiley-Blackwell.
- Ferris R, Niju I, Behaeghe T, & Impens I, 1996. Elevated CO₂ and Temperature Have Different Effects on Leaf Anatomy of Perennial Ryegrass in Spring and Summer. *Annals of Botany*, 78, 489–497.
- Gan Y, Zhou L, Shen ZJ, Shen ZX, Zhang YQ, Wang GX, 2010. Stomatal Clustering, A New Marker for Environmental Perception and Adaptation in Terrestrial Plants. *Botanical Studies* 51: 325-336.
- García-Galindo E, Nieto-Garibay A, Troyo-Diéguez E, Lucero-Vega G, Murillo-Amador B, Ruiz-Espinoza FH, & Fraga-Palomino HC, 2021. Germination of *Salicornia bigelovii* (Torr.) Under Shrimp Culture Effluents and the Application of Vermicompost Leachate for Mitigating Salt Stress. *Agronomy*, 11, 424.
- Garg, VK, Gupta, R &Yadav, A, 2010. Vermicomposting Technology for Solid Waste Management. <http://www.environmental-expert.com> Erişim Tarihi: 19.08.2021.
- Gharineh MH, Khoddami HR, Rafieian-Kopaei M, 2013. The İnfluence of Different Levels of Salt Stress on Germination of Marigold (*Calendula officinalis* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 5, 1581-1584.

- Haworth M, Marino G, Cosentino SL, Brunetti C, De Carlo A and Centritto M, 2018. Increased Free Abscisic Acid during Drought Enhances Stomatal Sensitivity and Modifies Stomatal Behaviour in Fast Growing Giant Reed (*Arundo donax* L.). *Environmental and Experimental Botany* 147: 116-124.
- Kastori R, Petrovic M, and Petrovic N, 2008. Effect of Excess Lead, Cadmium, Copper, And Zinc on Water Relations in Sunflower. *Journal of Plant Nutrition*, 15:(11): 2427-2439.
- Kıran S, 2019. Vermikompost Uygulamalarının Kuraklık Stresi Altındaki Kıvrıkcık Salatının (*Lactuca sativa* var. *crispa*) Mineral İçerikleri Üzerine Etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22, 133-140.
- Kozminska A, Al Hassan M, Kumar D, Oprica L, Martinelli F, Grigore MN, Boscaiu M, 2017. Characterizing the Effects of Salt Stress in *Calendula officinalis* L. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90, 323-329.
- Küçükyumuk Z, Gültekin M, Erdal İ, 2014. Vermikompost ve Mikorizanın Biber Bitkisinin Gelişimi ile Mineral Beslenmesi Üzerine Etkisi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9(1), 51-58.
- Mehri N, Fotovat R, Saba J, Jabbari F, 2009. Variation of Stomata Dimensions and Densities in Tolerant and Susceptible Wheat Cultivars under Drought Stress. *Journal of Food Agriculture & Environment* 7(1): 167-170.
- Meidner H, & Mansfield TA, 1968. *Physiology of Stomata*. Physiology of stomata. 1968 pp.179 pp. ref.Bibl. 177.
- Mısırlı A, Aksoy U, 1994. A Study on the Leaf and Stomatal Properties of Sarılop Fig Variety. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 31(2-3): 57-63.
- Mirzaie M, Ladanmoghadam AR, Hakimi L, anae E, 2020. Water Stress Modifies Essential Oil Yield and Composition, Glandular Trichomes and Stomatal Features of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Inoculated With Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Journal of Agricultural Science and Technology*.
- Muhammad Z, Hussain F, 2010: Vegetative Growth Performance of Five Medicinal Plants under NaCl Stress. *Pakistan Journal of Botany*. 42, 303-316.
- Munns R, Tester M, 2008: Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 9, 651-681.
- Nazdar T, Tehranifar A, Nezami A, Nemati H, & Samiei L, 2019. Physiological and Anatomical Responses of *Calendula* (*Calendula officinalis* L.) Cultivars to Heat-Stress Duration. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 94(3), 400-411.
- Oprica L, Grigore MN, Vochita G, 2015. Impact of Saline Stress on Growth and Biochemical Indices of *Calendula officinalis* Seedlings. *Romanian Biotechnological Letters*. 20, 11001-11017.
- Ozyigit II, Akinci S, 2009. Effects of Some Stress Factors (Aluminum, Cadmium and Drought) on Stomata of Roman Nettle (*Urtica pilulifera* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37(1): 108-115.
- Sardoei AS, 2014. Vermikompost Effects on the Growth and Flowering of Marigold (*Calendula officinalis*). *European Journal of Experimental Biology*, 4(1):651-655.
- Sarker BC, Hara M, 2011. Effects of Elevated CO₂ and Water Stress on the Adaptation of Stomata and Gas Exchange in Leaves of Eggplants (*Solanum melongena* L.). *Bangladesh Journal of Botany* 40(1): 1-8.
- Sharp RE, Silk WK, Hsiao TC, 1988. Growth of the Maize Primary Root at Low Water Potentials. I. Spatial Distribution of Expansive Growth. *Plant Physiology*. 87, 50-57.
- Swaefy HM, & El-Ziat RA, 2020. *Calendula* Response to Salinity Stress. *New Perspectives in Agriculture and Crop Science* Vol. 3, 978.
- Şelem E, Nohutçu L, Tunçtürk R, & Tunçtürk M, 2020. Geleneksel Otlu Peynirde Kullanılan *Allium* Türleri. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 9(2), 312-326.
- Taşova M, 2018. Düşük ve Yüksek Sıcaklıklarda Kurutulan Patlıcan (*Solanum melongena* L.) Dilimlerinin Kurutma Kinetiği ve Renk Değerleri Açısından En Uygun Kurutma Sıcaklığının Belirlenmesi. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(2), 84-93.
- Tekin O, & Çavuşoğlu, Ş, 2018. The Effects of Different Postharvest Applications on Some Physicochemical Properties in 'Rubygem' and 'Sabrina' Strawberry (*Fragaria* × *Ananassa* Duch.) Cultivars. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(4), 5299-5310.

- Toksoy E, 2019. Ispanakta Vermikompost (Solucan Gübresi) ve Karaizopot (*Porcellio laevis*) Gübresi Uygulamalarının Bitki Gelişimi ve Besin İçerikleri Üzerine Etkisi. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi (Basılmamış).
- Torbaghan ME, 2012. Effect of Salt Stress on Germination and Some Growth Parameters of Marigold (*Calendula officinalis* L.). Plant Science - Journal. 1, 7-19.
- Tunçtürk M, Tunçtürk R, Oral E, & Baran İ, 2020. Humik Asitin Baklada (*Vicia faba* L.) Tuz (NaCl) Stresinin Azaltılması Üzerine Etkisi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10(3), 2168-2179.
- Xu ZZ, Zhou GS, & Shimizu H, 2009. Effects of Soil Drought with Nocturnal Warming on Leaf Stomatal Traits and Mesophyll Cell Ultrastructure of a Perennial Grass. Crop Science, 49, 1843–1851.
- Xu Z and Zhou G, 2008. Responses of Leaf Stomatal Density to Water Status and Its Relationship with Photosynthesis in a Grass. Journal of Experimental Botany. 59(12): 3317-3325. 44.
- Yang H and Wang G, 2001. Leaf Stomatal Densities and Distribution in *Triticum aestivum* under Drought and CO₂ Enrichment. Acta Ecologica Sinica., 25(3): 312-316.
- Yukseker, T., Oğuztürk, T. Çorbacı, Ö. L. (2020). The Effect of Worm Fertilizer and Peat Applications on the Development of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Plant in Different Pot Environment. Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences , 5 (4) , 743-749 .
- Zhang LR, Niu HS, Wang SP, Li YN, & Zhao XQ, 2010. Effects of Temperature Increase and Grazing on Stomatal Density and Length of Four Alpine Kobresia Meadow Species, Qinghai-Tibetan Plateau. Acta Ecologica Sinica, 30, 6961–6969.
- Zhang H, Wang X and Wang S, 2004. A Study on Stomatal traits of *Platanus acerifolia* under Urban Stress. Journal of Fudan University (Natural Science), 43(4): 651-656.

To Cite: Özyazıcı M A, Açıkbaş S, 2021. The Effect of Seed Priming Applications on Germination Parameters of Red Clover (*Trifolium pratense* L.). Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3232-3242.

The Effect of Seed Priming Applications on Germination Parameters of Red Clover (*Trifolium pratense* L.)

Mehmet Arif ÖZYAZICI^{1*}, Semih AÇIKBAŞ¹

ABSTRACT: This study aimed to determine the effects of silicon (Si) and salicylic acid (SA) seed priming applications on the germination parameters of red clover (*Trifolium pratense* L.). The study was carried out in Siirt University, Faculty of Agriculture, Field Crops Laboratory, under controlled conditions at 24±1 °C. The plant material of the study was Rajan red clover (*T. pratense* L.) cultivar. The laboratory study was carried out in Petri dishes according to the randomized plots trial design with 4 replications. The subject of the study consists of hydropriming application with 2 mM, 4 mM, and 6 mM priming doses of Si and 0.5 mM, 1.0 mM, and 1.5 mM priming doses of SA. The study also included the non-priming application as a control subject. The germination percentage, mean germination time, germination index, coefficient of uniformity of germination, and germination energy properties were examined in terms of the effect on germination development in different priming applications applied to red clover. Significant differences were found between the priming applications in terms of all germination parameters examined. It is thought that early germination, more uniform germination, and higher germination rate can be achieved with priming applications in plants with germination problems such as red clover. In this respect, 2 mM Si priming application can be recommended.

Keywords: Red clover, silicon, salicylic acid, seed priming, germination index, germination energy

¹Mehmet Arif ÖZYAZICI ([Orcid ID: 0000-0001-8709-4633](https://orcid.org/0000-0001-8709-4633)), Semih AÇIKBAŞ ([Orcid ID: 0000-0003-4384-3908](https://orcid.org/0000-0003-4384-3908)), Siirt University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Siirt, Turkey

*Corresponding Author: Mehmet Arif ÖZYAZICI, e-mail: arifozyazici@siirt.edu.tr

INTRODUCTION

Seed priming is accepted as a simple, cost-effective, and efficient approach to increase seed germination, early seedling growth and development under both stress and non-stress conditions (Hameed et al., 2013; Maiti and Pramanik, 2013). To this end, different chemicals, ions, organic compounds, hormones, and some antioxidants are used, and it was observed that positive results were obtained in germination and seedling growth. For example, seed priming with acetylsalicylic acid was reported to provide uniform germination and seedling formation in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) under normal and salty conditions (Khan et al., 2009), sodium silicate seed priming was reported to improve tolerance to water deficiency stress of wheat seeds and improve germination and seedling growth of wheat seeds (Abro et al., 2009; Hameed et al., 2013), seed priming with gibberellic acid (GA3) was reported to reduce salinity stress and increase germination and seedling growth parameters in alfalfa (Younesi and Moradi, 2014), and seed priming applications with KNO₃ and KH₂PO₄ positively affected germination and seedling growth parameters of *Citrullus colocynthis* seeds (Ghiyasi et al., 2019). It is also a common practice to use silicon (Si) and salicylic acid (SA) in seed priming.

Silicon is the second most abundant element in the Earth's crust (Zhu and Gong, 2014) and is the only nutrient element that is not harmful when excessively accumulated in plants (Ma et al., 2001). Although not essential for plant growth (Zhang et al., 2017), Si was reported to be effective in reducing stresses related to salinity (Liang et al., 2003, 2005; Parveen and Ashraf, 2010; Malhotra et al., 2016) and drought (Maghsoudi et al., 2019) in plants. Furthermore, it was stated that Si increased the activity of antioxidant enzymes, thereby reducing stress and improving plant growth (Al-Aghabary et al., 2004).

Salicylic acid is a plant hormone that regulates physiological processes in plant growth and development and plays a role in the plant's resistance to biotic stress (Farhangi-Abriz and Ghassemi-Golezani, 2016; Dempsey and Klessig, 2017). Exogenous administration of SA improves growth and physiological processes and increases protection against abiotic stress (He et al., 2002; Kaya et al., 2002; Arfan et al., 2007; Eraslan et al., 2007; Noreen et al., 2012). Additionally, it was reported that SA had a very important function in stomatal regulation (Morris et al., 2000; Barros et al., 2019), mechanism of plant water stress tolerance (Ashraf and Foolad, 2007), seed germination in plants (Shakirova et al., 2003; Simaiea et al., 2011; Kim and Lee, 2013), increasing the dry weight of root and upper parts (Khodary, 2004; Stevens et al., 2006). Furthermore, Chakma et al. (2021) emphasized that it could be used as a seed priming material.

Red clover (*Trifolium pratense* L.) is one of the widely grown forage legumes in temperate regions (Boller et al., 2010). Red clover is a valuable feed source for ruminants as green forage, straw, silage or dried feed and is a nutrient-rich, nutritious plant that provides forage on the farm throughout the year (Przybylska et al., 2021). It is known that certified seed production of red clover, which has high forage yield especially under irrigable conditions, is insufficient (Zuk-Gołaszewska et al., 2019). Varieties of forage legume species usually produce seeds with low seed yield or low viability (Amdahl et al., 2017). Furthermore, hard seededness (Desai et al., 1997), a special type of dormancy found only in legumes, is a common feature in the cultivars of *Trifolium* species (Tomic et al., 2020). Tomic et al. (2020) reported that the important indicators of seed quality in legumes are germination, hard seededness, and seedling growth parameters.

Seed germination and seedling growth are two critical stages for the establishment of crops (Hubbard et al., 2012). Rapid and uniform seed germination and emergence are key factors in better and optimum crop formation (Hameed et al., 2013). To this end, seed priming, which initiates the germination process with some biochemical changes such as the activation of enzymes and dormancy

breaking, is important (Ajouri et al., 2004; Hameed et al., 2013). On the other hand, the response of plants to certain priming agents may differ, whether under stress or non-stress conditions. The concentration of the said substances, processing time, plant species, and the plant organ used are effective in this difference. In this sense, there is little information available for a large number of crops, and therefore further research is needed.

In this study, the effects of Si and SA seed priming applications on the germination parameters of red clover (*T. pratense* L.) were investigated.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out in Siirt University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops Laboratory. Rajan red clover (*T. pratense* L.) cultivar was used as a plant material. Sodium metasilicate pentahydrate ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) was used as the Si source, and distilled water was used for hydropriming.

Experimental Design and Treatment Details

The subject of the study consists of hydropriming application with 2 mM, 4 mM, and 6 mM priming doses of Si and 0.5 mM, 1.0 mM, and 1.5 mM priming doses of SA. The study also included the non-priming application as a control subject.

A laboratory trial was set up according to a randomized plot trial design with 4 replications. Twenty-five seeds were used for each replication. Seeds were sterilized in 70% ethyl alcohol for 1 minute and rinsed 3 times with sterile water. Then, surface sterilization was carried out to cover the seeds with 10% sodium hypochlorite (NaOCl) for 5 minutes to deform the microorganisms on the seed surface. The sterilized seeds were placed between Whatman (Little Chalfont, Buckinghamshire, UK) Grade 2 filter paper in Petri dishes (90 mm x 15 mm). Si, SA and hydropriming solutions prepared according to the doses were applied to each Petri dish as 3 ml, and the seeds were kept in hydropriming for 18 hours (Farooq et al., 2017), in Si for 12 hours (Othmani et al., 2020), and in SA for 12 hours (Sundstrom et al., 1987; Ceritoğlu and Erman, 2020). The seed/solution ratio for each Petri dish was adjusted as 2:1 g ml⁻¹ (Johnson et al., 2005). After priming, the seeds were washed with distilled water to clean the entire surface and were first roughly dried in blotting paper, then again placed between dry filter paper and dried to the initial moisture (3% ±) (Jatana et al., 2020). The dried red clover seeds were placed in new Petri dishes, and 3 ml of distilled water was added to each Petri dish. Petri dishes were left to germinate in an oven set at 25±1 °C (BINDER, GmbH, Germany).

Germination controls were made every 24 hours during the test, and the germination test was completed on the 10th day. While germination was detected in seeds, at least 2 mm rootlet emergence was accepted as a germination criterion (Scott et al., 1984; Soleymani and Shahrajabian, 2018).

Germination Measurements and Observations

The germination percentage (GP), mean germination time (MGT), germination index (GI), coefficient of uniformity of germination (CUG), and germination energy (GE) properties were examined in terms of the effect on germination development in different priming applications applied to red clover.

The GP parameter was determined according to Equation 1 used by Scott et al. (1984) by counting the seeds that germinated every 12 hours.

$$GP = \left(\frac{NGS}{TS} \right) \times 100 \quad (1)$$

In the equation, NGS is the number of normally germinated seeds, and TS is the total number of seeds used.

The MGT is generally used to determine the germination day of seeds and was calculated according to Equation 2 (Ellis and Roberts, 1981).

$$MGT = \sum(N_i T_i / N_i) \quad (2)$$

Where N_i is the number of seeds germinated on day T_i , and T_i is the number of days counted from the beginning of germination.

The GI was calculated with the help of Equation 3 (Wang et al., 2004), CUG was calculated with the help of Equation 4 (Bewely and Black, 1994), and GE was calculated with the help of Equation 5 (Li et al., 2020).

$$GI = \sum(G_i / T_i) \quad (3)$$

Where G_i is the germination percentage on the i th day, and T_i is the days of the germination test.

$$CUG = \sum n / \sum [(MGT - t)^2 n] \quad (4)$$

Where t is the time in days, starting from day 0, the day of sowing, and n is the number of seeds completing germination on day t .

$$GE = (T_1 / N) \times 100 \quad (5)$$

Where T_1 is the number of seeds germinated on the first day, and N is the total number of seeds.

Statistical Analysis

The ArcSin transformation was applied to GP values before analysis of variance (Zar, 1996). The obtained data were subjected to analysis of variance according to the randomized plot trial design, and the differences between the means were checked by Tukey's multiple comparison test (Açıköz and Açıköz, 2001).

RESULTS AND DISCUSSION

The GP results of the red clover plant in different priming applications are presented in Figure 1. The effect of different priming applications in terms of GP was found to be statistically significant at the $p < 0.01$ level.

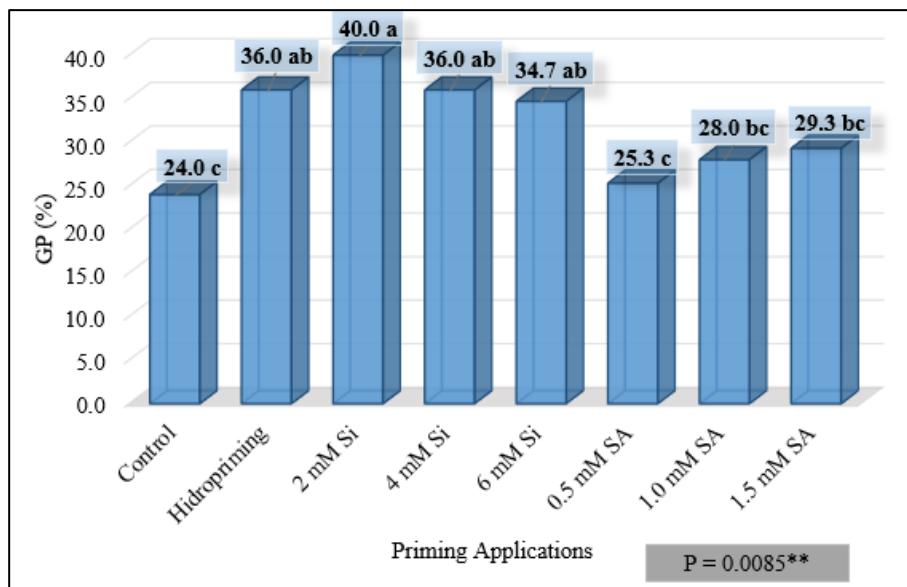


Figure 1. Effect of different priming applications on GP in red clover

In the study, in terms of GP, the highest value was determined in 2 mM Si priming application with 40.0%, and the difference between all Si priming applications and hydropriming application was statistically insignificant. The lowest GP was determined in the control group (24.0%) without priming application and 0.5 mM SA priming application (25.3%). It was determined that Si priming showed more positive effects in terms of GP than SA priming (Figure 1).

When the effects of different priming applications were evaluated together in terms of GP, it was determined that all priming applications, except 0.5 mM SA priming, showed positive effects compared

to the control, and especially Si priming applications promoted germination more. In studies conducted on many plant species, it was reported that hydropriming (Ghafoor et al., 2020; Açıkbaş and Özyazıcı, 2021; Ceritoglu and Erman, 2021), silicon priming (Janmohammadi et al., 2015; Khalaki et al., 2016; Biju et al., 2017; Bijanzadeh and Egan, 2018; Ivani et al., 2018; Ayed et al., 2021) and salicylic acid priming (Rajasekaran et al., 2002; Shakirova et al., 2003; Afzal et al., 2006; Farooq et al., 2008; Ceritoğlu and Erman, 2020; Ghafoor et al., 2020) had positive effects on the GP.

The findings of the MGT are shown in Figure 2. The effect of different priming applications in terms of MGT was found to be statistically significant at the $p < 0.05$ level. When the MGT were examined, the latest germination was determined as 3.23 days in the control group. This was followed by hydropriming (2.60 days), 0.5 mM SA priming (2.50 days) and 1.5 mM SA priming applications (2.40 days), which were statistically in the same group. With the effect of priming applications, the earliest germination was detected in all Si priming applications (2, 4 and 6 mM) and 1.0 mM SA priming (Figure 2).

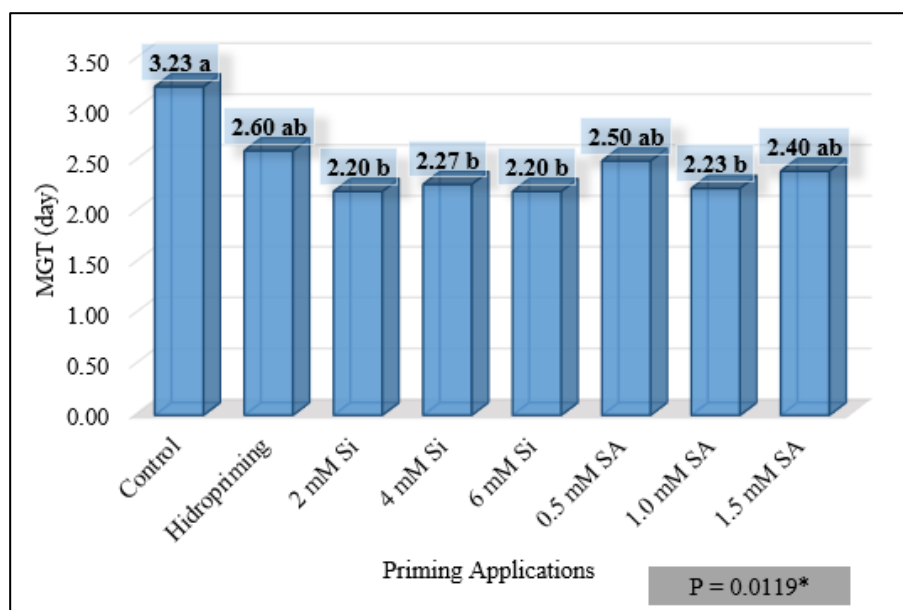


Figure 2. Effect of different priming applications on MGT in red clover

In general, it can be said that the MGT is shortened with priming applications. In this sense, it was observed that Si priming applications and 1.0 mM SA priming were more effective. As in this study, it was reported that hydropriming, Si and SA priming applications significantly affected the MGT and shortened the germination time in some other studies conducted on different plant species (Afzal et al., 2006; Bijanzadeh and Egan, 2018; Ivani et al., 2018; Ceritoğlu and Erman, 2020; Moghaddam et al., 2021).

Different priming applications affected the GI of red clover seeds in a statistically significant manner ($p < 0.01$). The highest value in terms of the GI was determined in 2 mM Si priming with 5.67. The difference between this application, hydropriming and 4-6 mM Si priming applications was statistically insignificant. The lowest value was found in the control group with 2.03, in which no priming was applied (Figure 3).

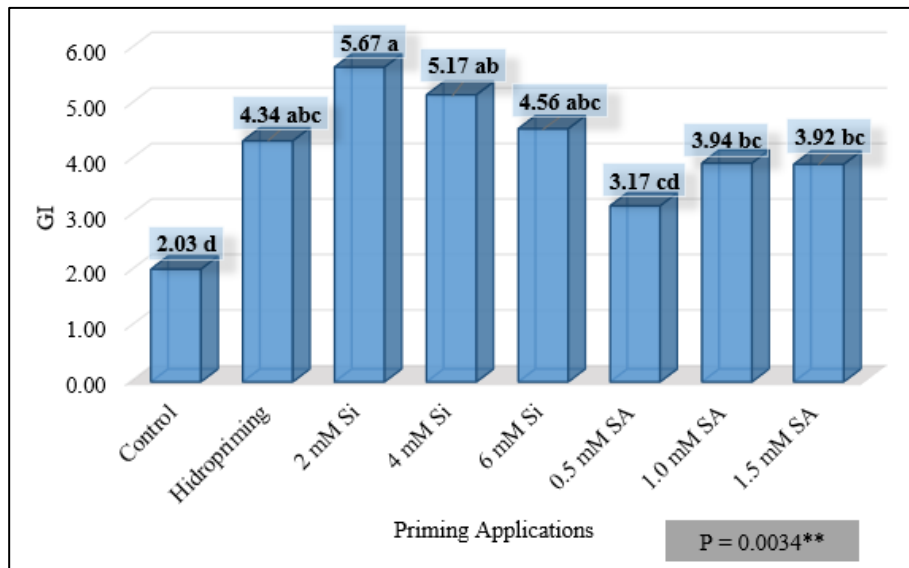


Figure 3. Effect of different priming applications on the mean GI in red clover

Since the GI parameter is affected by the germination ratio and calculated according to the number of germinated seeds on the germination days, the effect of different priming applications was clearly observed. Thus, many studies reported that the GI values of priming applications with Si and SA increased in plant species such as wheat (Hameed et al., 2013; Meena et al., 2014; Ayed et al., 2021), tomato (Shi et al., 2014), lentil (Biju et al., 2017), faba bean (Anaya et al., 2018), and bitter vetch (Moghaddam et al., 2021).

The values related to the CUG determined in red clover in different priming applications are given in Figure 4. There were statistically significant differences at the $p < 0.05$ level between different priming applications in terms of the CUG. In terms of the CUG, the most uniform germination was revealed in 2 mM Si priming. In the study, in terms of the CUG, the difference between 0.5 mM SA priming and the other priming applications, excluding the control group, was statistically insignificant (Figure 4).

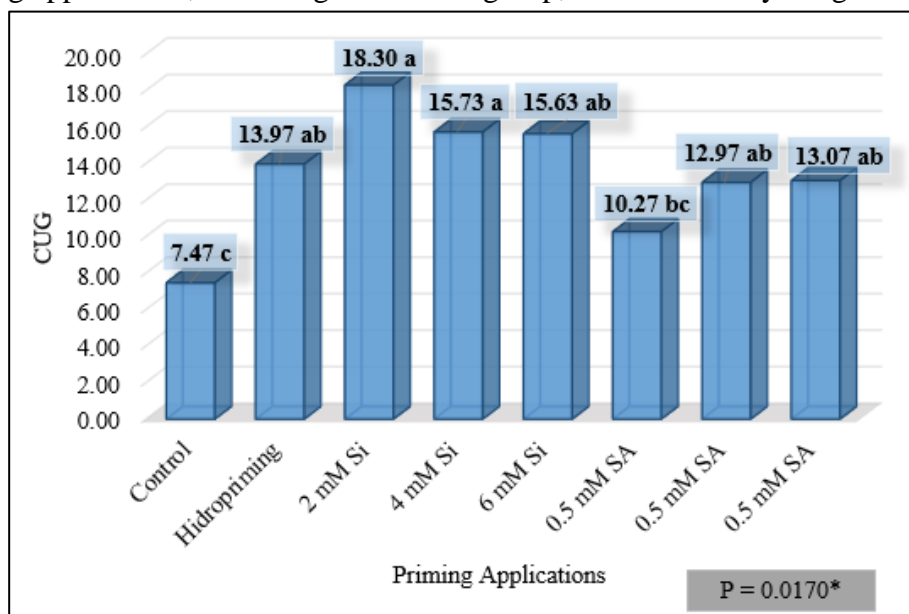


Figure 4. Effect of different priming applications on the CUG in red clover

The CUG is a parameter that expresses fluctuations and stability in germination times between the first and last germinated seeds. Higher values in this feature represent the stability of seeds, while lower values indicate variability in germination under the same conditions (Souhail and Chaabane, 2009). In a

study on chickpea regarding germination uniformity, it was reported that hydropriming and SA priming applications (0.1 mM, 0.2 mM, 0.3 mM) increased the CUG compared to the control group (Ceritoğlu and Erman, 2020).

The results of the GE values in the study are shown in Figure 5. Differences between different priming applications in terms of GE were found to be statistically significant at the $p < 0.01$ level. The highest values in terms of GE were observed in 2 mM and 4 mM Si priming applications with 12.0. It was determined that no seeds germinated on the first day in the control group in which no priming was applied, and it constituted the lowest group (Figure 5).

Germination energy is generally a germination parameter related to how many seeds germinate on the first day. In terms of GE, 2 mM and 4 mM Si priming applications and 1.0 mM SA priming were found to be effective in seed germination on the first day. It was indicated that the effects of different priming applications on GE were different, and in a study conducted with *Triticum aestivum* L. in terms of GE, priming with sodium silicate had positive effects compared to hydropriming and control (Hameed et al., 2013). In another study, it was reported that different priming applications, including SA, had different effects on the GE of the maize plant (Kumari et al., 2017).

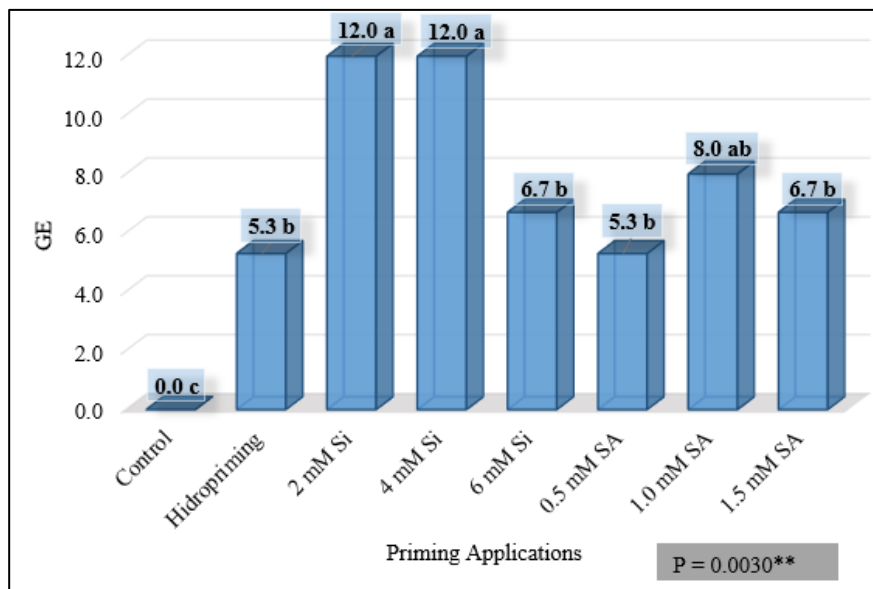


Figure 5. Effect of different priming applications on GE in red clover

CONCLUSION

As a result of the study, it was observed that the effects of hydropriming, Si and SA priming applications on the germination characteristics of red clover showed significant differences. In particular, it was concluded that silicon priming and hydropriming were more effective than salicylic acid priming in terms of germination percentage and germination index, while in the other examined parameters, all priming applications had a positive effect compared to the control group in which no priming was applied. It is thought that early germination, more uniform germination, and higher germination percentage can be achieved with priming applications in plants with germination problems such as red clover. In this respect, 2 mM Si priming can be recommended.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Abro SA, Qureshi R, Soomro MF, Mirbahar AA, Jakhar GS, 2009. Effects of Silicon Levels on Growth and Yield of Wheat in Silty Loam Soil. *Pakistan Journal of Botany*, 41: 1385-1390.
- Açıkbaş S, Özyazıcı MA, 2021. The Effects of Silicon Priming Application on Germination in Common Grasspea (*Lathyrus sativus* L.). 3rd International African Conference on Current Studies, 27-28 February 2021, Abomey-Calavi, Benin, s. 404-412. (In Turkish).
- Açıkgöz N, Açıkgöz N, 2001. Common Mistakes in The Statistical Analyzes of Agricultural Experiments I. Single Factorials. *ANADOLU Journal of the Aegean Agricultural Research Institute*, 11 (1): 135-147. (In Turkish).
- Afzal I, Basra SM, Farooq M, Nawaz A, 2006. Alleviation of Salinity Stress in Spring Wheat by Hormonal Priming With ABA, Salicylic Acid and Ascorbic Acid. *International Journal Of Agriculture & Biology*, 8 (1): 23-28.
- Ajourri A, Haben A, Becker M, 2004. Seed Priming Enhances Germination and Seedling Growth of Barley Under Conditions of P and Zn Deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 167: 630-636.
- Al-Aghabary K, Zhu Z, Shi Q, 2004. Influence of Silicon Supply on Chlorophyll Content, Chlorophyll Fluorescence, and Antioxidative Enzyme Activities in Tomato Plants Under Salt Stress. *Journal of Plant Nutrition*, 27 (12): 2101-2115.
- Amdahl H, Aamlid TS, Marum P, Ergon Å, Alsheikh M, Rognli OA, 2017. Seed Yield Components in Single Plants of Diverse Scandinavian Tetraploid Red Clover Populations (*Trifolium pratense* L.). *Crop Science*, 57 (1): 108-117.
- Anaya F, Fghire R, Wahbi S, Loutfi K, 2018. Influence of Salicylic Acid on Seed Germination of *Vicia Faba* L. Under Salt Stress. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17 (1): 1-8.
- Arfan M, Athar HR, Ashraf M, 2007. Does Exogenous Application of Salicylic Acid Through The Rooting Medium Modulate Growth and Photosynthetic Capacity in Two Differently Adapted Spring Wheat Cultivars Under Salt Stress? *Journal of Plant Physiology*, 6: 685-694.
- Ashraf M, Foolad MR, 2007. Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 206-216.
- Ayed S, Othmani A, Bouhaouel I, Rasâa N, Othmani S, Amara HS, 2021. Effect of Silicon (Si) Seed Priming on Germination and Effectiveness of Its Foliar Supplies on Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*) Genotypes under Semi-Arid Environment. *Silicon*, 1-11.
- Barros TC, de Mello Prado R, Roque CG, Arf MV, Vilela RG, 2019. Silicon and Salicylic Acid in The Physiology and Yield of Cotton. *Journal of Plant Nutrition*, 42 (5): 458-465.
- Bewely J, Black M, 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. New York.
- Bijanzadeh E, Egan TP, 2018. Silicon Priming Benefits Germination, Ion Balance, and Root Structure in Salt-Stressed Durum Wheat (*Triticum durum* desf.), *Journal of Plant Nutrition*, 41 (20): 2560-2571.
- Biju S, Fuentes S, Gupta D, 2017. Silicon Improves Seed Germination and Alleviates Drought Stress in Lentil Crops by Regulating Osmolytes, Hydrolytic Enzymes and Antioxidant Defense System. *Plant Physiology and Biochemistry*, 119: 250-264.
- Boller B, Schubiger FX, Kölliker R, 2010. Red Clover. In: B. Boller, Ed., *Handbook of Plant Breeding*. Springer, Vol. 5. pp. 439-455, Dordrecht, Netherlands.
- Ceritoglu M, Erman M, 2021. Effect of Silicon Priming Treatments on Germination and Some Agronomic Traits in Lentil. 3rd International African Conference on Current Studies, 27-28 February, Abomey-Calavi, Benin, pp. 436-444.
- Ceritoglu M, Erman M, 2020. Mitigation of Salinity Stress on Chickpea Germination by Salicylic Acid Priming. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 6 (3): 582-591.
- Chakma R, Biswas A, Saekong P, Ullah H, Datta A, 2021. Foliar Application and Seed Priming of Salicylic Acid Affect Growth, Fruit Yield, and Quality of Grape Tomato Under Drought Stress. *Scientia Horticulturae*, 280: 109904.

- Dempsey DA, Klessig DF, 2017. How Does the Multifaceted Plant Hormone Salicylic Acid Combat Disease in Plants and Are Similar Mechanisms Utilized in Humans? *BMC Biology*, 15: 23.
- Desai BB, Kotecha PM, Salunkhe DK, 1997. *Seeds Handbook Biology, Production, Processing, and Storage*. Marcel Dekker Inc., pp. 627, New York, USA.
- Ellis RH, Roberts EH, 1981. The Quantification of Ageing and Survival in Orthodox Seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 373-409.
- Eraslan F, Inal A, Gunes A, Alpaslan M, 2007. Impact of Exogenous Salicylic Acid on The Growth, Antioxidant Activity and Physiology of Carrot Plants Subjected to Combined Salinity and Boron Toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113 (2): 120-128.
- Farhangi-Abriz S, Ghassemi-Golezani K, 2016. Improving Amino Acid Composition of Soybean Under Salt Stress By Salicylic Acid and Jasmonic Acid. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 89: 243-248.
- Farooq M, Aziz T, Basra SMA, Cheema MA, Rehman H, 2008. Chilling Tolerance in Hybrid Maize Induced By Seed Priming With Salicylic Acid. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194 (2): 161-168.
- Farooq M, Hussain M, Nawaz A, Lee D, Alghamdi SS, Siddique KHM, 2017. Seed Priming Improves Chilling Tolerance in Chickpea By Modulating Germination Metabolism, Trehalose Accumulation and Carbon Assimilation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 111: 274-283.
- Ghafoor MF, Ali Q, Malik A, 2020. Effects of Salicylic Acid Priming for Salt Stress Tolerance in Wheat. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 1: e024-e024.
- Ghiyasi M, Amirnia R, Rahimi A, Özyazıcı G, 2019. The Effects of Different Methods to Break Seed Dormancy and Seed Priming on Germination and Seedling Growth of *Citrullus colocynthis*. *EJONS International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences*, 11: 21-32. (In Turkish).
- Hameed A, Sheikh MA, Jamil A, Basra SMA, 2013. Seed Priming with Sodium Silicate Enhances Seed Germination and Seedling Growth in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Under Water Deficit Stress Induced By Polyethylene Glycol. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences*, 11 (1): 19-24
- He YL, Liu YL, Chen Q, Bian AH, 2002. Thermo-Tolerance Related to Antioxidation Induced By Salicylic Acid and Heat Hardening in Tall Fescue Seedlings. *Journal Plant Physiology Molecular Biology*, 28: 89-95.
- Hubbard M, Germida J, Vujanovic V, 2012. Fungal Endophytes Improve Wheat Seed Germination Under Heat and Drought Stress. *Botany*, 90: 137-149.
- Ivani R, Sanaei Nejad SH, Ghahraman B, Astarai AR, Feizi H, 2018. Role of Bulk and Nanosized SiO₂ to Overcome Salt Stress During Fenugreek Germination (*Trigonella foenum-graceum* L.). *Plant Signaling & Behavior*, 13 (7): e1044190.
- Janmohammadi M, Sabaghnia N, Ahadnezhad A, 2015. Impact of Silicon Dioxide Nanoparticles on Seedling Early Growth of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Genotypes With Various Origins. *Agriculture and Forestry*, 61 (3): 19-33.
- Jatana BS, Ram H, Gupta N, 2020. Application of Seed and Foliar Priming Strategies to Improve The Growth and Productivity of Late Sown Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research Communications*, 48: 383-390.
- Johnson SE, Lauren JG, Welch RM, Duxbury JM, 2005. A Comparison of The Effects of Micronutrient Seed Priming and Soil Fertilization on The Mineral Nutrition of Chickpea (*Cicer arietinum*), Lentil (*Lens culinaris*), Rice (*Oryza sativa*) and Wheat (*Triticum aestivum*) in Nepal. *Experimental Agriculture*, 4: 427-448.
- Kaya C, Kirmak H, Higgs D, Saltali K, 2002. Supplementary Calcium Enhances Plant Growth and Fruit Yield in Strawberry Cultivars Grown at High Salinity. *Scientia Horticulturae*, 93: 65-74.
- Khalaki MA, Ghorbani A, Moameri M, 2016. Effects of Silica and Silver Nanoparticles on Seed Germination Traits of *Thymus kotschyianus* in Laboratory Conditions. *Journal of Rangeland Science*, 6 (3): 221-231.
- Khan HA, Pervez MA, Ayub CM, Ziaf K, Bilal RM, Shahid MA, Akhtar N, 2009. Hormonal Priming Alleviates Salt Stress in Hot Pepper (*Capsicum annum* L.). *Soil and Environment*, 28 (2): 130-135.
- Khodary SEA, 2004. Effect of Salicylic Acid on The Growth, Photosynthesis and Carbohydrate Metabolism in Salt-Stressed Maize Plants. *International Journal of Agriculture & Biology*, 6 (1): 5-8.

- Kim YH, Lee IJ, 2013. Influence of Plant Growth Regulator Application on Seed Germination of Dandelion (*Taraxacum officinale*). *Weed & Turfgrass Science*, 2 (2): 152-158.
- Kumari N, Rai PK, Bara BM, Singh I, Rai K, 2017. Effect of Halo Priming and Hormonal Priming on Seed Germination and Seedling Vigour in Maize (*Zea mays* L.) Seeds. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6 (4): 27-30.
- Li W, Zhang H, Zeng Y, Xiang L, Lei Z, Huang Q, Li T, Shen F, Cheng Q, 2020. A Salt Tolerance Evaluation Method for Sunflower (*Helianthus annuus* L.) at the Seed Germination Stage. *Scientific Reports*, 10 (1): 1-9.
- Liang Y, Chen Q, Liu Q, Zha W, 2003. Exogenous Silicon (Si) Increases Antioxidant Enzyme Activity and Reduces Lipid Peroxidation in Roots of Salt-Stressed Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal Plant Physiology*, 60: 1157-1164.
- Liang Y, Zhang W, Chenc Q, Ding R, 2005. Effects of Silicon on H⁺-ATPase and H⁺-PPase Activity, Fatty Acid Composition and Fluidity of Tonoplast Vesicles From Roots of Salt-Stressed Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 53 (1): 29-37.
- Ma JF, Miyake Y, Takahashi E, 2001. Silicon as A Beneficial Element for Crop Plants. *Studies in Plant Science*, 8:17-39.
- Maghsoudi K, Emam Y, Ashraf M, Arvin MJ, 2019. Alleviation of Field Water Stress in Wheat Cultivars By Using Silicon and Salicylic Acid Applied Separately or in Combination. *Crop and Pasture Science*, 70 (1): 36-43.
- Maiti R, Pramanik K, 2013. Vegetable Seed Priming: A Low Cost, Simple and Powerful Techniques for Farmers' Livelihood. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 4 (4): 475-481.
- Malhotra CCH, Kapoor R, Ganjewala D, 2016. Alleviation of Abiotic and Biotic Stresses in Plants by Silicon Supplementation. *Scientia*, 13 (2): 59-73.
- Meena VD, DotaniyaML, Coumar V, Rajendiran S, Kundu S, Rao AS, 2014. A Case for Silicon Fertilization to Improve Crop Yields in Tropical Soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 84 (3): 505-518.
- Moghaddam SS, Pourakbar L, Rahimi A, Jangjoo F, 2021. Mitigation of Salinity Effects by Salicylic Acid Priming on Germination and Physiological Characteristics of Bitter Vetch (*Vicia ervilia* L.). *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Science*, 31 (1): 98-110.
- Morris K, MacKerness SA, Page T, John CF, Murphy AM, Carr JP, Buchanan-Wollaston V, 2000. Salicylic Acid Has A Role in Regulating Gene Expression During Leaf Senescence. *The Plant Journal*, 23: 677-685.
- Noreen S, Ashraf M, Akram NA, 2012. Does Exogenous Application of Salicylic Acid Improve Growth and Some Key Physiological Attributes in Sunflower Plants Subjected to Salt Stress?. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84 (2): 169-177.
- Othmani A, Ayed S, Bezzin O, Farooq M, Ayed-Slama O, Slim-Amara H, Younes MB, 2020. Effect of Silicon Supply Methods on Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Response to Drought Stress. *Silicon*, 1-11.
- Parveen N, Ashraf M, 2010. Role of Silicon in Mitigating The Adverse Effects of Salt Stress on Growth and Photosynthetic Attributes of Two Maize (*Zea mays* L.) Cultivars Grown Hydroponically. *Pakistan Journal of Botany*, 42: 1675-1684.
- Przybylska A, Cwintal M, Pszczółkowski P, Sawicka B, 2021. Effect of Attractants and Micronutrient Biofortification on the Yield and Quality of Red Clover (*Trifolium pratense* L.) Seeds. *Agronomy*, 11 (1): 152.
- Rajasekaran LR, Stiles A, Caldwell CD, 2002. Stand Establishment in Processing Carrots: Effects of Various Temperature Regimes on Germination and The Role of Salicylates in Promoting Germination at Low Temperatures. *Canadian Journal of Plant Science*, 82 (2): 443-450.
- Scott SJ, Jones RA, Williams WA, 1984. Review of Data Analysis Methods for Seed Germination. *Crop Science*, 24: 1192-1199.

- Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fatkhutdinova RA, Fatkhutdinova DR, 2003. Changes in the Hormonal Status of Wheat Seedlings Induced By Salicylic Acid and Salinity. *Plant Science*, 164 (3): 317-322.
- Shi Y, Zhang Y, Yao H, Wu J, Sun H, Gong H, 2014. Silicon Improves Seed Germination and Alleviates Oxidative Stress of Bud Seedlings in Tomato Under Water Deficit Stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 78: 27-36.
- Simaeia M, Khavarinejada RA, Saadatmanda S, Bernardb F, Fahimia H, 2011. Interactive Effects of Salicylic Acid and Nitric Oxide on Soybean Plants Under NaCl Salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58 (5): 783-790.
- Soleymani A, Shahrajabian MH, 2018. Changes in Germination and Seedling Growth of Different Cultivars of Cumin to Drought Stress. *Cercetări Agronomice în Moldova*, 1 (173): 91-100.
- Souhail M, Chaabane R, 2009. Toxicity of The Salt and Pericarp Inhibition on The Germination of Some Atriplex Species. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences*, 1 (2): 43-49.
- Stevens J, Senaratna T, Sivasithamparam K, 2006. Salicylic Acid Induces Salinity Tolerance in Tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated Changes in Gas Exchange, Water Relations and Membrane Stabilization. *Plant Growth Regulation*, 49 (1): 77-83.
- Sundstrom FJ, Reader RB, Edwards RL, 1987. Effect of Seed Treatment and Planting Method on Tabasco Pepper. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112 (4): 641-644.
- Tomić D, Stevović V, Đurović D, Stanisavljević R, Madić M, Petrović M, Lazarević D, Knežević J 2020. Seed Testing of Foliar-Fertilised Red Clover Crops After Various Periods of Storage. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48 (1): 284-293.
- Wang YR, Yu L, Nan ZB, Liu YL, 2004. Vigor Tests Used to Rank Seed Lot Quality and Predict Field Emergence in Four Forage Species. *Crop Sciences*, 44 (2): 535-541.
- Younesi O, Moradi A, 2014. Effect of Priming of Seeds of *Medicago sativa* 'bami' with Gibberellic Acid on Germination, Seedlings Growth and Antioxidant Enzymes Activity under Salinity Stress. *Journal of Horticultural Research*, 22 (2): 167-174.
- Zar JH, 1996. *Biostatistical Analysis*. 3rd ed. Prentice Hall, p. 662, New Jersey, USA.
- Zhang W, Xie Z, Wang L, Li M, Lang D, Zhang X, 2017. Silicon Alleviates Salt and Drought Stress of *Glycyrrhiza Uralensis* Seedling By Altering Antioxidant Metabolism and Osmotic Adjustment. *Journal of Plant Research*, 130: 611-624.
- Zhu Y, Gong H, 2014. Beneficial Effects of Silicon on Salt and Drought Tolerance in Plants. *Agronomy for Sustainable Development*, 34 (2): 455-472.
- Zuk-Gołaszewska K, Wanic M, Orzech K, 2019. The Role Of Catch Crops in The Field Plant Production-A Review. *Journal of Elementology*, 24 (2): 575-587.

Atf İçin: Erdel E, 2021. Farklı Toprak İşleme Sistemlerinde Yetiştirilen Buğday Bitkisinin Farklı Gelişim Dönemlerinde Toprakların Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3243-3253.

To Cite: Erdel E, 2021. Determination of Soil Enzyme Activities in Different Wheat Growing Stages under Different Tillage Systems. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3243-3253.

Farklı Toprak İşleme Sistemlerinde Yetiştirilen Buğday Bitkisinin Farklı Gelişim Dönemlerinde Toprakların Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Erhan ERDEL^{1*}

ÖZET: Tarımsal üretim altında kalan toprakların fiziksel kimyasal ve biyolojik özellikleri gerek tarımsal uygulamalar gerekse iklim faktörleri sebebiyle sürekli değişime uğramaktadırlar. Bu nedenle yetiştirilen bitki türüne, topraklar üzerinde yapılan uygulamalara göre toprak özelliklerinin incelenmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada minimum ve konvansiyonel toprak işlemeli tarım sistemleri altında yetiştirilen buğday (*Triticum aestivum*) bitkisinin, bazı gelişim dönemlerinde (ekim, sapa kalkma ve tane dolum) üreaz, alkali fosfataz ve katalaz aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla buğdayın, ekim, sapa kalkma ve tane dolum dönemlerinde farklı derinliklerden (0-10,10-20 ve 20-30 cm) toprak örnekleri alınmış ve analizleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda; en yüksek üreaz ve alkali fosfataz aktivitelerinin her iki toprak işleme sisteminde de sapa kalkma döneminde olduğu; katalaz aktivitesinin ise bitki gelişim periyodu süresince istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. Ayrıca minimum toprak işleme sistemlerinde üreaz ve alkalın fosfataz aktivitelerinin daha yüksek olduğu ve toprak derinliği arttıkça üreaz, alkali fosfataz ve katalaz aktivitelerinin azaldığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Toprak enzimleri, buğday, minimum toprak işleme, konvansiyonel toprak işleme

Determination of Soil Enzyme Activities in Different Wheat Growing Stages under Different Tillage Systems

ABSTRACT: Soil physical, chemical and biological properties under agricultural production are constantly changing due to both agricultural practices and climatic factors. For this reason, it is very important to examine soil properties according to plant species and the applications made on soils. In our study, soil urease, alkaline phosphatase and catalase activities were investigated in some wheat growing periods under minimum and conventional tillage systems. For this purpose, soil samples were collected at sowing, stemming and grain filling periods of wheat at the depths of 0-10, 10-20 and 20-30 cm and analyzed for determining soil enzyme activities. Results showed that the highest urease and alkaline phosphatase activities were in stemming in both tillage systems and catalase activity was found to be statistically insignificant during the plant growth period. In addition, it was determined that urease and alkaline phosphatase activities were higher in minimum tillage systems, and urease, alkaline phosphatase and catalase activities decreased with increasing soil depth.

Keywords: Soil enzymes, wheat, minimum tillage, conventional tillage

¹Erhan ERDEL ([Orcid ID: 0000-0002-8011-9452](https://orcid.org/0000-0002-8011-9452)), Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Iğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Erhan ERDEL, erhanerdel@gmail.com

GİRİŞ

Buğday, geçmişten günümüze insan beslenmesinde oldukça önemli bir yere sahip olan ve ülkemizde toplam ekilen tarım alanının yaklaşık %44'ünü oluşturan bir tahıl bitkisidir (TÜİK, 2020). TÜİK (2019) verilerine göre ülkemiz buğday üretiminin yaklaşık %83'ünü, birçok tüketim alanı olan (bisküvi, ekmek, kek, kraker vs.) ekmeklik buğday oluşturmaktadır. Iğdır İli'nde ise buğday, en çok üretimi yapılan tahıl bitkisidir. TÜİK (2019) verilerine göre yörede 201.555 dekar (durum buğdayı hariç) alanda buğday üretimi yapılmaktadır. Oldukça geniş alanlarda üretimi yapılan buğdayın yetiştirildiği toprakların özelliklerinin (besin içerikleri, organik madde, vs.) bilinmesi hem mevcut üretim dönemi hem de sonraki üretim dönemi açısından önemlidir. Her yıl üretimi yapılan, yıllar geçtikçe de üretim alanı artan buğday yetiştiriciliğinde toprak özelliklerinin bozulmadan, toprak kalitesinin ve sağlığının korunması veya sürdürülebilirliğinin sağlanması gerekmektedir.

Günümüzde toprak kalitesinin ve sağlığının sürdürülebilirliğini sağlayan uygulamalar (toprak işlemez tarım, azaltılmış toprak işleme, örtü bitkili tarım) geliştirilmiştir. "Korumalı toprak yönetim uygulamaları" olarak adlandırılan bu uygulamaların toprak özellikleri üzerine birçok olumlu etkileri belirlenmiştir. Birçok araştırmacı korumalı toprak yönetim uygulamaları altında toprakların organik karbonunun arttığını (Mukherjee ve Lal, 2015; Sainju ve ark., 2017), topraklara besin elementi sağladığını (Sweeney ve Moyer 1994; Couëdel ve ark., 2018; Landriscini ve ark., 2019), toprak sıkışmasını azalttığını bildirmişlerdir (Chabi-Olaye ve ark., 2005). Korumalı toprak işleme, toprak yüzeyinin en az %30'unu kaplayan, toprak erozyonu ve degradasyonu ile ilgili sorunları önlemek veya en aza indirmek amacıyla ürün artıklarının kullanımına ve yönetimine dayanan çeşitli uygulamaları belirtmektedir. Minimum veya azaltılmış toprak işlemeli ve toprak işlemez tarım sistemi de bu uygulamalar arasında yer almaktadır. Azaltılmış toprak işlemeli tarım sistemi, geleneksel işlemeye göre toprağın daha az işlenmesini esas alan ve kulaklı pulluk yerine çizel, diskli aletler, kültivatör kullanılarak yapılan uygulamalardan oluşmaktadır. Toprak işlemez tarım ise, direkt ekim veya sıfır toprak işleme yapılarak tohumun toprağa yerleştirilmesinden oluşmaktadır. Minimum toprak işlemeli ve toprak işlemez tarım sistemlerinin toprak fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri üzerine olumlu etkilerinin olduğu, birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Radicetti ve ark., 2016; Wolff ve ark., 2018).

Toprakların biyolojik özelliklerinden olan enzimler bitki, hayvan veya mikrobiyal kaynaklıdır (Burns, 1982). Toprak enzimleri birçok reaksiyonları katalizleyerek, ekosistem süreçlerinin merkezini oluştururlar (Dick, 1994). Enzim aktivitesi toprak mikrobiyal aktivitesiyle bağlantılı olup toprak verimliliği, toprak kalitesi ve biyolojik aktivitenin göstergesidir (Quilchano ve Marañon, 2002; Roldan ve ark., 2005). Hidrolaz ve glikosidaz organik maddenin ayrışmasında ve besin elementi döngüsünde önemlidirler. Fosfataz, organik P mineralizasyonunda rol oynamaktadır. Üreaz, ürenin amonyak ve karbon dioksit hidrolizini katalizleyen bir enzimdir. Üreaz aktivitesi sıcaklık, su içeriği ve azot uygulamaları ile yakından ilişkilidir (Sardans ve ark., 2008). Katalaz tüm aerobik organizmalarda bulunan bir antioksidan enzimdir ve hidrojen peroksidi su ve oksijene kataliz eder. Toprak enzimleri topraklar üzerine yapılan uygulamalardan (sulama, gübreleme, işleme) etkilenmektedir (Wang ve ark., 2011; Borowik ve Wyszowska, 2016; Siwik-Ziomek ve Szczepanek, 2019). Bu çalışmanın amacı, farklı toprak işleme sistemleri altında yetiştirilen buğday bitkisinin bazı gelişim dönemlerinde toprakların üreaz, alkalın fosfataz ve katalaz aktivitelerini belirlemektir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışma, Iğdır Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yürütülmüştür. Iğdır, iklimi mikroklima özelliğinden dolayı yazlar sıcak ve kışlar ılık geçmektedir. Bölgede, en yüksek yağış Mayıs, en düşük yağış ise Ağustos ayında görülmektedir. Yıllık ortalama 254.2 mm yağış düşerken, 1.094,9 mm buharlaşma meydana gelmektedir (Anonim, 2018).

Deneme alanına ait bazı toprak özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelgeden de görüleceği üzere killi tın bünyeye sahip toprakların organik madde ve fosfor içerikleri düşük sınıflarında, pH bakımından güçlü alkali ve elektriksel iletkenlik yönünden ise tuzsuz sınıflarında yer almaktadır.

Çizelge 1. Toprak özellikleri

Uygulamalar	Toprak özellikleri					
	Tekstür	OM %	AS, %	P, kg da ⁻¹	EC, µmhos cm ⁻¹	pH
Minimum toprak işleme	Killi tın	1.50±0.12	20±1.20	5.30±0.48	524±24	8.54±0.21
Konvansiyonel toprak işleme	Killi tın	1.45±0.20	18±2.12	4.87±0.54	421±15	8.66±0.34

*OM: toprak organik maddesi; AS: agregat stabilitesi; P: bitkiye yararlı fosfor; EC: elektriksel iletkenlik; pH: toprakların pH'sı.

Metot

Deneme 2016 yılında 20mx 15m alanda kurulmuştur. 2016 yılından itibaren bu alanın yarısında minimum, diğer yarısında konvansiyonel toprak işlemeli olarak buğday tarımı yapılmıştır. Ayrıca, deneme alanının tamamında daha önceleri konvansiyonel toprak işlemeli tarım yapılmıştır.

Çalışmada, kulaklı pullukla sürüm ve sonrasında frezeyle işleme konvansiyonel toprak işlemeyi, toprak frezesi ile (0-10 cm) işleme ve sonrasında tahıl ekim makinesiyle (mibzer) ekim ise minimum işlemeyi oluşturmaktadır. Araştırma, 2019 yılında minimum ve konvansiyonel toprak işlemeli tarım sistemleri altında ilkbaharda (mart ayında) buğday ekimiyle başlamıştır. Araştırmada buğday çeşidi olarak ekimlik buğday (*Triticum aestivum*) kullanılmıştır. Buğdayda, ekimle 18-20 kg/da DAP (% 18-46) gübresi ve sapa kalkma döneminde 10-12 kg/da üre (% 46) olmak üzere iki farklı dönemde gübreleme yapılmış, sadece sapa kalkma döneminde yağmurlama sulama sistemi ile sulama yapılmıştır.

Buğday gelişim dönemleri süresince toprak enzimlerinin aktivitelerini belirlemek amacıyla 2019 yılında minimum ve konvansiyonel toprak işleme altında buğday yetiştiriciliği yapılan alandan; ekim, sapa kalkma ve tane dolmuş dönemlerinde; enzim analizleri için 0-10, 10-20, 20-30 cm toprak derinliklerinden 3 tekerrürlü olarak bozulmuş toprak örnekleri alınmıştır. Diğer toprak özellikleri için ise 0-30 cm derinlikten bozulmuş toprak örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler enzim analizleri için, nemli haliyle 2 mm elekten elendikten sonra +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiş; diğer analizler için ise havada kurutulup 2 mm elekten elendikten sonra analizlere hazır hale getirilmiştir. Toprakların tekstür sınıfları Gee ve Bauder (1986)'ya, organik madde içeriği Walkley ve Black (1934)'e; agregat stabilitesi analizi Kemper ve Rosenau (1986)'ya; bitkiye yararlı fosfor içeriği Olsen ve ark. (1954)'na; elektriksel iletkenlik analizi Rhoades (1983)'e; pH değerleri McLean (1982)'ye göre belirlenmiştir.

Katalaz aktivitesi; 5 g toprağa 20 ml fosfat tamponu (pH, 7) ve 10 ml %3 H₂O₂ substrat çözeltisi ilave edilip kalsimetreye yerleştirilmiştir. Örnek çalkalanmaya başlamış ve 23°C'de 3. dakikada açığa

çıkan O₂ hacmi (ml) schibler kalsimetresinde belirlenmiştir. Kontroller ise aynı şekilde ancak 2 ml %6.5 NaN₃ ilave edilerek saptanmıştır (Beck, 1971).

Üreaz aktivitesi; 1 gr toprağa 0.25 ml toluen, 0.75 ml sitrat tamponu (pH, 6.7) ve 1 ml %10 üre substrat solüsyonu eklenerek ve karışım 1 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Amonyum oluşumu 578 nm'de spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir (Hoffman ve Teicher, 1961).

Alkalin fosfataz aktivitesi; 1 gr toprak örneğine 4 ml fosfat tamponu (pH, 8.0) ve 1 ml p-nitrofenil fosfat solüsyonu eklenmiş ve örnekler 1 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. p-nitrofenol (p-NP) oluşumu 410 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Hofmann ve Hoffmann, 1966).

Veriler istatistiksel yazılım programı olan "SPSS" kullanılarak analiz edilmiştir (SPSS Inc., USA). Grup ortalamalarını karşılaştırmak için p<0.05 seviyesinde ANOVA ve gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için ise Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (p<0.05).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Toprak işleme sistemlerinin sadece üreaz aktivitesi üzerine, bitki gelişim dönemlerinin ise hem üreaz hem de alkalin fosfataz aktivitesi üzerine ve örnekleme derinliğinin ise her üç enzim aktivitesi üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur. İkili interaksiyonlar arasında ise; toprak işleme sistemleri ile bitki gelişim dönemleri interaksiyonunun sadece üreaz aktivitesi üzerine etkisi, toprak işleme sistemleri ile derinlik ve bitki gelişim dönemleri ile örnekleme derinliği interaksiyonlarının üreaz ve alkalin fosfataz aktivitesi üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli (P < 0.05) bulunmuştur. Üçlü interaksiyonun (toprak işleme sistemleri * derinlik * bitki gelişim dönemleri) toprak enzimleri üzerine etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p>0.05).

Üreaz Aktivitesi

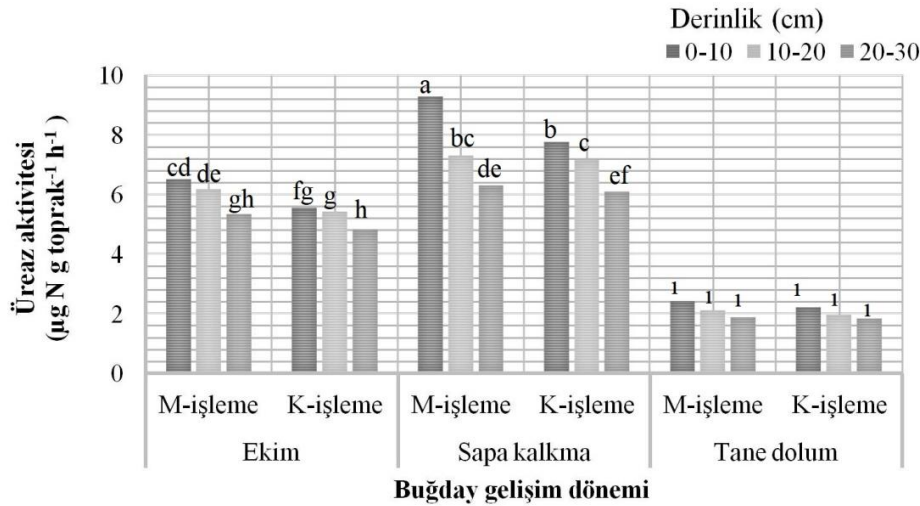
Çalışmadan elde edilen bulgular incelendiğinde, üreaz aktivitesinin bitki gelişim dönemleri, toprak işleme sistemleri ve örnekleme derinliğinden önemli (p<0.05) ölçüde etkilendiği belirlenmiştir (Çizelge 2). Minimum toprak işlemeli ve konvansiyonel toprak işlemeli tarım sistemlerinde en yüksek üreaz aktivitesi sapa kalkma döneminde (7.64, 7.02 µg g N toprak⁻¹ h⁻¹), en düşük üreaz aktivitesi ise tane dolum döneminde tespit edilmiştir (2.13, 1.99 µg g N toprak⁻¹ h⁻¹) (Çizelge 2). Sapa kalkma döneminde belirlenen yüksek enzim aktivitesi, aynı dönemde uygulanan önemli bir azot kaynağı olan üreden ve aynı dönemde yapılan sulamadan kaynaklanabilir. Sardans ve ark., (2008) üreaz aktivitesinin toprak sıcaklığına ve toprak nem içeriğine bağlı olduğunu, ancak toprak azot konsantrasyonuna bağlı olmadığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan, Dick ve ark., (1988) ile Bandick ve Dick (1999) inorganik azot ilavesiyle toprakların üreaz aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Hâlbuki, bulgularımız gübre (üre) uygulama dönemi olan sapa kalkma döneminde üreaz aktivitesinin en yüksek düzeyde olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, Lei ve ark., (2018) çalışmalarının sonucunda üreaz aktivitesi üzerinde sadece sıcaklığın değil, aynı zamanda bulgularla uyumlu olarak azot dozlarının ve toprak nem içeriğinin de önemli bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Buğdayın farklı gelişim dönemlerinin ve toprak derinliğinin ortalamaları dikkate alındığında minimum toprak işleme sisteminin konvansiyonel toprak işlemeye göre daha yüksek üreaz enzim aktivitesi ürettiği (meydana getirdiği, oluşturduğu) bulunmuştur (Çizelge 2). Üreaz aktivitesindeki bu değişim, minimum toprak işlemeli parsellerdeki organik madde miktarındaki artıştan kaynaklanabilir (Çizelge 1). Benzer sonuçlar birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Saha ve ark., 2008; Liang ve ark., 2014; Nivelles ve ark., 2016; Sánchez-Llerena ve ark., 2016; Malobane ve ark., 2020; Rahmati ve ark., 2020; Yang ve ark., 2020).

Çizelge 2. Uygulamalara bağlı olarak farklı toprak derinliklerindeki buğday gelişim dönemlerinde üreaz ($\mu\text{g N g toprak}^{-1} \text{h}^{-1}$) aktiviteleri

Uygulama	Derinlik (cm)	Buğday gelişim dönemleri			Derinlik ortalama
		Ekim	Sapa kalkma	Tane dolum	
Minimum toprak İşleme	0-10	6.75±0.52	9.29±0.41	2.42±0.9	6.15±3.02A
	10-20	6.17±0.39	7.3±0.41	2.1±0.23	5.19±2.38B
	20-30	5.34±0.35	6.3±0.35	1.88±0.07	4.51±2.03C
Ortalama		6.09±0.72b	7.64±1.36a	2.13±0.27c	5.28±2.51A
Konvansiyonel toprak İşleme	0-10	5.54±0.34	7.78±0.3	2.19±0.28	5.17±2.45A
	10-20	5.41±0.40	7.17±0.28	1.94±0.17	4.84±2.31A
	20-30	4.80±0.44	6.11±0.47	1.83±0	4.24±1.92B
Ortalama		5.25±0.48b	7.02±0.79a	1.99±0.23c	4.75±2.18B
Genel ortalama		5.67±0.73b	7.33±1.12a	2.06±0.25c	5.02±2.35

*Küçük harfler yatay değerlendirmeler, büyük harfler dikey değerlendirmeler için kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklar $p < 0.05$ önem seviyesinde test edilmiştir.

**Şekil 1.** Buğday gelişim dönemi süresince üreaz aktivitesi ($\mu\text{g N g toprak}^{-1} \text{h}^{-1}$; M-işleme; minimum toprak işlemeli tarım, K-işleme; konvansiyonel toprak işlemeli tarım).

Minimum ve konvansiyonel toprak işlemeye bağlı olarak üreaz enzim aktivitesi, toprak derinliğine bağlı olarak azalmıştır (Şekil 1). En yüksek aktivite her iki toprak işleme sisteminde de 0-10 cm toprak derinliğinde ($6.15, 5.17 \mu\text{g N g toprak}^{-1} \text{h}^{-1}$) belirlenirken, en düşük üreaz aktivitesi 20-30 cm toprak derinliğinde ($4.51, 4.24 \mu\text{g N g toprak}^{-1} \text{h}^{-1}$) belirlenmiştir (Çizelge 2). Üreaz aktivitesindeki değişim, toprak derinliği arttıkça organik maddenin azalmasıyla açıklanabilir (Deng ve Tabatai, 1997). Çalışma sonuçlarıyla uyumlu olarak birçok araştırmacı, toprak derinliği arttıkça enzim aktivitesinin azaldığını bildirmiştir (Green ve ark., 2007; Niu ve ark., 2016; Cai ve ark., 2018; Xu ve ark., 2021).

Alkalin Fosfataz Aktivitesi

Bitki gelişim dönemleri ve örnekleme derinliğinin alkali fosfataz aktivitesini önemli ($p < 0.05$) ölçüde etkilediği belirlenmiştir (Çizelge 3). Üreaz aktivitesinde olduğu gibi, en yüksek fosfataz aktivitesi hem minimum toprak işlemeli ($61.42 \mu\text{g g p-nitrofenol toprak}^{-1} \text{h}^{-1}$) hem de konvansiyonel toprak işlemeli tarım ($59.54 \mu\text{g g p-nitrofenol toprak}^{-1} \text{h}^{-1}$) altında sapa kalkma döneminde belirlenmiştir (Çizelge 3). Toprak enzim aktivitesindeki bu değişim aynı dönemde yapılan gübreleme ve sulama uygulamalarıyla açıklanabilir. Nitekim, Ye ve Peng (2019) çalışma sonuçlarıyla uyumlu olarak, azot gübresi ilavesinin topraklarda fosfataz aktivitesini arttırdığını belirlemişlerdir. Oysa, Liang

ve ark., (2014) çalışmalarında mineral gübre (362 kg N ha^{-1} ve 272 kg P ha^{-1}) uygulamasının fosfataz aktivitesini değiştirmediğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, bazı araştırmacılar da topraklara azot ilavesinin alkalın fosfataz aktivitesini düşürdüğünü belirlemişlerdir (Garg ve Bahl, 2008; Liu ve ark., 2010). Borowik ve Wyszowska (2016), çalışmaları sonucunda toprakların nem içeriğinin artmasıyla enzim aktivitelerinin arttığını ancak toprakların hacimsel nem içeriğinin %40 seviyesini aştığında enzim aktivitelerinde azalma görüldüğünü bildirmişlerdir.

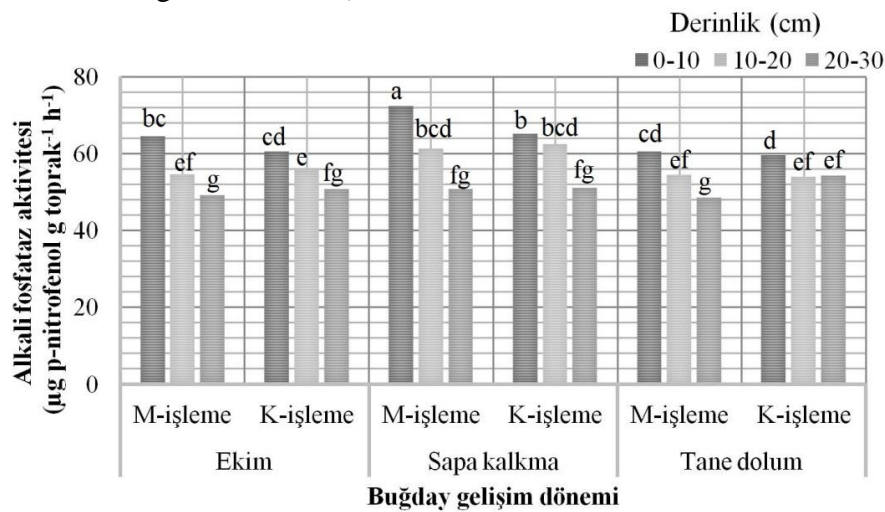
Çizelge 3. Uygulamalara bağlı olarak farklı toprak derinliklerindeki buğday gelişim dönemlerinde alkalın fosfataz ($\mu\text{g g p-nitrofenol toprak}^{-1} \text{ h}^{-1}$) aktiviteleri

Uygulama	Derinlik (cm)	Buğday gelişim dönemleri			Derinlik ortalama
		Ekim	Sapa kalkma	Tane dolun	
Minimum toprak işleme	0-10	64.53±4.65	72.25±2.01	60.57±1.34	65.78±5.77A
	10-20	54.54±3.27	61.33±2.28	54.48±3.16	56.78±4.25B
	20-30	49.11±1.35	50.66±0.47	48.48±2.68	49.42±1.80C
Ortalama		56.06±7.37b	61.42±9.47a	54.51±5.67b	57.33±7.96
Konvansiyonel toprak işleme	0-10	60.49±2.42	65.07±1.42	59.60±0.5	61.72±2.91A
	10-20	55.95±1.51	62.40±0.28	54.02±0.8	57.46±3.91B
	20-30	50.71±2.76	51.14±0.43	54.31±2.15	52.05±2.45C
Ortalama		55.726±4.68b	59.54±6.44a	55.97±2.98b	57.08±5.04
Genel ortalama		55.89±5.99b	60.48±7.92a	55.24±4.46b	57.20±6.6

*Küçük harfler yatay değerlendirmeler, büyük harfler dikey değerlendirmeler için kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklar $p < 0.05$ önem seviyesinde test edilmiştir.

Çizelge 3 incelendiğinde, işleme sistemlerinin ortalamaları dikkate alındığında minimum toprak işlemeli tarım ($57.33 \mu\text{g g N toprak}^{-1} \text{ h}^{-1}$) sisteminde, konvansiyonel toprak işlemeli ($57.08 \mu\text{g g N toprak}^{-1} \text{ h}^{-1}$) tarım sistemine göre enzim aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Minimum toprak işleme sistemindeki enzim aktivitesinin daha yüksek olması, bu tarım sistemi altındaki organik madde içeriğinin ve bitkiye yararlı fosfor içeriğinin daha yüksek olmasından kaynaklanabilir.

Deng ve Tabatabai (1997) ile Wang ve ark., (2011), çalışmaları sonucunda minimum toprak işlemeli tarım sistemlerinin toprakların enzim aktivitesini arttırdığını belirlemişlerdir. Benzer sonuçlar birçok araştırmacı tarafından da bildirilmiştir (Deng ve Tabatabai 1997; Wang ve ark., 2011; Mirzavand ve ark., 2020; Yang ve ark., 2020).



Şekil 2. Buğday gelişim dönemi süresince alkalın fosfataz aktivitesi ($\mu\text{g g p-nitrofenol toprak}^{-1} \text{ h}^{-1}$; M-işleme; minimum toprak işlemeli tarım, K-işleme; konvansiyonel toprak işlemeli tarım).

Enzim aktiviteleri toprak derinliğine bağlı olarak azalma göstermiştir (Şekil 2). Örnekleme derinliği ortalamalarına bakıldığında; en yüksek enzim aktiviteleri her iki toprak işleme sisteminde de

(minimum toprak işleme, konvansiyonel toprak işleme; 65.78, 61.72 $\mu\text{g g N toprak}^{-1} \text{ h}^{-1}$) 0-10 cm toprak derinliğinde belirlenmiştir (Çizelge 3). Toprak derinliği arttıkça enzim aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. Benzer sonuçlar birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Shi ve ark., 2013; Cai ve ark., 2018).

Katalaz Aktivitesi

Araştırma bulgularına göre; katalaz aktivitesinin sadece örnekleme derinliğinden önemli ($p<0.05$) ölçüde etkilendiği belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Uygulamalara bağlı olarak farklı toprak derinliklerindeki buğday gelişim dönemlerinde katalaz ($\text{ml O}_2 \text{ 3 dak}^{-1} \text{ g toprak}^{-1}$) aktiviteleri

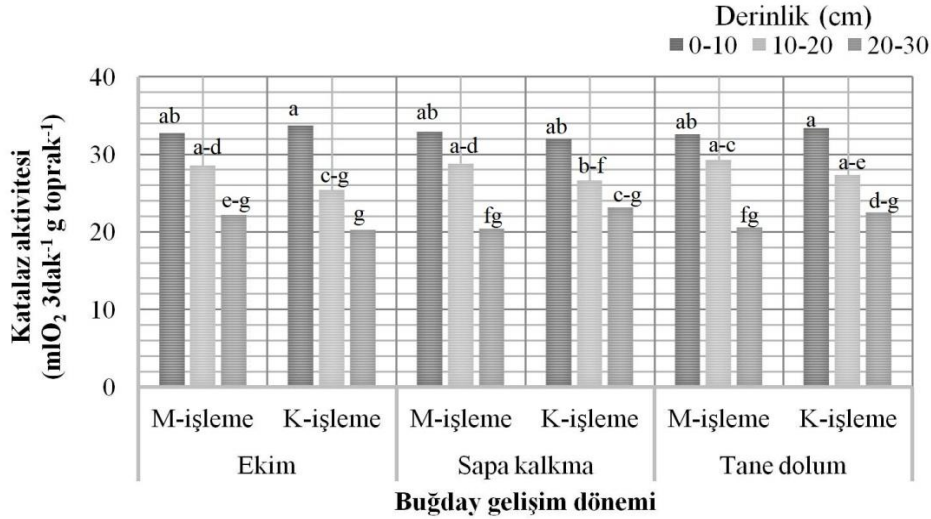
Uygulama	Derinlik (cm)	Buğday gelişim dönemleri			Derinlik ortalama
		Ekim	Sapa kalkma	Tane dolum	
Minimum toprak işleme	0-10	32.72±1.66	32.90±3.53	32.59±1.97	32.74±2.19A
	10-20	28.54±1.15	28.78±0.51	29.30±0.75	28.87±0.80B
	20-30	22.19±3.31	20.41±4.98	20.57±3.13	21.06±3.48C
Ortalama		27.82±4.98	27.37±6.30	27.48±5.70	27.56±5.46
Konvansiyonel toprak işleme	0-10	33.70±0.68	32.04±2.80	33.41±3.57	33.05±2.42A
	10-20	25.44±6.48	26.62±6.00	27.32±4.97	26.46±5.13B
	20-30	20.24±0.26	23.14±2.22	22.54±1.42	21.98±1.87C
Ortalama		26.46±6.72	27.27±5.22	27.76±5.67	27.16±5.69
Genel ortalama		27.14±5.78	27.32±5.61	27.62±5.51	27.36±5.35

*Büyük harfler dikey değerlendirmeler için kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklar $p<0.05$ önem seviyesinde test edilmiştir.

Buğday gelişim dönemleri incelendiğinde; katalaz aktivitesinin minimum toprak işlemeli tarımda ekim döneminde ($27.82 \text{ ml O}_2 \text{ 3 dak}^{-1} \text{ g toprak}^{-1}$) ve konvansiyonel toprak işlemeli tarımda ise tane dolum döneminde ($27.76 \text{ ml O}_2 \text{ 3 dak}^{-1} \text{ g toprak}^{-1}$) en yüksek olduğu ancak bu değişimin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$). Önceki çalışmaların (Borowik ve Wyszowska, 2016) aksine yapılan gübrelemenin ve sulamanın katalaz aktivitesi üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Ye ve Peng (2019), azot gübresi ilavesinin topraklarda katalaz aktivitesi üzerine etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Ancak, Siwik-Ziomek ve Szczepanek (2019) çalışmalarında azot gübrelerinin katalaz aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir.

Toprak işleme sistemi ortalamaları incelendiğinde; minimum toprak işlemeli tarım sistemi ($27.56 \text{ ml O}_2 \text{ 3 dak}^{-1} \text{ g toprak}^{-1}$) altında daha yüksek katalaz aktivitesinin tespit edildiği ancak bu sonucun istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$). Meng ve ark., (2016) ve Tang ve ark., (2020) konvansiyonel toprak işlemeli tarım sisteminde enzim aktivitesinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Katalaz aktivitesi diğer enzim aktivitelerinde olduğu gibi, derinlik arttıkça azalmıştır (Şekil 3). En yüksek katalaz aktivitesi 0-10 cm derinlikte (minimum toprak işleme, konvansiyonel toprak işleme; 32.74, 33.05 $\text{ml O}_2 \text{ 3 dak}^{-1} \text{ g toprak}^{-1}$) belirlenirken, en düşük aktivite ise 20-30 cm toprak derinliğinde (minimum toprak işleme, konvansiyonel toprak işleme; 21.06, 21.98 $\text{ml O}_2 \text{ 3 dak}^{-1} \text{ g toprak}^{-1}$) belirlenmiştir. Benzer sonuçlar, Ulrich ve ark., (2010) ve Cai ve ark., (2018) tarafından da rapor edilmiştir.



Şekil 3. Buğday gelişim dönemi süresince katalaz aktivitesi ($\text{ml O}_2 \text{ 3 dak}^{-1} \text{ g toprak}^{-1}$; M-işleme; minimum toprak işlemeli tarım, K-işleme; konvansiyonel toprak işlemeli tarım).

SONUÇ

Toprak enzimlerinin aktiviteleri, toprak sıcaklığı ve toprak neminden etkilenmektedir ayrıca enzim aktiviteleri farklı toprak işleme uygulamaları arasında da farklılık göstermiştir. Buğday gelişim dönemleri arasında hem konvansiyonel hem de minimum toprak işlemeli tarım sistemi altında en yüksek üreaz ve alkalın fosfataz aktivitelerinin sapa kalkma döneminde olduğu tespit edilmiştir. Minimum toprak işlemeli tarım altında üreaz ve alkalın fosfataz aktivitelerinin konvansiyonel toprak işlemeye göre daha yüksek olduğu ancak katalaz aktivitesinin ise konvansiyonel toprak işleme sisteminde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca toprak derinliği arttıkça enzim aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Araştırmada; bitki yetiştiriciliği altındaki topraklarda enzim aktiviteleri belirlenirken; toprak örneklerinin alındığı bitki gelişim döneminin, enzim aktiviteleri bakımından önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamıştır.

Yazar Katkısı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2018. T. C. Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Bandick AK, Dick, RP, 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil biology and biochemistry*, 31(11): 1471-1479
- Beck TH, 1971. Die messung der katalaseaktivitaet von Böden. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 130 (1): 68-81.
- Borowik A, Wyszowska J, 2016. Soil moisture as a factor affecting the microbiological and biochemical activity of soil. *Plant, Soil and Environment*, 62(6): 250-255.
- Burns RG, 1982. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry*, 14 (5): 423-427.
- Cai X, Lin Z, Penttinen P, Li Y, Li Y, Luo Y, Yue T, Jiang P, Fu W, 2018. Effects of conversion from a natural evergreen broadleaf forest to a Moso bamboo plantation on the soil nutrient pools,

- microbial biomass and enzyme activities in a subtropical area. *Forest Ecology and Management*, 422: 161–171.
- Chabi-Olaye A, Nolte C, Schulthess F, Borgemeister C, 2005. Effects of grain legumes and cover crops on maize yield and plant damage by *busseola fusca* (fuller) (Lepidoptera: Noctuidae) in the humid forest of southern Cameroon. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 108 (1): 17-28.
- Couëdel A, Alletto L, Tribouillois H, Justes É, 2018. Cover crop crucifer-legume mixtures provide effective nitrate catch crop and nitrogen green manure ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 254: 50–59.
- Deng SP, Tabatabai MA, 1997. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. *Biology and Fertility of Soils*, 24: 141–146.
- Dick RP, 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. *Defining soil quality for a sustainable environment*, 35: 107-124.
- Dick RP, Rasmussen PE, Kerle EA, 1988. Influence of long-term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. *Biology and Fertility of Soils*, 6(2): 159-164.
- Garg S, Bahl GS, 2008. Phosphorus availability to maize as influenced by organic manures and fertilizer P associated phosphatase activity in soils. *Bioresource Technology*, 99(13): 5773-5777.
- Gee GW, Bauder JW, 1986. Particle-size analysis. *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods. Second Edition. Agronomy*, 9: 383-441.
- Green VS, Stott DE, Cruz JC, Curi N, 2007. Tillage impacts on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol. *Soil and Tillage Research*, 92: 114–121.
- Hoffmann GG, Teicher K, 1961. Ein kolorimetrisches verfahren zur bestimmung der urease aktivitat in böden. *Z. Pflanzenernähr.Düng. Bodenkunde*. 91(140): 55-63.
- Hofmann ED, Hoffmann GG, 1966. Die bestimmung der biologischen tatigkeit in böden mit enzymethoden. Reprinted from *Advances in Enzymology and Related Subject of Biochemistry*, 28: 365-390.
- Kemper WD, Rosenau RC, 1986. Aggregate stability and size distribution. *methods of soil analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods (2nd ed.)*. *Agronomy*, 9: 425-442, 1188. doi:10.2136/sssabookser5.1.2ed.c17
- Landriscini MR, Galantini JA, Duval ME, Capurro JE, 2019. Nitrogen balance in a plant-soil system under different cover crop-soybean cropping in Argentina, *Applied Soil Ecology*, 133: 124-131.
- Lei T, Gu Q, Guo X, Ma J, Zhang Y, Sun X, 2018. Urease activity and urea hydrolysis rate under coupling effects of moisture content, temperature, and nitrogen application rate. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 11(2): 132-138.
- Liang Q, Chen H, Gong Y, Yang H, Fan M, Kuzyakov Y, 2014. Effects of 15 years of manure and mineral fertilizers on enzyme activities in particle-size fractions in a North China Plain soil. *European Journal of Soil Biology*, 60: 112-119.
- Liu E, Yan C, Mei X, He W, Bing SH., Ding L, Fa T, 2010. Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on soil chemical and biological properties in northwest China. *Geoderma*, 158 (3-4), 173-180.
- Malobane ME, Nciizah AD, Nyambo P, Mudau FN, Wakindiki II, 2020. Microbial biomass carbon and enzyme activities as influenced by tillage, crop rotation and residue management in a sweet sorghum cropping system in marginal soils of South Africa. *Heliyon*, 6 (11): e05513.

- Mclean, EO, 1982. Soil ph and lime requirement. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties (2nd ed.). Agronomy, 9: 199-224.
- Meng QDL₁, Zhang J, Zhou L, Ma X, Wang H, Wang G, 2016. Soil properties and maize (*Zea mays* L.) production under manure application combined with deep tillage management in solonetzic soils of Songnen Plain, Northeast China. Journal of Integrative Agriculture, 15(4): 879–890.
- Mirzavand J, Asadi-Rahmani H, Moradi-Talebbeigi R, 2020. Biological indicators of soil quality under conventional, reduced, and no-tillage systems. Archives of Agronomy and Soil Science, 1-14.
- Mukherjee A, Lal R, 2015. Short-term effects of cover cropping on the quality of a Typic Argiaquolls in Central Ohio. Catena, 131: 125–129.
- Niu Y, Zhang R, Luo Z, Li L, Cai L, Li G, Xie J, 2016. Contributions of long-term tillage systems on crop production and soil properties in the semi-arid Loess Plateau of China. Journal of the Science of Food and Agriculture, 96(8): 2650-2659.
- Nivelle E, Verzeaux J, Habbib H, Kuzyakov Y, Decocq G, Roger D, Lacoux J, Duclercq J, Spicher F, Nava-Saucedo JE., Catterou M, Dubois F, Tetu F, 2016. Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization. Applied Soil Ecology, 108: 147–155.
- Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS, Dean LA, 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. US Department of Agriculture, 939.
- Quilchano, C, Marañón, T, 2002. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. Biol. Fert. Soils. 35: 102-107.
- Radicetti E, Mancinelli R, Moschetti R, Campiglia E, 2016. Management of winter cover crop residues under different tillage conditions affects nitrogen utilization efficiency and yield of eggplant (*Solanum melanogena* L.) in Mediterranean environment. Soil and Tillage Research, 155: 329-338.
- Rahmati M, Eskandari I, Kouselou M, Feiziasl V, Mahdavinia GR, Aliasghar zad N, McKenzie BM, 2020. Changes in soil organic carbon fractions and residence time five years after implementing conventional and conservation tillage practices. Soil and Tillage Research, 200: 104632. Doi:
- Rhoades JD, 1983. Soluble salts. Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties 9: 167-179.
- Roldán, A, Salinas-García, JR, Alguacil, MM, Díaz, E, Caravaca, F, 2005. Soil enzyme activities suggest advantages of conservation tillage practices in sorghum cultivation under subtropical conditions. Geoderma, 129(3-4): 178-185.
- Saha S, Gopinath KA, Mina BL, Gupta HS, 2008. Influence of continuous application of inorganic nutrients to a Maize–Wheat rotation on soil enzyme activity and grain quality in a rainfed Indian soil. European Journal of Soil Biology, 44(5-6): 521-531.
- Sainju UM, Singh HP, Singh BP, 2017. Soil carbon and nitrogen in response to perennial bioenergy grass, cover crop and nitrogen fertilization. Pedosphere, 27: 223–235. doi:10.1016/S1002-0160(17)60312-6
- Sánchez-Llerena J, López-Piñero A, Albarrán A, Peña D, Becerra D, Rato-Nunes JM, 2016. Short and long-term effects of different irrigation and tillage systemson soil properties and rice productivity under Mediterranean conditions. European Journal of Agronomy, 77: 101–110.

- Sardans J, Peñuelas J, Estiarte M, 2008. Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. *Applied Soil Ecology*, 39(2): 223-235.
- Shi Y, Lalonde R, Hamel C, Ziadi N, Gagnon B, Hu Z, 2013. Seasonal variation of microbial biomass, activity, and community structure in soil under different tillage and phosphorus management practices. *Biol Fertil Soils*, 49: 803–818.
- Siwik-Ziomek A, Szczepanek M, 2019. Soil extracellular enzyme activities and uptake of N by Oilseed Rape depending on fertilization and seaweed biostimulant application. *Agronomy*, 9(9): 480
- Sweeney DW, Moyer JL, 1994. Legume green manures and conservation tillage for grain sorghum production on prairie soil. *Soil Science Society of America Journal*, 58: 1518-1524.
- Tang H, Xiao X, Li C, Cheng K, Shi L, Pan X, Wang K, 2020. Tillage and crop residue incorporation effects on soil bacterial diversity in the double-cropping paddy field of southern China. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 1-12.
- TÜİK, 2019. <https://www.tuik.gov.tr/>
- TÜİK, 2020. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001
- Ulrich S, Tischer S, Hofmann B, Christen O, 2010. Biological soil properties in a long-term tillage trial in Germany. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173, 483–489.
- Walkley, A., Black, L.A. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37 (1): 29–38.
- Wang JB, Chen ZH, Chen LJ, Zhu AN, Wu ZJ, 2011. Surface soil phosphorus and phosphatase activities affected by tillage and crop residue input amounts. *Plant Soil and Environment* 57 (6): 251–257.
- Wang JB, Chen ZH, Chen LJ, Zhu AN, Wu ZJ, 2011. Surface soil phosphorus and phosphatase activities affected by tillage and crop residue input amounts. *Plant Soil and Environment*, 57 (6): 251–257.
- Wolff MW, Alsina MM, Stockert CM, Khalsa SDS, Smart DR, 2018. Minimum tillage of a cover crop lowers net GWP and sequesters soil carbon in a California vineyard. *Soil and Tillage Research*, 175: 244–254.
- Xu T, Chen X, Hou Y, Zhu B, 2021. Changes in microbial biomass, community composition and diversity, and functioning with soil depth in two alpine ecosystems on the Tibetan plateau. *Plant and Soil*, 459(1):137-153.
- Yang H, Wu G, Mo P, Chen S, Wang S, Xiao Y, Fan G, 2020. The combined effects of maize straw mulch and no-tillage on grain yield and water and nitrogen use efficiency of dry-land winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Soil and Tillage Research*, 197: 104485.
- Ye S, Peng B, 2019. Effects of application of nitrogen, phosphorus and potassium on soil fertility and enzyme activities of pear jujube under straw mulching. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 384 (1); 012098. IOP Publishing.

To Cite: Erdel E, 2021. Determining The Effect of Different Tillage Methods on Soil Penetration Resistance During Wheat Growing Season. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3254-3261.

Determining The Effect of Different Tillage Methods on Soil Penetration Resistance During Wheat Growing Season

Erhan ERDEL^{1*}

ABSTRACT: Conservation tillage systems are applied due to their benefits for soil properties. However, studies have reported that conservation tillage system has negative effects on soil such as soil compaction. The aim of this study was to investigate the effects of tillage systems (minimum till, conventional till) on soil compaction during wheat cultivation. For this purpose, the penetration resistance readings were collected monthly from January to June at the depth of 0-80 cm. In order to determine soil moisture content, disturbed soil samples were collected at the same time with penetration measurements at the depth of 0-20 cm. The highest values of penetration resistance were recorded in May and June at the depths of 21-80 cm. In the meantime, the lowest values of soil moisture content were observed in May and June at the depth of 0-20 cm. In 21-30 cm soil layer, according to means of depth, penetration resistance was 2.04 MPa, which is the limit value for root growth in minimum tilled plots while 1.58 MPa in conventional tilled plots at the same depth. Results showed that penetration resistance increased with increasing soil depth and decreased with increasing soil moisture content, and soil penetration resistance increased under minimum tillage.

Keywords: Soil compaction, minimum tillage, penetration resistance, soil moisture.

¹Erhan ERDEL ([Orcid ID: 0000-0002-8011-9452](https://orcid.org/0000-0002-8011-9452)), İğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, İğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Erhan ERDEL, erhanerdel@gmail.com

INTRODUCTION

Soil is exposed to many applications which affect physical, chemical and biological properties for crop production and one of these applications is tillage. Tillage is an application to prepare a seedbed, control weeds, improve surface drainage, control flow of air and water, control plant residues, control soil erosion, breakdown large aggregates into small aggregates and incorporate organic and inorganic fertilizers (Gebhardt et al., 1985). Due to such advantages, tillage with moldboard plow has been used for many years and is still used in our country as conventional tillage.

Conventional tillage helps accelerate the mineralization of organic matter, degradation of soil structure, decrease of soil moisture content, acceleration of water and wind erosion and increase surface runoff due to uncovered soil surface and increase nutrient loss with leaching in time. Over time, new tillage systems have been developed due to disadvantages of conventional tillage. These systems are called soil conservation tillage systems.

Soil conservation tillage systems aim to reduce soil disturbance and conserve and manage crop residues on soil. They include no tillage or zero tillage, minimum tillage, reduced tillage, strategic tillage etc. Some of the benefits of these systems are improvement of soil structure, soil organic matter and an increase soil nutrients thus an increase in soil macro and microorganisms. Also, these systems reduce surface runoff, wind erosion and evaporation due to plant cover on soil surface; therefore maintain and increase storage of soil moisture content for main crop (Cavaliere et al., 2009; Dörner and Horn, 2009; Girardello et al., 2014; Calonego et al., 2017; Conyers et al., 2019; Vizoli et al., 2021). However, in addition to all these positive effects, previous studies reported that no-tillage also has some negative effects such as soil compaction (Martínez et al., 2016).

Soil compaction is the process during which the soil aggregates are rearranged to reduce pore space and brought closer with each aggregate, increasing soil bulk density (SSSA, 1996). Soil compaction is directly related to soil porosity, soil structure as soil physical properties. Compaction decreases soil porosity, air permeability, hydraulic conductivity, plant root growth and crop yields and increases soil bulk density and soil strength (resistance to penetration). Soil strength affects the development of plant roots in the soil and the measurements of soil strength are used for determining soil compaction (Horn and Rostek, 2000).

The objective of this paper was to investigate the effects of tillage systems on soil penetration resistance of a clay loam soil during wheat cultivation.

MATERIAL AND METHODS

Study site

The study was established in the experiment field of Iğdır University Agricultural Research and Application Center, Turkey.

In the region, summer is hot and winter is mild due to microclimate feature of Iğdır. The highest rainfall in the plain falls in May and the lowest in August. In Iğdır, the annual average rainfall is 254.2 mm, and the evaporation is 1094.9 mm. The coldest month is January and the warmest is July (Anonymous, 2018) and the elevation of the region is 850 m, the slope of irrigated lands in the central district of plain is straight and nearly straight (0-2%). Some soil properties were shown in Table 1.

The study consists of cultivation of wheat in conventional tillage (moldboard plow with the depth of 40 cm, rotary tiller) and minimum-tillage (rotary tiller with the depth of 0-10 cm, wheat sowing machine). The wheat cultivation started in 2016 and continued until 2019 under minimum and conventional tillage. The wheat was planted with sowing machine in spring (March) each year.

Table 1. Results of some soil properties

Tillage systems	Soil properties				
	Texture	OM, %	AS, %	EC, $\mu\text{mhos cm}^{-1}$	pH
Minimum tillage	Clay loam	1.65±0.32	24±2.8	430±41	8.50±0.11
Conventional tillage	Clay loam	1.55±0.18	22±2.42	570±22	8.66±0.22

* SOM: soil organic matter; AS: aggregate stability; EC: electrical conductivity; pH: soil pH.

Penetration resistance

In the study, soil penetration resistance was measured with a 60° cone and either a 1 cm² base area and a 0-10 MPa range (Eijelkamp 06.15.31 Penetrologger, Nijverheidsstraat 30, NL-6987 EM Giesbeek). Penetration resistance data were recorded at the depth of 0-80 cm in 1 cm increments with the twenty readings per tillage systems on the 30th of each month since January to June under wheat cultivation in both minimum and conventional tilled plots in 2019.

Soil moisture content

It was determined gravimetrically in disturbed soil samples collected from at the depth of 0-20 cm under wheat cultivation on the 30th of each month since January to June in both minimum and conventional tilled plots.

Soil sampling and analysis

For soil physical and chemical analysis, disturbed soil samples were collected after wheat was planted in the research area from 0-30 cm soil layer in 2019.

Organic matter, aggregate stability, soil pH and electrical conductivity were determined in disturbed soil samples. Soil organic matter, aggregate stability, pH and electrical conductivity were determined according to Walkley and Black (1934), Kemper and Rosenau (1986), McLean (1982) and Rhoades (1983), respectively. Soil moisture content was determined according to Reynolds (1970).

Statistical analysis

The data were analyzed using statistical software program *SPSS* (SPSS Inc., USA). The mean values of each group were tested by ANOVA (Analysis of variance) tests. The differences between each group were detected for statistical significance ($p < 0.05$) and the differences between specified groups were determined by Duncan multiple comparison test ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The penetration resistance was significantly ($p < 0.05$) influenced by tillage systems, soil depths and months. The two-way interactions months x soil depths, months x tillage systems and soil depths x tillage systems significantly affected soil penetration resistance. The three-way interaction wasn't found to be statistically significant ($p > 0.05$).

The lowest mean value of penetration resistance was at the 0-10 cm soil depth (1.05 MPa) and highest was in 71-80 cm soil depth (2.43 MPa; Table 2). It is clear that the penetration resistance increased with increasing soil depth. Franzen et al. (1994) and Campbell and O'Sullivan (1991) reported an increase in soil penetration resistance with depth due to in shaft friction whereas Bradford (1986) reported that the increase depended on soil hardness and probe diameter. The other reason is that soil with high clay content leads to the formation of strong columnar aggregates may cause an increase in the penetration readings (Villar 1989; Atwell 1993). In the region, Şimşek et al. (2019) reported that the soil has hardness and high clay content at the depth of 0-96 cm, so the increase in penetration resistance may be due to hardness and clay content in the 0-96 cm soil layer.

Table 2. The changes of soil penetration resistance with soil depths, months and tillage systems (MPa)

Depths (cm)	Tillage systems	Months						Means of depth	Overall means
		January	February	March	April	May	June		
0-10	Ct	0.91±0.07	0.82±0.07	0.74±0.11	0.96±0.09	0.61±0.06	0.99±0.09	0.84±0.15B	1.05±0.30G
	Mt	1.15±0.11	1.19±0.07	1.05±0.03	1.57±0.18	1.00±0.26	1.60±0.08	1.26±0.27A	
	Total	1.03±0.15b	1.00±0.20bc	0.90±0.18cd	1.26±0.35a	0.80±0.27d	1.30±0.33a		
11-20	Ct	1.33±0.07	1.23±0.14	1.08±0.13	1.38±0.15	0.97±0.11	1.40±0.05	1.23±0.19B	1.56±0.49F
	Mt	1.58±0.07	1.72±0.03	1.54±0.15	2.05±0.05	1.79±0.59	2.69±0.33	1.90±0.47A	
	Total	1.45±0.14c	1.47±0.28c	1.31±0.28c	1.72±0.37b	1.38±0.59c	2.04±0.72a		
21-30	Ct	1.73±0.12	1.68±0.16	1.48±0.15	1.58±0.12	1.39±0.16	1.61±0.11	1.58±0.17B	1.81±0.40E
	Mt	1.88±0.08	1.89±0.04	1.75±0.10	1.86±0.17	2.31±0.82	2.59±0.18	2.04±0.44A	
	Total	1.80±0.12b	1.78±0.15b	1.61±0.18b	1.72±0.20b	1.85±0.73ab	2.10±0.54a		
31-40	Ct	1.97±0.06	1.84±0.15	1.85±0.07	1.75±0.14	1.73±0.25	1.78±0.16	1.82±0.16B	1.97±0.29D
	Mt	2.03±0.1	1.97±0.10	1.90±0.09	1.94±0.20	2.42±0.57	2.41±0.15	2.11±0.32A	
	Total	2.00±0.08	1.91±0.14	1.88±0.08	1.85±0.19	2.08±0.55	2.10±0.36		
41-50	Ct	1.99±0.11	1.77±0.12	1.91±0.04	1.75±0.10	2.07±0.15	2.06±0.25	1.93±0.18B	2.02±0.28D
	Mt	2.11±0.15	1.92±0.16	1.84±0.09	1.91±0.21	2.47±0.40	2.48±0.13	2.12±0.33A	
	Total	2.05±0.14b	1.84±0.15c	1.88±0.08bc	1.83±0.17c	2.27±0.35a	2.27±0.29a		
51-60	Ct	1.93±0.07	1.71±0.10	1.92±0.05	1.72±0.08	2.39±0.27	2.43±0.25	2.02±0.33B	2.11±0.42C
	Mt	2.05±0.13	1.80±0.09	1.88±0.13	1.85±0.16	2.75±0.45	2.87±0.12	2.20±0.49A	
	Total	1.99±0.11b	1.76±0.10c	1.90±0.09bc	1.78±0.13bc	2.57±0.39a	2.65±0.30a		
61-70	Ct	1.91±0.11	1.68±0.07	1.98±0.09	1.71±0.06	2.84±0.24	2.94±0.27	2.18±0.54B	2.30±0.67B
	Mt	1.99±0.12	1.76±0.13	2.09±0.18	1.82±0.13	3.45±0.38	3.48±0.15	2.43±0.77A	
	Total	1.95±0.12bc	1.72±0.11d	2.03±0.14b	1.77±0.1cd1	3.14±0.44a	3.21±0.34a		
71-80	Ct	1.85±0.11	1.68±0.06	1.94±0.15	1.70±0.11	3.45±0.06	3.31±0.29	2.32±0.78B	2.43±0.86A
	Mt	1.95±0.16	1.73±0.10	2.14±0.24	1.83±0.15	3.94±0.28	3.68±0.29	2.55±0.94A	
	Total	1.90±0.14cd	1.71±0.08d	2.04±0.21c	1.77±0.14d	3.70±0.32a	3.49±0.33b		
Overall means		1.77±0.35c	1.65±0.31d	1.69±0.41d	1.71±0.27cd	2.22±0.98b	2.39±0.77a		1.91±0.64

*Ct, conventional tillage; Mt, minimum tillage.

According to the means of penetration resistance for months, the highest penetration resistance was in June (2.39 MPa) and the lowest was in February (1.65 MPa). The changes could be explained by the differences in soil water content at the time of measurement as the differences in soil moisture content between tillage systems and sampling time were found to be significant ($p < 0.05$). Figure 1 shows that soil moisture content decreased throughout the months. Van Quang and Jansson (2012) reported that soil water content affected soil penetration resistance. Low soil moisture content causes a hard-set condition especially in soil which has clay texture due to swelling-shrinkage feature of clay. Han et al. (2006) also reported that soil with low soil moisture content created a hard-set form. In addition, Lopez et al. (1996) reported that the high (4-5 MPa) penetration resistance values were recorded in low moisture content.

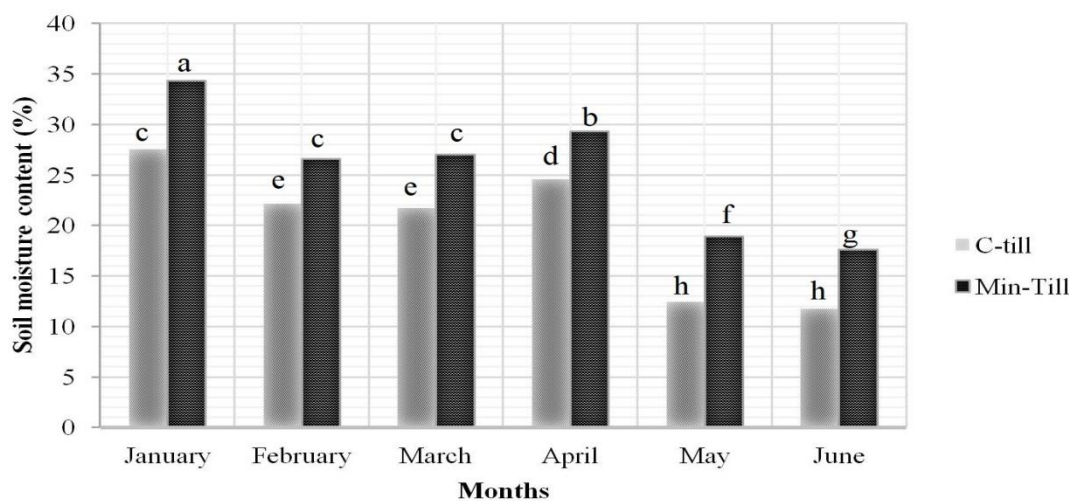


Figure 1. Soil moisture content during wheat growing season at the depth of 0-20 cm (C-till, conventional tillage; M-till, minimum tillage).

In the 0-10 cm soil layer; the lowest penetration resistance was found in conventional tilled plots (0.84 MPa). In this layer, there were significant differences between measuring times. The highest value was in June (1.30 MPa) and the lowest in May (0.80 MPa). At the 11-20 cm soil depth, the penetration resistance was 1.23 MPa in conventional tilled and 1.90 MPa in minimum tilled. The highest value for penetration resistance was in June (2.04 MPa) and lowest in March (1.31 MPa) from January to June. In the 21-30 cm soil layer, it was found higher in minimum tilled plots (2.04 MPa). In June, the penetration resistance was 2.10 MPa with the highest value and in March 1.61 MPa with the lowest value. In the 31-40 cm soil layer, it was found 1.82 MPa in conventional tilled and 2.11 MPa in minimum tilled plots. There were no significant differences between months at the depth of 21-30 cm. The penetration resistance values were higher than 2 MPa in January, May and June. At the depth of 41-50 cm, the penetration values were higher under minimum tilled plots than the conventionally tilled. The differences between months were found to be statistically significant. While the highest values were in May and June, the lowest was in April. In the 51-60 cm soil layer, it was determined higher under minimum tilled plots (2.02 MPa). The highest values were in June while the lowest were in February. At 61-70 cm soil depth, the higher values were in minimum tilled plots (2.43 MPa). The highest values between months were observed in June with In the 71-80 cm soil depth, the lower values were in conventional tillage and the higher values were in May between months (Table 2).

According to the findings, the penetration resistance decreased in conventional tillage and increased in minimum tillage. The differences could be explained by age-hardening which is the result of particle rearrangements and particle cementation under minimum tillage. Medeiros et al. (2011), de Moraes et al. (2017) and Vizioli et al. (2021) found that the higher values of penetration resistance in no-tillage practices can be referred to age-hardening of soil aggregates. Mairghany et al. (2019) detected that tillage practices reduce soil penetration resistance. Mairghany et al. (2019), Lampurlanés and Cantero-Martínez (2003) and Wulanningtyas et al. (2021) also determined that no-tillage practices increase penetration resistance. Besides, Nunes et al. (2015) determined that chiseling decreased soil penetration resistance.

Figure 2 shows that the penetration resistance is above 2 MPa, which is the limit value for plant root development in January at the depth of 31-40 cm. In February, it did not exceed 2 MPa in the 0-80 cm soil depth. The penetration resistance is above 2 MPa in March at the depth of 61-70 cm. In April, it is over 2 MPa at a depth of only 11-20 cm in minimum tillage. In minimum tillage, the penetration resistance is over 2 MPa at the depth of 21-30 cm, whereas it is over 2 MPa at the depth of 41-50 cm under conventional tillage in May. Besides, in June it is above 2 MPa in the 11-20 cm soil layer under minimum tillage nonetheless in conventional tillage, it is over 2 MPa at the depth of 41-50 cm. It is observed that penetration resistance in May and June is over 2 MPa below 21-30 cm soil depth.

CONCLUSION

The results showed that from January to June, the soil penetration resistance exceeded 2 MPa only in May and June which is close to the harvest period of wheat at a soil depth of 0-30 cm which is the root depth for wheat under minimum tillage. Therefore, it has been determined that minimum tillage for wheat growth does not pose a problem in terms of compaction. In general, as a result of minimum tillage which is performed for 4 years, penetration resistance exceeded 2 MPa below 31-40 cm soil depth where the wheat roots cannot reach. In conclusion, it can be suggested that minimum tillage should be applied for sustaining soil health and quality for wheat cultivation.

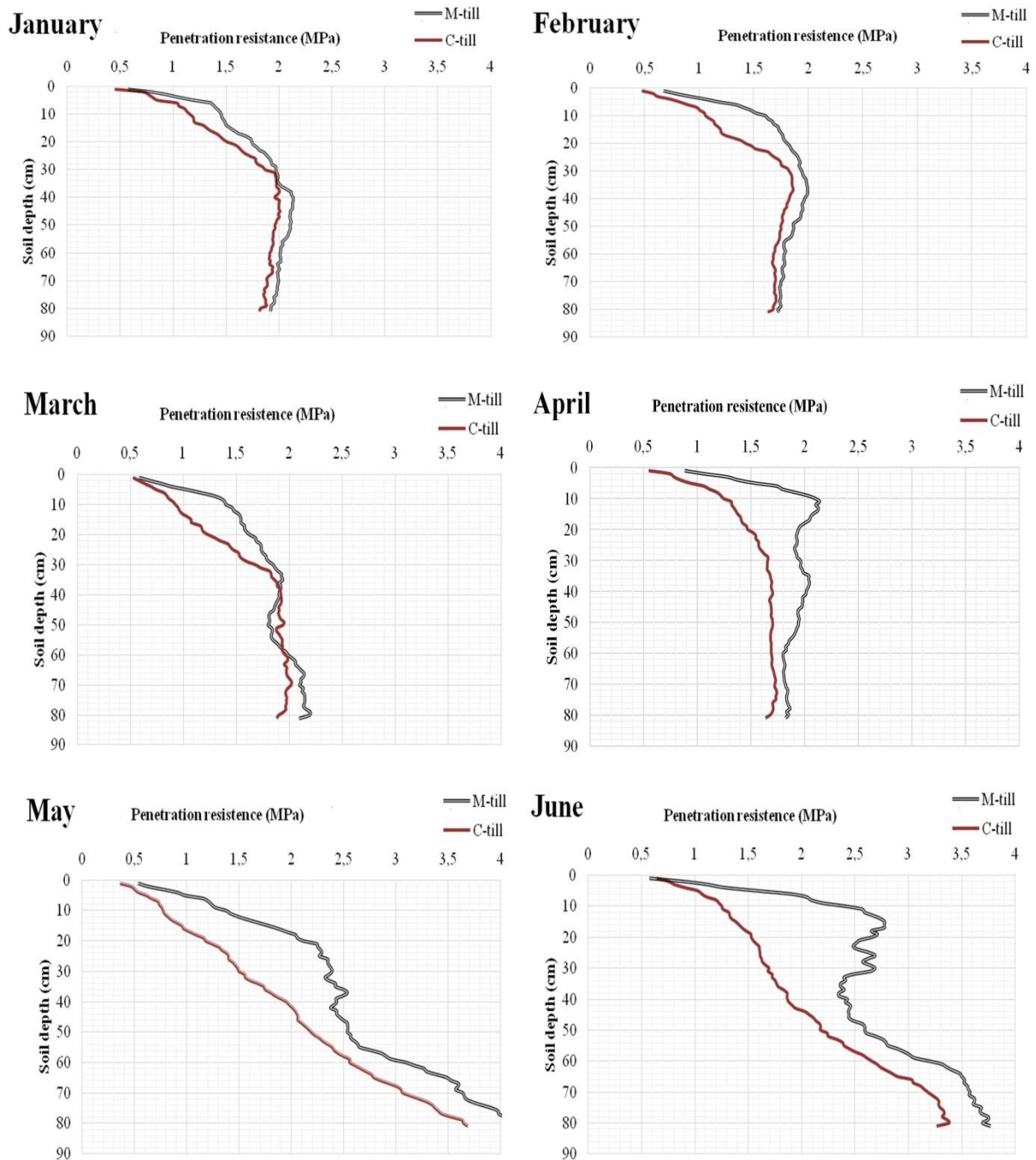


Figure 2. Soil penetration resistance from January to June at the depth of 0-80 cm (C-till, conventional tillage; M-till, minimum tillage).

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Anonymous, 2018. Turkish State Meteorological Service, Ankara, TURKEY.
 Atwell BJ, 1993. Response of roots to mechanical impedance. *Environmental and Experimental Botany*, 33(1): 27-40.

- Bradford JM, 1986. Penetrability. *Methods of Soil Analysis: Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, 5, 463-478.
- Calonego JC, Raphael JP, Rigon JP, de Oliveira Neto L, Rosolem CA, 2017. Soil compaction management and soybean yields with cover crops under no-till and occasional chiseling. *European Journal of Agronomy*, 85, 31-37.
- Campbell DJ, O'sullivan MF, 1991. The cone penetrometer in relation to trafficability, compaction, and tillage. in: *Soil Analysis: Physical Methods*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY. 399-429, 10 fig, 1 tab, 82 ref.
- Cavaliere KMV, da Silva AP, Tormena CA, Leão TP, Dexter AR, Hakansson I, 2009. Long-term effects of no-tillage on dynamic soil physical properties in a Rhodic Ferrasol in Parana, Brazil. *Soil and Tillage Research*, 103: 158–164. doi:10.1016/j.still.2008.10.014
- Conyers M, van der Rijt V, Oates A, Poile G, Kirkegaard, J, Kirkby C, 2019. The strategic use of minimum tillage within conservation agriculture in southern New South Wales, Australia. *Soil and Tillage Research*, 193: 17-26.
- de Moraes MT, Debiassi H, Carlesso R, Franchini JC, da Silva VR and da Luz FB, 2017. Age-hardening phenomena in an oxisol from the subtropical region of Brazil. *Soil and Tillage Research*, 170: 27-37.
- Dörner J, Horn R, 2009. Direction-dependent behaviour of hydraulic and mechanical properties in structured soils under conventional and conservation tillage. *Soil and Tillage Research*, 102: 225–232. doi:10.1016/j.still.2008.07.004
- Franzen H, Lal R, Ehlers W, 1994. Tillage and mulching effects on physical properties of a tropical Alfisol. *Soil Tillage Research*, 28: 329–346.
- Gebhardt MR, Daniel TC, Schweizer EE, Allmaras RR, 1985. Conservation tillage. *Science*, 230 (4726): 625-630.
- Girardello VC, Amado TJC, Santi AL, Cherubin MR, Kunz J, Teixeira TDG, 2014. Resistência à penetração, eficiência de escarificadores mecânicos e produtividade da soja em Latossolo argiloso manejado sob plantio direto de longa duração. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38 (4): 1234-1244.
- Han HS, Page-Dumroese D, Han SK, Tirocke J, 2006. Effects of slash, machine passes, and soil moisture on penetration resistance in a cut-to-length harvesting. *International journal of forest engineering*, 17 (2): 11-24.
- Horn R, Rostek J, 2000. Subsoil compaction processes-state of knowledge. *Adv. Geocol.*, 32: 4–54.
- Kemper WD, Rosenau RC, 1986. Aggregate stability and size distribution. *methods of soil analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods* (2nd ed.). *Agronomy*, 9: 425-442, 1188.
- Lampurlanés J, Cantero-Martínez C, 2003. Soil bulk density and penetration resistance under different tillage and crop management systems and their relationship with barley root growth. *Agronomy journal*, 95 (3): 526-536.
- Lopez MV, Arrúe JL, Sánchez-Girón V, 1996. A comparison between seasonal changes in soil water storage and penetration resistance under conventional and conservation tillage systems in Aragon. *Soil and Tillage research*, 37 (4): 251-271.
- Mairghany M, Yahya A, Adam N M, Su ASM, Aimrun W, Elsoragaby S, 2019. Rotary tillage effects on some selected physical properties of fine textured soil in wetland rice cultivation in Malaysia. *Soil and Tillage Research*, 194: 104318.

- Martínez I, Chervet A, Weisskopf P, Sturny WG, Rek J, Keller T, 2016. Two decades of no-till in the Oberacker long-term field experiment: Part II. Soil porosity and gas transport parameters. *Soil and Tillage Research*, 163: 130-140.
- Mclean EO, 1982. Soil pH and lime requirement. *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties* (2nd ed.). *Agronomy*, 9: 199-224.
- Medeiros JC, Da Silva AP, Cerri CEP, Giarola NFB, Figueiredo GC, Fracetto FJC, 2011. Linking physical quality and CO₂ emissions under long-term no-till and conventional-till in a subtropical soil in Brazil. *Plant and soil*, 338 (1): 5-15.
- Nunes MR, Denardin JE, Pauletto EA, Faganello A, Pinto LFS, 2015. Effect of soil chiseling on soil structure and root growth for a clayey soil under no-tillage. *Geoderma*, 259: 149-155.
- Reynolds SG, 1970. The gravimetric method of soil moisture determination Part IA study of equipment, and methodological problems. *Journal of Hydrology*, 11 (3): 258-273.
- Rhoades JD, 1983. Soluble salts. *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties*, 9: 167-179.
- Şimşek U, Shein EV, Mikailsoy F, Bolotov AG, Erdel E, 2019. Subsoil compaction: the intensity of manifestation in silty clayey calcic pantofluvic fluvisols of the Iğdır region (Eastern Turkey). ISSN 1064-2293, *Eurasian Soil Science*, 52 (3): 296–299. doi: 10.1134/S1064229319030104
- SSSA, 1996. *Glossary of soil science terms*. Soil Science Society of America, Madison
- Van Quang P, Jansson PE, 2012. Soil penetration resistance and its dependence on soil moisture and age of the raised-beds in the Mekong Delta, Vietnam.
- Villar JM, 1989. *Evapotranspiración y productividad del agua en cebada (Hordeum vulgare L.) y triticale (X Triticosecale Wittmart) en condiciones de secano en la Segarra (Lleida)*. UPC, ETSEAL, Lleida, Spain.
- Vizioli B, Cavalieri-Polizeli KMV, Tormena CA, Barth G, 2021. Effects of long-term tillage systems on soil physical quality and crop yield in a Brazilian Ferralsol. *Soil and Tillage Research*, 209: 104935.
- Walkley A, Black LA, 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37 (1): 29–38. doi: <https://doi.org/10.1097/00010694-193401000-00003>.
- Wulanningtyas HS, Gong Y, Li P, Sakagami N, Nishiwaki J, Komatsuzaki M, 2021. A cover crop and no-tillage system for enhancing soil health by increasing soil organic matter in soybean cultivation. *Soil and Tillage Research*, 205: 104749.

To Cite: Harmankaya A, Ozcan A, Yıldız Dalgınlı K, Erdag D, Aydın Dursun Y, Mert B, 2021. The Effect of Trolox on Oxidative Stress Index and Nitric Oxide Levels. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3262-3268.

The Effect of Trolox on Oxidative Stress Index and Nitric Oxide Levels

Ahmet HARMANKAYA^{1*}, Ayla OZCAN², Kezban YILDIZ DALGINLI³, Dincer ERDAG⁴ Yesim AYDIN DURSUN⁵, Büsra MERT¹

ABSTRACT: Free radicals, which are formed as a consequence of endogenic and exogenic factors in cells, that cause oxidative stress in living organisms can be neutralized through catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), A, E, C vitamins, glutathione, ubiquinone, and flavonoids. The aim of this study is to investigate the effect of trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), a type of vitamin E, on rabbits regarding the total oxidant and antioxidant capacity (TOC, TAC) levels together with the NO levels. In this study, 0.5 ml physiological saline and 1 µmol kg⁻¹ trolox were given respectively to control and experiment rabbits via intraperitoneal (i.p.) route, Plasmas of blood samples, which were obtained in the 1st, 3rd, and 6th hours following injection, were separated and stored at -20 °C until to be analyzed. Plasma TOC, TAC and NO levels were determined spectrophotometrically. When the TOC, TAC, NO levels and OSI values of rabbits that were given trolox were compared to those of the control group, statistically, it was observed that the NO levels were high (p< 0,01) in the 1st, 3rd, and 6th hours; however, there was no alteration in their TAC, TOC levels and OSI values. As a result, it was concluded that trolox given as a single dose to healthy rabbits did not affect TAC TOC levels and OSI value, but the increasing levels of NO might be due to trolox's increasing activity of eNOS.

Keywords: Trolox, antioxidant capacity, oxidant capacity, nitric oxide

¹Ahmet HARMANKAYA ([Orcid ID: 0000-0001-9923-6723](https://orcid.org/0000-0001-9923-6723)), Büsra MERT ([Orcid ID: 0000-0002-7940-0167](https://orcid.org/0000-0002-7940-0167)), Kafkas University, Faculty of Science and Letter, Department of Chemistry, Kars, Turkey

²Ayla ÖZCAN ([Orcid ID: 0000-0001-6442-8047](https://orcid.org/0000-0001-6442-8047)), Gazi University, Vocational College of Health Service, Department of Medical Services and Techniques, Ankara, Turkey

³Kezban YILDIZ DALGINLI ([Orcid ID: 0000-0002-1483-348X](https://orcid.org/0000-0002-1483-348X)), Kafkas University, Kars Vocational College, Department of Chemistry and Chemical Processing Technologies, Kars, Turkey

⁴Dincer ERDAG ([Orcid ID: 0000-0001-7137-4403](https://orcid.org/0000-0001-7137-4403)) Kafkas University, Atatürk Vocational College of Health Service, Department of Medical Services and Techniques, Kars, Turkey

⁵Yesim AYDIN DURSUN ([Orcid ID: 0000-0003-2052-8817](https://orcid.org/0000-0003-2052-8817)) Bingol University, Faculty of Science and Letter, Department of Chemistry, Bingol, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ahmet HARMANKAYA, e-mail: ahmetharmankaya@kafkas.edu.tr

Makale 25-27 Haziran 2013 tarihlerinde Kars'ta düzenlenen "6. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi"de poster olarak sunulmuştur.

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makale yer alan hayvan deneyi için "Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu"nun Tarih: 27.04.2012 Toplantı No 2012-04 ve Karar No:KAÜ-HADYEK/2012/86 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı alınmıştır.

INTRODUCTION

Free radicals which form endogenously as the products of normal metabolism in the cell or those generated exogenously by such factors as foods, ionizing radiation, and exposure to xenobiotics can cause oxidative stress in living organisms (Pham-Huy et al., 2008). Free radicals are inactivated by such enzymes as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and by non-enzymatic antioxidants such as vitamins A, E and C, glutathione, ubiquinone and flavonoids (Urso and Clarkson 2003). Free radicals can cause tissue damage when they form above the antioxidative capacity of the cell. There is a growing assertion that oxidative stress plays a crucial role in tissue damage concerned with assorted diseases such as cancer, rheumatoid arthritis, osteoporosis, polycystic ovary syndrome, Alzheimer's and Parkinson's (Phaniendra et al., 2015; Deveci et al., 2017a; Deveci and Karapehlivan 2018). NO inhibits superoxide (O_2^-), peroxynitrite ($ONOO^-$), lipoxygenase, copper and macrophage-dependent lipid and lipoprotein oxidation (Rubbo et al, 2000). When overproduced, it plays a role in ischemia-reperfusion injury, chronic inflammatory bone disease and neurodegenerative diseases (Ozcan and Ogun, 2015; Kükürt et al., 2021). As evidence of the link between diseases and oxidants has increased, an attempt has been made to gain insight into diseases by measuring biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense in biological samples (plasma, serum, urine, tissue, etc.). It has been reported that antioxidant capacity parameters decline, and oxidative stress parameters raise in many disease cases (Kusano and Ferrari, 2008; Deveci et al., 2017b; Kukurt et al., 2021). Serum (or plasma) concentrations of different oxidant and antioxidant species can be measured in laboratories separately, but the measurements are time-consuming, labor-intensive and costly and require complicated techniques. It has been noted that it is more appropriate to measure the total oxidant and antioxidant capacity rather than measuring the concentration of each oxidant and antioxidant separately in the sample, therefore the TAC and TOC measurement method developed by Erel is an easy, precise, reliable and cheap method (Erel, 2004; Erel, 2005)

The vast majority of the population are affected by free radical-induced oxidative stress, and the role of antioxidants in oxidative stress comes to the fore in maintaining health (Sochor et al., 2010). Water-soluble antioxidants have drawn the attention of researchers particularly due to the reactive oxygen species that form in the aqueous environment. For example, a peroxy radical which is not scavenged by a water-soluble antioxidant can initiate lipid peroxidation by diffusing into the lipid phase (Sagach et al., 2002). Trolox, which is a water-soluble vitamin E analogue, is a synthetic material. Having the hydrophilic carboxyl group instead of the hydrophobic phytyl group in vitamin E, trolox provides ease of operation in water-based environments as it is capable of penetrating the lipid membrane (Carlotti et al. 2004; Yushkova et al., 2018). *In vivo* and *in vitro* studies show that trolox protects against cardiac ischemia-reperfusion injury (Sagach et al., 2002), reduces oxidative stress (Salgo and Pryor, 1996; Utrera and Estevez, 2013; Bai et al., 2014) and inhibits cancer metastasis (Lee et al., 2014) as well as being used in TEAC-based (trolox equivalent antioxidant capacity) antioxidant measurement methods as standard (Miller et al, 1993) and as a protective agent in cosmetic products (Carlotti et al. 2004). During the literature searches, *in vitro* and *in vivo* studies with trolox revealed antioxidant activity against certain free radical species (Salgo and Pryor, 1996; Sagach et al., 2002; Utrera and Estevez, 2013; Bai et al., 2014), but no data on how a healthy individual made changes in TOC, TAC and NO levels were found. Therefore, this study aimed to investigate the effects of trolox on total oxidant and antioxidant capacity (TOC, TAC and nitric oxide (NO) levels in healthy rabbits.

MATERIALS AND METHODS

The study was confirmed by the Ethics Committee of the Animal Experiments of the Kafkas University (Decision no. KAU-CAE / 2012-86). The study was conducted on 18 New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with an average live weight of 3.41 ± 0.4 kg and 12 to 18 months of age. The rabbits were classified into two groups: Control group (n=9) and experimental group (n=9). The control group was conducted 0.5 ml kg^{-1} physiological saline while the treatment group was conducted $1 \mu\text{mol kg}^{-1}$ (Utrera and Estevez, 2013) trolox (Sigma-Aldrich, Germany, Product No: 238813-1MG) intraperitoneal (i.p.) Blood samples were taken from the rabbits on hours 1, 3 and 6 following the injection. Their plasma was separated and stored at $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ until analysis. TAC and TOC levels in the samples were determined by Rel Assay Diagnostics Assay (Gaziantep-Turkey, Catalog No. RL0017, RL0024) commercial kits while nitric oxide (NO) levels were measured using a spectrophotometer based on the method described by Miranda et al (2001) Oxidative stress index (OSI) is accepted as the percentage (%) of TAC and TOC values. First, TAC values were turned into $\mu\text{mol/L}$ and then OSI values were calculated concerning the following formula (Aycicek and Erel, 2007).

$$\text{OSI (ArbitraryUnit)} = \text{TOC } (\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Equiv. L}^{-1}) / \text{TAC } (\mu\text{molTroloxEquiv. L}^{-1}) \times 100 \quad (1)$$

Statistical Analysis

Statistical analysis of the data obtained from the study was performed using the SPSS.16 package program (SPSS, SPSS, 2008. SPSS for windows release 16.0.2. SPSS Inc., Chicago). Means between the times were determined by one-way analysis of variance (ANOVA) and differences between the times were determined by the Wilcoxon test. The results were presented as; mean (\pm) and standard error ($x \pm Sx$). $p < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS AND DISCUSSION

When the TOC, TAC, NO levels and OSI values of rabbits given trolox were compared to those of the control group, it was observed that the NO levels were significantly higher ($p < 0.01$), while there was no statistically significant change in TAC, TOC levels and OSI values (Table 1).

Table 1. Plasma TAC, TOC, NO and OSI values of trolox given rabbits

Parameters	Control Group	Experimental Group			P values
		Hour 1	Hour 3	Hour 6	
TAC (mmolTroloxEquiv. L ⁻¹)	0.59 \pm 0.02 ^a	0.48 \pm 0.05 ^a	0.56 \pm 0.06 ^a	0.48 \pm 0.06 ^a	ns
TOC ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{Equiv.L}^{-1}$)	11.21 \pm 1.77 ^a	5.87 \pm 1.04 ^a	6.84 \pm 0.76 ^a	5.15 \pm 0.32 ^a	ns
OSI (ArbitraryUnit)	1.80 \pm 0.18 ^a	1.30 \pm 0.22 ^a	1.30 \pm 0.14 ^a	1.14 \pm 0.12 ^a	ns
NO ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	16.97 \pm 1.73 ^a	27.82 \pm 2.54 ^b	31.12 \pm 3.41 ^b	33.93 \pm 3.69 ^b	*

*: Differences in the same line are statistically significant ($p < 0.01$), ns: Differences in the same line are statistically insignificant.

Vitamin E has the efficacy of recovering the detrimental effects of free radicals particularly on lipids (Azzi, 2007). However, being a fat-soluble vitamin, it cannot pass through the cell membrane easily which makes its efficiency limited (Kaur et al., 2010). Some studies have suggested that trolox may function better as an antioxidant than vitamin E (Huang et al., 1996; Kaur et al., 2010), due to its stoichiometric properties (Barclay and Vinqvist, 1994), such as the ability to reach intracellular hydrophilic compartments better and to retain two molecules of lipid peroxy radicals per molecule. Sagach et al. (2002) have claimed that trolox provides better protection against myocardial oxidative damage than vitamin E.

Various derivatives of trolox have been synthesized to enhance its antioxidant activity and it has been claimed that the antioxidant activity of these derivatives is higher than that of trolox (Farmanzadeh

and Najafi, 2016) and that they exhibit good activity *in vitro* against reactive oxygen and nitrogen species such as OH \cdot , ONOO \cdot , NO \cdot and ROO \cdot , and against lipid peroxidation (Balogh et al., 2005).

In this study, it was observed that 1 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ dose of trolox did not affect TAC, TOC levels and OSI value in healthy rabbits. Due to differences in measurement methods and study design, it is possible to obtain inconsistent results (Niki, 2010). Gallego-Villar et al. (2014) showed that trolox reduces the formation of reactive oxygen species in propionic acidemia patients-derived fibroblasts. Again, Milatovic et al. (2011) reported that trolox protects against manganese-induced oxidative stress in neuronal cell culture. In another *in vivo* study, it was observed that trolox reduced MDA levels and increased SOD and CAT activity in rats with diabetic neuropathy (Sharma and Sayyed, 2006). Contrary to these studies, Diaz et al. (2005) claimed that trolox contributes to the cytotoxic effect of arsenic by increasing oxidative stress. Also, Zheng et al. (2012) showed that trolox increased the cytotoxic effect of curcumin by creating reactive oxygen species.

Also, the TOC and TAC give a summary of the different oxidants and antioxidants. The fact that a living organism is composed of cells with almost completely different redox potential can also lead to different results from a substance whose effectiveness has been demonstrated *in vitro* (both in chemical measurement methods and in cell culture studies) (Collins, 2005).

The studies stated above generally address the effects of trolox on oxidative stress which is usually caused by a certain factor. However, no paper in the literature focuses on the effects of trolox *in vivo* on healthy individuals. This study shows that a 1 $\mu\text{mol/kg}$ dose of trolox does not affect TAC, TOC levels and OSI values of healthy rabbits. The results of this study are not compatible with the findings in the literature (Sagach et al., 2002; Balogh et al., 2005; Milatovic et al., 2011; Gallego-Villar et al., 2014). The fact that alterations were not observed in TAC and TOC levels may be due to experimental design.

NO is enzymatically generated via the action of NO synthase isoforms (NOS). The enzymatic activity of NOS depends on some cofactors. This enzyme is regulated by tetrahydrobiopterin (BH $_4$), flavin adenine dinucleotide (FAD), flavin adenine mononucleotide (FMN), and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) (Förstermann and Sessa, 2012). NO is used in favor of the organism for signal transduction, regulation of blood pressure and fighting disease-causing agents at low concentrations whereas it plays a role in neurodegenerative diseases and chronic inflammatory bone disease when produced at high concentrations (Ozcan and Ogun, 2015). Therefore, it is important to keep NO under control. It is reported that NO forms a feedback inhibition mechanism on stimulated NOS activity by various agents (TNF-alpha, IFN-gamma, lipopolysaccharide, etc.) and that this inhibition can be managed by antioxidants, including trolox (Galley et al., 1996).

In vitro and *in vivo* studies have stated that NO formation also depends on BH $_4$ which is one of the intracellular cofactors, that BH $_4$ deficiency may be related to vascular oxidative stress and that an increase in the intracellular antioxidant capacity can increase NO formation by protecting BH $_4$ from oxidation (Heller et al., 2001; d'Uscio et al., 2003). Even though the effect mechanism of trolox on NO formation is not fully clarified, Heller et al. (2004) claimed that trolox increased the amount of NO by protecting BH $_4$ from oxidation in their *in vitro* cell culture study.

In the current work, the fact that the NO levels of the experimental group (at the 1st, 3rd and 6th hours) were statistically higher than those in the control group is consistent with the studies (Galley et al., 1996, Heller et al., 2004) reporting that effect of trolox on NO levels, and it is thought that trolox probably shows its effect on NO via BH $_4$.

CONCLUSION

As a result, it was concluded that trolox given as a single dose to healthy rabbits did not affect TAC, TOC levels and OSI values, but the reason for the increase in NO levels may be that trolox increased eNOS activity by protecting BH₄ from oxidation.

Conflict of Interest

The article authors declare that there is no conflict of interest between them.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Aycicek A, Erel Ö, 2007. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. *Jornal de Pediatria*, 83(4):319-322.
- Azzi A, 2007. Molecular mechanism of α -tocopherol action. *Free Radical Biology & Medicine*, 43:16-21.
- Bai H, Liu R, Chen H-L, Zhang W, Wang X, Zhang X-D, Li W-L, Hai C-X, 2014. Enhanced antioxidant effect of caffeic acid phenethyl ester and Trolox in combination against radiation induced-oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*, 207:7-15.
- Balogh GT, Vukics K, Könczöl A, Kis-Varga A, Gere A, Fischera J, 2005. Nitron derivatives of trolox as neuroprotective agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15:3012-3015.
- Barclay LR, Vinqvist MR, 1994. Membrane peroxidation: inhibiting effects of water soluble antioxidants on phospholipids of different charge types *Free Radical Biology & Medicine*, 16:779-788.
- Carlotti ME, Sapino S, Vione D, Pelizzetti E, Trotta M, 2004. Photostability of trolox in water/ethanol, water, and oramix CG 110 in the absence and in the presence of TiO₂. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 25(2):193-207.
- Collins AR, 2005. Assays for oxidative stress and antioxidant status: applications to research into the biological effectiveness of polyphenols. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1):261-267.
- d'Uscio LV, Milstien S, Richardson D, Smith L, Katusic ZS 2003. Long-term vitamin C treatment increases vascular tetrahydrobiopterin levels and nitric oxide synthase activity. *Circulation Research*, 92:88-95.
- Deveci HA, Karapehlivan M, 2018. Chlorpyrifos-induced parkinsonian model in mice: Behavior, histopathology and biochemistry. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 144:36-41.
- Deveci HA, Nur G, Alpay M, Özmerdivenli R, 2017b. Levels of paraoxonase, high density lipoprotein and total sialic acid in polycystic over syndrome, *Journal of Cellular Neuroscience and Oxidative Stress*, 9(2): 630-636.
- Deveci HA, Nur G, Cicek H, Karapehlivan M, 2017a. Evaluation of oxidative stress factors in patients with osteoporosis. *Medicine Science*, 6(3): 479-482.
- Diaz Z, Colombo M, Mann KK, Su H, Smith KN, Bohle DS, Schipper HM, Miller WH Jr, 2005. Trolox selectively enhances arsenic-mediated oxidative stress and apoptosis in APL and other malignant cell lines. *Blood*, 105(3):1237-45.
- Erel Ö, 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37:277-285.
- Erel Ö, 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38:1103-1111.

- Farmanzadeh D, Najafi M, 2016. Novel Trolox derivatives as antioxidants: A DFT investigation. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 81(3):277-290.
- Förstermann U, Sessa WC, 2012. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7):829-837.
- Gallego-Villar L, Perez B, Ugarte M, Desviat LR, Richard E, 2014. Antioxidants successfully reduce ROS production in propionic acidemia fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 452:457-461.
- Galley HF, Walker BE, Howdle PD, Webster NR, 1996. Regulation of nitric oxide synthase activity in cultured human endothelial cells: Effect of Antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine*, 21(1):97-101.
- Heller R, Hecker M, Stahmann N, Thiele JJ, Werner-Felmayer E, Werner ER, 2004. Alfa-tocopherol amplifies phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase at serine 1177 and its short-chain derivate trolox stabilizes tetrahydrobiopterin. *Free Radical Biology & Medicine*, 37(5):620-631.
- Heller R, Unbehauen A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer E, Werner ER, 2001. L-Ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *The Journal of Biological Chemistry*, 276:40-47.
- Huang S-W, Hopia A, Schwarz K, Frankel EN, German JB, 1996. Antioxidant activity of α -tocopherol and trolox in different lipid substrates: bulk oils vs oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44:444-452.
- Kaur P, Evje L, Aschner M, Syversen T, 2010. The in vitro effects of Trolox on methylmercury-induced neurotoxicity. *Toxicology*, 276:73-78.
- Kusano C, Ferrari B, 2008. Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 7(1): 1-15.
- Kükürt A, Gelen V, Başer OF, Deveci HA, Karapehlivan M, 2021. Thiols: Role in oxidative stress-related disorders *IntechOpen*, 1-21.
- Lee J-H, Kim B, Jin WJ, Kim J-W, Kim H-H, Ha H, Lee ZH, 2014. Trolox inhibits osteolytic bone metastasis of breast cancer through both PGE2-dependent and independent mechanisms. *Biochemical pharmacology*, 91:51-60.
- Milatovic D, Gupta RC, Yu Y, Zaja-Milatovic S, Aschner M, 2011. Protective effects of antioxidants and anti-inflammatory agents against manganese-induced oxidative damage and neuronal injury. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 256:219-226.
- Miller NJ, Rice-Evans CA, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A, 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84:407-412.
- Miranda KM, Espey MG, Wink DA, 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5:62-71.
- Niki E, 2010. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, 49(4):503-515.
- Ozcan A, Ogun M, 2015. Biochemistry of reactive oxygen and nitrogen species, in *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*, ed. S. J. T. Gowder (London: IntechOpen) 37-58.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C, 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2):89-96.
- Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L, 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1):11-26.

- Rubbo H, Radi R, Anselmi D, Kirk M, Barnes S, Butler J, Eiserich JP, Freeman BA, 2000. Nitric oxide reaction with lipid peroxyl radicals spares α -tocopherol during lipid peroxidation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(15):10812-10818.
- Sagach VF, Scrosati M, Fielding J, Rossoni G, Galli C, Visioli F, 2002. The water-soluble vitamin E analogue trolox protects against ischaemia/reperfusion damage *in vitro* and *ex vivo*. A comparison with vitamin E. *Pharmacological Research*, 45(6):435-439.
- Salgo MG, Pryor WA, 1996. Trolox inhibits peroxynitrite-mediated oxidative stress and apoptosis in rat thymocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 333(2):482-488.
- Sharma SS, Sayyed SG, 2006. Effects of trolox on nerve dysfunction, thermal hyperalgesia and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 33:1022-1028.
- Sochor J, Ryvolova M, Krystofova O, Salas P, Hubalek J, Adam V, Trnkova L, Havel L, Beklova M, Zehnalek J, Provaznik I, Kizek R, 2010. Fully automated spectrometric protocols for determination of antioxidant activity: Advantages and disadvantages. *Molecules*, 15(12):8618-8640.
- Urso ML, Clarkson PM, 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189:41-54.
- Utrera M, Estevez M, 2013. Impact of trolox, quercetin, genistein and gallic acid on the oxidative damage to myofibrillar proteins: The carbonylation pathway. *Food Chemistry*, 141:4000-4009.
- Yushkova YV, Chernyak EI, Gatilov YV, Vasil'ev VG, Morozov SV, Grigor'ev IA, 2018. Synthesis, structure, antioxidant activity, and water solubility of trolox ion conjugates. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26:84-92.
- Zheng J, Payne K, Taggart JE, Jiang H, Lind SE, Ding WQ, 2012. Trolox enhances curcumin's cytotoxicity through induction of oxidative stress. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 29(3-4):353-360.

Atf İçin: Şeker İ, Kul S, Köseman A, Elçi E, 2021. Malatya İli Koyunculuk İşletmelerinde Yetiştiricilik Uygulamalarına Ait Özelliklerin Belirlenmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3269-3279.

To Cite: Şeker İ, Kul S, Köseman A, Elçi E, 2021. Determination of Features of Breeding Practices in Sheep Farms in Malatya Province. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3269-3279.

Malatya İli Koyunculuk İşletmelerinde Yetiştiricilik Uygulamalarına Ait Özelliklerin Belirlenmesi

İbrahim ŞEKER¹, Selim KUL¹, Abdurrahman KÖSEMAN^{2*}, Emre ELÇİ³

ÖZET: Bu araştırma, Malatya ilindeki koyunculuk işletmelerinde bazı yetiştiricilik uygulamalarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla 193 adet koyunculuk işletmesi araştırma kapsamında değerlendirilmiş ve sahipleriyle yüz yüze anket gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada, koyunculuk işletmelerinin yetiştiricilik uygulamalarına ait bazı kriterler bakımından olumlu özelliklere sahip oldukları bununla birlikte bazı tercihler açısından ise birtakım eksikliklerinin bulunduğu belirlenmiştir. Çalışmada, yetiştiricilerin %65.11'inin 100-299 baş koyun varlığına sahip oldukları, %79.58'inin sürülerini 6 ay ağıl ve 6 ay merada olacak şekilde yetiştirdikleri, %84.97'unun çobanlığı kendisinin yaptığı, %54.69'unun damızlık teminini kendi işletmesinden sağladığı, %57.59'unun ihtiyaç fazlası damızlık koyunları tüccarlara besi için sattıkları, %47.90'nun işletme kayıtlarını tuttukları, %98.92'sinin sağımı elle yaptıkları, %45.70'inin kuzuları 3 aylıkken süttten kestikleri, %96.77'sinin kuzularda doğal büyümeyi tercih ettikleri, %80.42'sinin koyunlarına kaba yem olarak saman ve %79.46'sinin kesif yem olarak arpa yedirdikleri, %90.86'sinin ek yemleme yapmadıkları fakat yeme tuz ve mineral ilavesi yaptıkları, %90.32'sinin serbest aşım metodunu tercih ettikleri, %80.75'inin koçları ilk kez 2 yaşındayken damızlıkta kullandıkları, %88.65'inin koçları sürüde kızgınlık süresince tuttukları ve %72.59'unun 2-3 yılda bir dışarıdan damızlık koç aldıkları saptanmıştır. Sonuç olarak, Malatya ili koyun varlığında son 6 yılda az da olsa bir azalma meydana geldiği, işletmelerde yetiştiricilik uygulamalarına dair yöntemler ve tercihlerde nitelik ve nicelik bakımından değiştirilmesi ve geliştirilmesi gereken bazı hususlar olduğu tespit edilmiştir. Problemlerin çözümüne yönelik alınacak yapısal önlemler ile gerçekleştirilecek sosyal, teknik ve ekonomik iyileştirmeler yanında yetiştiricilere yönelik eğitim faaliyetlerinin artırılmasının daha kârlı, etkin ve başarılı bir yetiştiricilik yapılmasına imkân sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Besleme, çiftlik, koyun, verim, yetiştiricilik.

Determination of Features of Breeding Practices in Sheep Farms in Malatya Province

ABSTRACT: This study was carried out to determine some breeding practices in sheep farms in Malatya province. For this purpose, 193 sheep farms were evaluated within the scope of the research and a face-to-face questionnaire was conducted with their owners. In the study, it was determined that sheep farming enterprises have positive characteristics in terms of some criteria of breeding practices, however, there are some deficiencies in terms of some preferences. In the study, 65.11% of the breeders had 100-299 sheep existence, 79.58% raised their herds for 6 months in farms and 6 months in the pasture, 84.97% of them shepherds their own herd, 54.69% provided breeding animals from their business, 57.59% sold surplus breeding sheep to traders for fattening, 47.90% kept business records, 98.92% milked the sheep by hand, 45.70% weaned lambs when they were 3 months old, 96.77% preferred natural breeding in lambs, % 80.42 of them feed their sheep as roughage with straw and 79.46% of them feed as concentrate feed with barley, 90.86% of them do not feed additional but add salt and minerals to the food, 90.32% of them prefer the free-insemination method, 80.75% first used rams for insemination when they were 2 years old, 88.65% kept the rams in the herd during estrus, and 72.59% bought an outside breeding ram every 2-3 years. As a result, it has been determined that there has been a slight decrease in the presence of sheep in Malatya province in the last 6 years, and there are some issues that need to be changed and improved in terms of quality and quantity in terms of breeding practices in enterprises. In addition to the structural measures to be taken to solve the problems and the social, technical and economic improvements to be realized, it is thought that increasing the training activities for the breeders will enable a more profitable, effective and successful breeding.

Keywords: Feeding, farm, sheep, yield, breeding

¹İbrahim ŞEKER ([Orcid Id: 0000-0002-3114-6411](https://orcid.org/0000-0002-3114-6411)), Selim KUL ([Orcid Id: 0000-0003-3032-8050](https://orcid.org/0000-0003-3032-8050)), Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Abdurrahman KÖSEMAN ([Orcid Id: 0000-0001-6491-9962](https://orcid.org/0000-0001-6491-9962)), Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Akçadağ Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Malatya, Türkiye

³Emre ELÇİ ([Orcid Id: 0000-0002-7934-4847](https://orcid.org/0000-0002-7934-4847)), Malatya İli Koyun ve Keçi Yetiştiricileri Birliği, Malatya, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Abdurrahman KÖSEMAN, e-mail: abdurrahman.koseman@ozal.edu.tr

ETİK KURUL ONAYI/ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makale kapsamındaki anket çalışmasının gerçekleştirilebilmesi için Malatya İl Tarım ve Orman Müdürlüğünden 05.03.2021 tarih ve E-73919507-604.01.01-707897 sayılı Proje Bazlı Etik İzin alınmıştır.

GİRİŞ

Dünyadaki ülkeler arasında çoğunluğu oluşturan sanayisi az gelişmiş ülkelerde insanların geçim kaynağı olarak çok daha öne çıkan bitkisel ve hayvansal üretim faaliyetleri günümüzde gelişmiş ülkelerin ekonomisinde de çok önemli bir yer tutmaya başlamıştır. Ülkelerin ekonomisinin ayrılmaz bir parçası olmuştur. Bu durum hayvancılık faaliyetlerinin endüstriyel bir nitelik kazanması ile gerçekleşmiş ve tarımın ve dolayısıyla hayvancılığın ülkeler açısından ulusal düzeyde geliştirilmesi gereken stratejik bir sektör olmasını sağlamıştır.

Gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünya ülkelerindeki koyun ve keçi yetiştiriciliğinde son yıllarda önemli gelişmeler gözlenmekte, hayvan sayılarında artışlar görülmektedir. FAO verilerine göre Dünyada 1961 yılında 994 milyon baş koyun varken, 2018 yılında ortalama %21.7'lik bir artışla 1.2 milyar baş koyun varlığına ulaşılmıştır (TİGEM, 2019).

Türkiye'de koyunculuk çiftçilik yapan insanların geçmişten bugüne kadar uğraştığı en önemli hayvancılık faaliyetlerinden birisidir. Koyun yetiştiriciliğinin et, süt, yapağı ve deri üretimi bakımından önemli bir yeri vardır. Özellikle Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgeleri'nde yaşayanlar için önemli bir geçim kaynağı olma özelliği taşımaktadır. Türkiye'de koyun eti tüketim alışkanlığı ve kuzu eti talebindeki sürekli artış koyunculüğün önemini açıkça ortaya koymaktadır. Ayrıca kurban bayramlarında her yıl yaklaşık 2 milyon baş kurbanlık koyun kesimi de koyunculüğün önemini daha da arttırmaktadır (TİGEM, 2019). Ancak, 1980 yılından sonra koyun sayısında önemli bir azalma görülmesine rağmen, 2010 yılından sonra tekrar önem kazanmıştır. Koyun sayısı bu süreçte yaklaşık %52 civarında artış göstermiştir. Ülkemizin 2019 yılı kırmızı et üretiminin %10.5'i, sütün ise %8.8'i koyun ve keçiden karşılanmıştır (TİGEM, 2019). Koyun ve keçi yetiştiriciliğindeki olumlu gelişmelerin olması yanında halen sektör Türkiye'nin koyun ve keçiye bağlı et ve süt talebini karşılamaktan uzaktır (Semerci ve Çelik, 2016).

Türkiye'nin 2013 yılı toplam koyun sayısı 29 milyon 284 bin baş, 2020 yılı sayısı 42 milyon 127 bin baştır. Malatya ilinin 2013 yılındaki koyun sayısı 236 bin 170 baş (%0.8), 2020 yılındaki ise 294 bin 518 baştır (%0.7) (Anon., 2014a; Anon., 2014b).

İstatistiki Bölge Birimleri Sınıflandırması TRB1 Alt Bölgesinin ve Doğu Anadolu Bölgesinin en sanayileşmiş illerinden olan Malatya, gerek gayrisafı yurtiçi hasıla (GSYİH) gerekse kişi başı gelir açısından ülke ortalamasının altında bulunmakta, aynı zamanda göç veren bir il konumundadır (Eren ve Gökten, 2018). Buna paralel olarak, Malatya'da koyunculuk sektörü ülkesel olarak elde edilen pozitif gelişmelere rağmen yıllar içerisinde yeterli ilerlemeyi sağlayamamıştır (Köseman ve Şeker, 2015).

Malatya'nın içinde bulunduğu DAP Bölgesi KB13 ve KB14 Küçükbaş Hayvancılık Havzası ise mevcut potansiyellerine rağmen hayvan varlığı bakımından arzu edilen düzeyde değildir. Bu nedenle bu havzalardaki küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin nitelik ve nicelik yönünden iyileştirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır (Anon., 2016)

Gerek ülke GSYİH'sine katkısı gerekse istihdam açısından tarımın önemi her geçen yıl azalsa da Türkiye açısından tarımsal üretim alanında kendine yeterlilik ve gıda güvencesi önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu sorunun çözümüne katkı sunması bakımından özellikle bölgelerin potansiyellerinin belirlenmesi ve değerlendirilmesi son derece önemlidir (Eren ve Gökten, 2018). Bu alanda yapılacak her bilimsel çalışma bu nedenle değer taşımaktadır. Tarafımızdan yapılan araştırmalarda ise Malatya ilindeki koyunculuk işletmelerinde yetiştiricilik uygulamalarına dair özelliklerin tespitine yönelik yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bağlamda mevcut araştırma, Malatya ilindeki koyunculuk işletmelerinin yetiştiricilik uygulamaları kapsamında sahip

oldukları yeterlilikleri ve özellikle hayvan besleme alanındaki tutum ve davranışlarını belirlemek, bu sayede saptanabilecek muhtemel sorunların giderilmesi ya da azaltılması için muhtemel katkı ve çözüm önerilerini sunabilmek amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Mevcut araştırma, Malatya İli Damızlık Koyun Keçi Yetiştiriciler Birliği'ne (Birlik) üye olup, Malatya ili ve ilçelerinde faaliyet sürdüren koyunculuk işletmelerindeki yetiştiricilerle gönüllülük esasına dayalı olarak yüz yüze yapılan anket uygulamalarıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmaya dâhil edilen işletmeler Basit Tesadüfi Örneklem Yöntemi ile belirlenmiştir. Proje Bazlı Etik İzin için Malatya İl Tarım ve Orman Müdürlüğüne müracaat edilmiş ve onay belgesi alınmıştır (05.03.2021 tarih ve E-73919507-604.01.01-707897 sayılı izin).

Çalışma kapsamında belirlenen işletme sahipleriyle ön görüşmeler yapılmış, bunlardan yüz yüze görüşmeyi kabul edenlerin işletmeleri ziyaret edilerek anket yapılmış ve elde edilen veriler kayıt altına alınmıştır. Bir kısım yetiştirici ile de farklı gerekçelerle geldikleri Birlik ziyaretleri sırasında anket gerçekleştirilmiştir. Bu anketlerden elde edilen veriler araştırmada materyal olarak kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan anket soruları daha önce yapılmış çalışmalardan (Bilginturan ve Ayhan, 2009; Altınçekiç, 2014; Ayvazoğlu Demir ve ark., 2015; Ceyhan ve ark., 2015; Tüfekçi, 2020) yararlanılarak tarafımızdan düzenlenmiştir.

Benzer anket çalışmalarında örnek büyüklüğünün tespitinde, popülasyonun en az %3'ü (Yamane, 2010) veya %10'unun (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2000; Cochran 2009) alınmasının yeterli olacağı bildirilmiştir. Bu araştırmada anket yapılacak örnek işletme sayısı %10 örneklem hatası ve %95 güvenilirlik sınırları içerisinde aşağıdaki formül kullanılarak yaklaşık 90 olarak hesaplanmıştır (Çiçek ve Erkan, 1996).

$$n = \frac{N \cdot t^2 \cdot p \cdot q}{d^2 \cdot (N-1) + t^2 \cdot p \cdot q}$$

n: örnek büyüklüğü

N: Populasyon büyüklüğü (1200)

t: %95 güven aralığında t cetvel değeri (1.96)

p: 0.5 (%50 görülme sıklığı)

q: 0.5 (%50 görülmememe sıklığı)

d: Örneklem hatası (0.10)

Yukarıdaki formüle göre hesaplanmış olan bu örnek büyüklüğü araştırma için hedeflenen en küçük örnek büyüklüğü olarak kabul edilmiştir. Bilindiği üzere, bilimsel araştırmalarda çalışılan örnek büyüklüğü arttıkça ilgili popülasyonun temsil edilebilme gücü de doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu nedenle araştırma sonuçlarını daha güvenli hale getirmek için Birliğin aktif üye sayısı olan 1200 işletmenin oluşturduğu evrenin %10'undan daha fazlasına ulaşılması kararlaştırılmıştır. Bu kapsamda toplam aktif üye sayısının %16'sına (193 işletme) ulaşılarak örneğe dâhil edilmiştir.

Araştırmada gerçekleştirilen anketlerdeki sorulara verilen cevaplar analiz edilmiş, cevapların sayısal ve % frekansları SPSS istatistik paket programı kullanılarak hesaplanmıştır (SPSS, 2015).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Koyunculuk işletmelerinde sürü yönetim uygulamaları

Mevcut çalışmada, Malatya koyunculuk işletmelerinin sürü yönetim uygulamalarına ait bulgular Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Malatya koyunculuk işletmelerinde bazı sürü yönetim uygulamaları

Anket soruları	Frekans	
	n	%
Sürünüz “Halk Elinde Islah Projesi” kapsamında mı?		
Evet	56	29.02
Hayır	137	70.98
Toplam	193	100
Sürünüzü yıl içinde nerede ve ne kadar süre bulunduruyorsunuz?		
Ağıl (12 ay)	23	12.04
Ağıl - Mera (6 ay / 6 ay)	152	79.58
Ağıl – Yayla (7 ay / 5 ay)	16	8.38
Toplam	191	100
İşletmenizdeki çoban sayısı kaçtır?		
Kendimiz çobanlı yapıyoruz	164	84.97
1 Kişi	21	10.88
2 Kişi	8	4.15
Toplam	193	100
Damızlık teminini nereden sağlıyorsunuz?		
Kendi işletmemizden	105	54.69
Komşu işletmelerden	54	28.13
Üretim çiftliklerinden	10	5.21
Çevre pazarlardan	23	11.97
Toplam	192	100
İhtiyaç fazlası damızlık koyunları ne yapıyorsunuz?		
Tüccara besi için satıyorum	110	57.59
Damızlık olarak satıyorum	37	19.37
Kendim besiyeye alıyorum	44	23.04
Toplam	191	100
İşletmenizde kayıt tutuluyor mu?		
Evet	92	47.90
Hayır	100	52.10
Toplam	192	100
Sağımclarımızın cinsiyeti nedir?		
Erkek	12	6.45
Kadın	85	45.70
Kadın-Erkek birlikte	89	47.85
Toplam	186	100
Süt sağım yönteminiz nedir?		
Elle sağım	184	98.92
Makine ile sağım	2	1.08
Toplam	186	100
Kuzuları kaç aylıkken süttten kesiyorsunuz (ay)?		
2	31	16.49
3	92	48.94
4	36	19.15
5	13	6.91
6	16	8.51
Toplam	188	100

Mevcut araştırmaya göre yetiştiricilerin büyük çoğunluğu (%79.58) sürülerini yıl içinde 6 ay ağıl ve 6 ay merada olacak şekilde yetiştirmektedir (Çizelge 1). Akçapınar’a (2020) göre koyunculuk temelde meraya dayalı bir hayvancılık faaliyeti olduğundan kârlı bir koyunculüğün yapılabilmesi için ilk şart yeterli ve kaliteli mera alanının varlığıdır. Kışın kar meraları kapamadıkça veya şiddetli yağmur ve fırtına olmadıkça koyunlar besin ihtiyaçlarını meradan temin ederler. Ağılda kapalı ortamda ancak kısa süreli kasaplık koyun besisi yapılmalıdır. Malatya’nın içinde yer aldığı Doğu Anadolu Bölgesi, hayvancılığa elverişli, kaliteli ve geniş meraların varlığıyla ön plana çıkmaktadır (Köseman ve Şeker, 2015). Malatya’nın sahip olduğu geniş mera ve uygun iklimin hayvancılık için önemli olduğu (Anon., 2014c) vurgulansa da, DAP Bölgesi Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık Yatırım Havzaları Master Planı Raporunda Malatya’nın içinde yer aldığı KB13 havzasının yarısından daha az bir kısmının orta derecede, KB14 havzasının ise yarısından daha fazla bir kısmının küçükbaş hayvancılığa orta derecede uygun olduğu tespit edilmiştir (Anon., 2016).

Türkiye’nin en önemli koyun yetiştiriciliği problemleri arasında çoban bulmada zorluk ve yüksek çoban ücretleri (Cengiz ve ark., 2015) yer almaktadır. Malatya’daki araştırmada yetiştiricilerin büyük çoğunluğu (%84.97) sürü yönetim işini yani çobanlığı kendisi sürdürmektedir (Çizelge 1). Niğde ili koyunculuk işletmelerinde de çoban genellikle (%63.5) aile içinden sağlanmaktadır. Bu

ildeki işletmelerin %33.3'ü yıl boyu çoban kiralarken, %3.1'i işlerin yoğun olduğu dönemde kiralık çoban çalıştırmaktadır (Ceyhan ve ark., 2015). Malatya'da işletmesinde çobanlığı kendi yapanların oranı Niğde'den daha yüksektir. Malatya ilindeki koyunculuk faaliyetlerinde çobanlık hizmetinin çok yüksek oranda bizzat işletme sahiplerinin kendileri tarafından gerçekleştiriliyor olması dikkat çekici bir durum olarak değerlendirilmiştir.

Malatya'daki araştırmada, yetiştiricilerin çoğunun damızlık teminini kendi işletmesinden (%54.69) ve komşu işletmelerden (%28.13) sağladıkları, az oranda da (%5.21) üretme çiftliklerinden damızlık temini yaptıkları tespit edilmiştir. Ayrıca yetiştiricilerin çoğu ihtiyaç fazlası damızlık koyunları ya tüccarlara besi için satmakta (%57.59) ya da kendileri besi hayvanı olarak kullanmaktadırlar (%23.04). Bazı yetiştiriciler ise bu hayvanları başka işletmelere damızlık olarak satmaktadırlar (%19.37) (Çizelge 1). Yozgat ilindeki işletme sahiplerinin damızlık sağlama şekli incelendiğinde ise %68'inin kendi işletmesinden ve %32'sinin ise kendi işletmelerine ek olarak komşu işletmelerden de damızlık hayvan temin ettikleri belirlenmiştir (Tüfekçi, 2020). Niğde ilinde ise yetiştiriciler damızlık koç temininde genellikle (%68.8) kendi işletmelerinin kaynaklarını tercih etmektedirler. Bu ilde, elde edilen kuzuların %58.3'ü sütten kesim sonrasında tüccara besi materyali olarak satılırken %15.6'sı kendi işletmesinde besiyeye alınmaktadır (Ceyhan ve ark., 2015). Burdur ilindeki yetiştiricilerinin ise %91.2'sinin damızlık hayvan ihtiyaçlarını kendi işletmelerinden karşıladıkları belirlenmiştir (Bilginturan ve Ayhan, 2009). Malatya ilindeki işletmelerin damızlık temini konusunda nispeten diğer illerdeki işletmelerle karşılaştırıldığında kendi kaynaklarından düşük düzeyde yararlandıkları, neredeyse işletmelerin yarısının damızlık için başka işletmelere bağımlı kaldıkları anlaşılmaktadır. Oysa işletmelerin başarılı ve kârlı bir yetiştiricilik için en azından her yetiştirme döneminde sürü büyüklüğünü korumak amacıyla gerekli olan % 25-30 düzeyinde sürü yenileme oranını kendi damızlık kaynaklarından sağlamaları beklenmektedir (Akçapınar, 2000).

Uzun süre kendi işletmelerinden damızlık temin edilen sürülerde kan yakınlığına bağlı problemler görülmektedir. Bu problemlerin oluşmaması için zaman zaman farklı sürülerden kan katmak gerekmektedir. Malatya'daki işletmelerde kendi işletmesinden erkek damızlık sağlayanların oranı Yozgat, Niğde ve Burdur'daki işletmelerde belirlenen değerlerden daha düşüktür (Tüfekçi, 2020; Ceyhan ve ark., 2015; Bilginturan ve Ayhan, 2009). Bu durum, Malatya'daki işletmelerin özellikle erkek damızlık temini noktasında dışarıya daha açık olduğunu, kan yakınlığının olumsuzlukları konusunda daha duyarlı davrandıklarını veya geçmişten bu güne kadar gelen bir alışkanlık olarak değerlendirilebilir. İhtiyaç fazlası damızlık koyunları kendi işletmesinde besiyeye alanların oranı da Niğde'deki işletmelerde daha düşük bildirilmiştir (Ceyhan ve ark., 2015). Yetişir ve Dağ (2021) damızlık temin etme problemleri arasında erken kuzu kesiminin önemli yer tuttuğunu bildirmektedir.

Mevcut araştırmaya göre yetiştiricilerin yaklaşık yarısının (%47.90) işletme kayıtlarını tuttukları ve araştırmada ele alınan işletmelerin bir kısmına (%29.02) ait sürülerin "Halk Elinde Islah Projesi" kapsamında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Gaziantep'te yapılan bir araştırmada yetiştiricilerin %40.7'sinin kayıt tuttuğu, tespit edilen kayıt tutma oranının yüksek bulunduğu, bunun nedeninin çalışmaya dâhil olan yetiştiricilerin kayıt tutma zorunluluğu bulunan ülkesel ıslah projesi kapsamında olmalarından kaynaklandığı bildirilmiştir (Gül ve Örnek, 2018). Bu araştırmada ise kayıt tutma oranı Gaziantep'ten daha yüksektir. Malatya'daki oranın yüksek bulunmasında daha düzenli kayıt tutmayı gerektiren Halk Elinde Islah Projesi kapsamındaki işletmelerin de araştırmada yer almasının rol oynadığı düşünülmektedir.

Yapılan araştırmaya göre Malatya'da çok yüksek oranda (%98.92) elle sağım yönteminin uygulandığı, işletmelerde en fazla kadın ve erkek birlikte (%47.85) sağım yapıldığı, kuzuların büyük oranda 3 aylıkken (%48.94) ve 4 aylıkken (%19.15) sütten kesildiği belirlenmiştir (Çizelge 1).

Niğde'deki işletmelerde sağımın %43.4 oranında kadın ve erkek tarafından birlikte yapılmaktadır (Ceyhan ve ark., 2015). Malatya'daki işletmelerde kadın ve erkek birlikte sağım yapanların oranı Niğde'dekinden daha yüksektir. Niğde'de erkeklerin Malatya'ya göre biraz daha fazla sağıma yardımcı olmalarının ve sağım görevini üstlenmelerinin bu farklılığa neden olduğu düşünülmektedir. Bursa ilinde ise sağım işlemi tüm işletmelerde aile üyeleri tarafından elle yapılmaktadır (Altınçekiç, 2014). Mevcut araştırmada sağımın elle yapılmasına ait tespit edilen yüksek oran Bursa'daki işletmelerle benzerlik göstermektedir.

Koyunculukta ileri bir yaşta (genellikle 3 aydan fazla) süttten kesimin uygulanması ve buna bağlı olarak sağıma geç bir tarihte başlanması sebebiyle sağım süresi kısalmakta ve pazarlanabilir süt verimi düşmektedir (Yetişir ve Dağ, 2021). Malatya'daki işletmelerde koyunların sağılmadığı süre Yozgat ve Niğde'deki işletmelerden daha kısadır.

Koyunculuk işletmelerinin hayvan varlığı ve kompozisyonu

Mevcut çalışmada, Malatya koyunculuk işletmelerinin hayvan varlığı ve kompozisyonuna ait bulgular Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Malatya koyunculuk işletmelerinin hayvan varlığı ve kompozisyonu

Anket soruları	n	Frekans
		%
İşletmenizdeki koyun sayısı kaç baş?		
100 baştan az	16	8.33
100 – 299 baş	125	65.11
300 - 499 baş	25	13.02
500 baş ve daha fazla	26	13.54
Toplam	192	100
İşletmenizdeki anaç koyun sayısı kaç baş?		
100 baştan daha az	49	27.53
100 – 299 baş	107	60.11
300 – 499 baş	16	8.96
500 baş ve daha fazla	6	3.4
Toplam	178	100
İşletmenizdeki koç sayısı kaç baş?		
6 baş ve daha az	116	65.17
7 – 15 baş	37	20.79
16 baş ve daha fazla	25	14.04
Toplam	178	100
İşletmenizdeki dişi kuzu sayısı kaç baş?		
50 baştan az	148	83.15
50 baş ve daha fazla	30	16.85
Toplam	178	100
İşletmenizdeki erkek kuzu sayısı kaç baş?		
50 baştan az	155	87.07
50 baş ve daha fazla	23	12.93
Toplam	178	100
İşletmenizdeki erkek toklu sayısı kaç baş?		
30 baştan az	145	81.46
30 baş ve daha fazla	33	18.54
Toplam	178	100
İşletmenizdeki dişi toklu sayısı kaç baş?		
60 baştan az	103	57.87
60 – 100 baş	48	26.97
100 baştan fazla	27	15.16
Toplam	178	100

Yapılan mevcut çalışmaya göre; işletmelerin büyük kısmı 100-299 baş koyun (%65.11) ve anaç koyun (%60.11) ile 6 ve daha az sayıda (%65.17) koç varlığına sahiptirler. Bünyesinde 50 baştan az dişi kuzu (%83.15) ve 50 baştan az erkek kuzu (%87.07) ile 60 baştan az dişi toklu (%57.87) ve 30 baştan az erkek toklu (%81.46) bulunan işletmeler de en yüksek orana sahiptirler (Çizelge 2). Ceyhan ve ark. (2015) tarafından yapılan araştırmaya göre Niğde ilindeki sürüler ortalama olarak 315 baş dişi ve 12.6 baş erkek büyüklüğüne sahiptirler. Ayvazoğlu Demir ve ark. (2015) tarafından Ardahan'da yapılan çalışmada ise işletmelerde ortalama 74 baş koyun bulundurulduğu saptanmıştır. Buna göre Malatya'daki sürü büyüklüklerinin Niğde ilindekilerden daha küçük, Ardahan ilindekilerden ise daha

büyük olduğu söylenebilir. Farklı araştırmalarda verilerin alındığı dönemdeki doğum zamanı, kuzuların kesimi ve satışı gibi durumlar ile araştırmanın yapıldığı illerin farklı iklim koşullarının, iller arasındaki sürü yapısı farklılıklarına neden olabileceği düşünülmektedir.

Koyunculuk işletmelerinde hayvan besleme uygulamaları

Mevcut çalışmada, Malatya koyunculuk işletmelerinin hayvan besleme uygulamalarına ait bulgular Çizelge 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Malatya koyunculuk işletmelerinde hayvan besleme uygulamaları

Anket soruları	Frekans	
	n	%
Kuzu büyütme yönteminiz nedir?		
Doğal büyütme	180	96.77
Erken sütte kesme	6	3.23
Toplam	186	100
Koyunuza en çok yedirdiğiniz kaba yem hangisidir?		
Saman	152	80.42
Kuru ot	36	18.05
Yonca	1	0.53
Toplam	189	100
Koyunuza en çok yedirdiğiniz kesif yem hangisidir?		
Arpa	147	79.46
Karma yem	38	20.54
Toplam	185	100
Yeme tuz ve mineral ilavesi yapıyor musunuz?		
Evet	169	90.86
Hayır	17	9.14
Toplam	186	100
Yemi nereden temin ediyorsunuz?		
İşletmenin kendi imkânlarından	85	45.70
Fabrikalardan	27	14.52
Çevre işletmelerden	74	39.78
Toplam	186	100
Koyunlara merada ek yemleme yapıyor musunuz?		
Evet	17	9.14
Hayır	169	90.86
Toplam	186	100

Yapılan bu araştırmaya göre Malatya'daki işletmelerin çok büyük bir kısmında kuzu büyütme yöntemi olarak doğal büyütme uygulanmaktadır (%96.77) (Çizelge 3). Burdur'daki yetiştiriciler de Malatya'dakine oldukça yakın ve çok yüksek bir oranda (%96.40) işletmelerindeki kuzulara doğal büyütme yöntemi uygulamaktadırlar (Bilginturan ve Ayhan, 2009). Türkiye'de diğer türlere kıyasla geleneksel yetiştiriciliğin daha fazla öne çıktığı koyunculukta kuzuların doğal olarak büyütülmesi yaygın bir uygulamadır. Ancak daha nitelikli bir koyunculuk faaliyeti için sürü özelliklerine göre oluşturulacak diğer kuzu büyütme yöntemlerinin de tercih edilmesi önerilmektedir.

Yapılan araştırmaya göre Malatya'daki işletmelerin büyük bir kısmında koyunlara kaba yem olarak en fazla saman (%80.42), kesif yem olarak ise arpa (%79.46) yedirilmektedir (Çizelge 3). Yozgat ilindeki küçükbaş hayvan işletmelerinde kesif yem olarak arpa (%33) ve buğday (%64) kullanılırken kaba yem olarak en fazla arpa-buğday-mercimek-nohut samanı ve fiğ kullanılmaktadır (Tüfekçi, 2020). Gaziantep'te yapılan bir çalışmada göre yetiştiriciler hayvanlarına kesif yem olarak en fazla arpa-buğday karması (%52), kaba yem olarak da genellikle saman (%41.3) yedirmektedirler (Gül ve Örnek, 2018). Hayvan yemi olarak kullanılan materyallerin illerin zırai ürün çeşitliliği ile direkt alakası bulunmaktadır. Bu nedenle Yozgat ve Gaziantep illerinde kullanılan kaba yemlerin o illerde üretilen ürünlerin bir çıktısı olduğu görülmektedir. Ancak insan gıdası olarak kullanılan buğdayın kesif yem olarak hayvanlara yedirilmesi uygun değerlendirilmemektedir. Buna bağlı olarak mevcut araştırmada Malatya ilinde kesif yem kaynağı olarak buğdayın tercih edilmemesi olumlu bir durumdur.

Yemin genel olarak kendi imkânlarından (%45.70) ve çevre işletmelerin imkânlarından (%39.78) sağlandığı belirlenen mevcut araştırmada, işletmelerin çok büyük kısmında koyunlara ek

yemleme yapılmamakta (%90.86), fakat yeme tuz ve mineral ilavesi yapılmaktadır (%90.86) (Çizelge 3). Yozgat ilinde küçükbaş hayvan yetiştiricilerinin %76.5'i kaba yemi kendi işletmelerinden karşılarken, %77.5'i kesif yemi kendi işletmesi ya da yem fabrikasından temin etmektedir. Yetiştiricilerin tamamı hayvanlarına yalama taşı olarak tuz ve mineral ilavesi yaptığını belirtmişlerdir (Tüfekçi, 2020). Niğde'deki koyunculuk işletmelerinin %75'i koç katım öncesinde çoğunlukla koçlara, %89.6'u gebe koyunlara ek yemleme yapmaktadırlar (Ceyhan ve ark., 2015). Ardahan ilinde yapılan araştırmada da koyunlara kış aylarında kaba yem verildiği, ek olarak konsantre yem verenlerin oranının %68.2 olduğu bildirilmiştir. Mera döneminde mera dışında ek besleme yapanların oranı ise %48.5 olarak tespit edilmiştir (Ayvazoğlu Demir ve ark., 2015). Kaba ve kesifi yemi kendi işletmelerinden sağlayanların oranı Malatya'da Yozgat'taki işletmelerden daha düşüktür. Ekonomik bir yetiştiricilik için yemin kendi işletme imkânlarından karşılanması son derece önemli olduğundan Malatya'daki mevcut durum olumlu bulunmamaktadır. İşletmelerde hayvanlara yapılan ek yemleme bakımından ise Malatya'daki işletmelerde çok büyük oranda olumsuz bir durum görülmektedir. Niğde ve Ardahan'daki işletmelerde ise ek yemleme yapılması olumlu ve istenen bir durum olarak değerlendirilmektedir.

Koyunculuk işletmelerinde hayvan yetiştirme-üretim uygulamaları

Mevcut çalışmada, Malatya koyunculuk işletmelerinin hayvan yetiştirme-üretim uygulamalarına ait bulgular Çizelge 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Malatya koyunculuk işletmelerinde hayvan yetiştirme uygulamaları

Anket soruları	Frekans	
	n	%
Koç katma şekliniz nedir?		
Serbest aşım	168	90.32
Sınıf usulü aşım	13	6.99
Elde aşım	5	2.69
Toplam	186	100
Koçun sürüde kalma süresi nedir?		
Kızgınlık süresince	164	88.65
Tüm yıl boyunca	21	11.45
Toplam	185	100
Dişi tokluları ilk ne zaman tohumlatıyorsunuz (ay)?		
12-17	16	8.74
18-23	78	42.62
24 ve üzeri	89	48.64
Toplam	183	100
Erkek tokluları ilk kez kaç yaşında damızlıkta kullanıyorsunuz (yıl)?		
2 yaş altı	24	12.83
2 yaş	151	80.75
3 yaş ve üzeri	12	6.42
Toplam	187	100
Koyunları kaç yaşına kadar sürüde tutuyorsunuz (yıl)?		
5-6	76	40.64
7-8	93	49.73
9 +	18	9.63
Toplam	187	100
Koçları kaç yaşına kadar sürüde tutuyorsunuz (yıl)?		
3-4	56	30.11
5-6	93	50.00
7	37	19.89
Toplam	186	100
İşletmenizde sürü dışından koç kullanıyor musunuz?		
Evet	139	74.33
Hayır	48	25.77
Toplam	187	100
İşletmenize dışarıdan ne kadar sıklıkla damızlık koç alıyorsunuz (yıl)?		
1	12	8.88
2-3	98	72.59
4-5	25	18.53
Toplam	135	100

Yapılan mevcut çalışmaya göre Malatya'daki işletmelerin çok büyük bir kısmında yetiştirmede serbest aşım tercih edilmekte (%90.32), koçlar sürüde en fazla kızgınlık süresince (%88.65), düşük

oranda ise yıl boyunca (%11.45) bırakılmaktadır (Çizelge 4). Burdur'daki koyunculuk işletmelerinin tamamına yakınında ise (%99.5) serbest aşım yapılmaktadır (Bilginturan ve Ayhan, 2009). Malatya ve Burdur'da serbest aşımın çok yüksek uygulanması benzerlik göstermektedir. Geleneksel yetiştiricilik kapsamındaki bu uygulamanın olumsuz yanları daha fazla olduğundan, daha nitelikli diğer aşım yöntemlerinin tercih edilmesi yetiştiricilere önerilmektedir. Yozgat'ta yapılan araştırmada koçların %61.5 oranında yalnızca aşım mevsiminde sürüde bırakıldığı bildirilmiştir (Tüfekçi, 2020). Kızgınlık dışındaki dönemde koçların dişilerle birlikte bulundurulması koçların koyunlara verebileceği zararlardan dolayı uygun değildir. Malatya'daki işletmelerde koçların kızgınlık süresince sürüde tutulmasına ait oran Yozgat'tan daha yüksektir. Bu durum olumlu olarak değerlendirilmektedir.

Mevcut araştırmaya göre, koyunlar en fazla 7-8 yaşa (%49.73), koçlar ise en fazla 5-6 yaşa (%50.00) kadar damızlıkta kullanılmaktadır. Ayrıca sürü dışından koçların da damızlık olarak kullanılmakta (%74.33) ve damızlık koçlar dışarıdan en fazla 2-3 yılda bir alınmaktadır (%72.59) (Çizelge 4). Tüfekçi (2020) tarafından Yozgat ilinde yapılan araştırmada koyunları damızlıkta kullanma süresinin dişilerde ortalama 4-6 yıl ve erkeklerde 2-3 yıl olduğu tespit edilmiştir. Ceyhan ve ark. (2015) tarafından Niğde ilinde yapılan araştırmada ise yetiştiricilerin dişileri ortalama 6 yıl ve erkekleri 4 yıl damızlıkta kullandıkları belirlenmiştir. Damızlık hayvanların işletmede kullanım süreleri de yetiştiricilikte önemli bir husustur. Zira damızlıkların performansları işletmelerin geleceğini dolayısıyla kârlılığını etkilemektedir. Bu nedenle damızlıkların sürüde ne kadar süreyle tutulacağı bilinmesi önem taşımaktadır. Koçların 5-6 yaşından, koyunların ise 7 yaşından sonra verimleri düştüğünden ve sağlık durumları daha riskli olduğundan damızlık olarak kullanılmaları uygun değildir. Genel olarak, etçi koyun ırklarında damızlık hayvanlar 5-6 yaşına kadar, sütçü koyun ırklarında ise 7-8 yaşına kadar damızlıkta kullanılabilirler (Akçapınar, 2000). Bu bilgiler doğrultusunda Malatya'daki işletmelerin çoğunda dişi ve erkek damızlıkların uygun sürelerde sürülerde tutuldukları söylenebilir. Niğde ve Yozgat'taki işletmelerde damızlıkların sürüde tutulma süreleri ise Malatya'daki işletmelerden daha kısadır.

İşletmelerin dışarıdan damızlık koç sağlaması gereken durumlarda öncelikle damızlık işletmelerinden veya iyi damızlıklara sahip kayıtlı ve güvenilir işletmelerden temin edilmelidir. Ancak asıl yapılması gereken işletmelerin dişi ve erkek damızlık ihtiyaçlarını kendi sürülerinden karşılamalarıdır. Bu nedenle Malatya'da sürü dışından 2-3 yılda bir yapılan damızlık teminine ait belirlenen oran yüksek olup işletmelerin bu konuda sürü yönetimine dair eksiklikleri olduğunu göstermektedir.

Yapılan mevcut araştırmaya göre Malatya'daki işletmelerde dişi toklular ilk kez en fazla 24 ve üzeri aylık yaşta (%48.64) tohumlatılmakta, erkek toklular ise ilk kez en fazla 2 yaşındayken (%80.75) damızlıkta kullanılmaktadır (Çizelge 4). Niğde ilindeki işletmelerde koyunları damızlıkta ilk kullanma yaşı dişilerde 17.8 ay iken erkeklerde 18.2 ay olarak tespit edilmiştir (Ceyhan ve ark., 2015). Sürüdeki damızlık adayı hayvanların normalden daha geç veya erken damızlığa alınması sürü yönetim problemlerine neden olduğu gibi ekonomik kayıplara da yol açmaktadır. Malatya'daki işletmelerde dişi tokluların damızlıkta ilk kullanılma yaşı Niğde'deki işletmelerden daha yüksektir. Bu durum Malatya'daki işletmelerde döl verimi kaybının daha fazla olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

Genel yetiştiricilik uygulamaları ve tercihleri kapsamında Malatya'daki koyunculuk işletmelerinin mevcut durumunun ele alındığı bu araştırmada, koyun varlığında oransal olarak son 6 yılda az da olsa bir azalma meydana geldiği, işletmelerde nitelik ve nicelik bakımından geliştirilmeye ihtiyaç duyulan bazı durum ve uygulamaların olduğu görülmektedir. Bu bakışla, Malatya ili özelinde

Ülkesel koyun yetiştiriciliğinin daha çok maddi ve manevi desteğe ihtiyacı olduğu düşünülmektedir. Araştırmada varlığı göz önüne konulan sorunların daha makro bir bakışla ele alınıp çözüm önerilerinin de bu şekilde sunulması tarafımızdan daha doğru bulunmaktadır. Bu kapsamda aşağıdaki öneriler sunulmuştur.

1. Mevcut yetiştiricilerin daha çok eğitilmesi ve daha kalifiye yeni yetiştiricilerin sektöre katılımının teşvik edilmesi,

2. Koyunculüğün en düşük maliyetle ve en ekonomik biçimde yapılmasının temeli olan mera alanlarından daha uzun sürede ve daha kalıcı bir şekilde yararlanılmasını sağlayacak ilave yapısal ve idari düzenlemelerin gerçekleştirilmesi, sürdürülen mera ıslah çalışmalarının etkinleştirilmesi,

3. Toplumsal düzeyde koyun eti ve sütünün tüketimini artıracak propaganda, yayın ve eğitim çalışmalarının yapılması, farkındalık yaratılması,

4. Yılın büyük kısmını ekstansif koşullarda faaliyetlerini sürdüren bu sektörün daha temiz ve hijyenik koşullarda üretim yapabilmesini sağlayacak imkânların sağlanması yanında yayla ve meralarda yol, su, elektrik, barınma sorununun çözümlenmesi,

5. Yılın büyük kısmında ekstansif koşullarda yaşamak zorunda olan yetiştiricilerin ve ailelerinin yayla ve meralardaki sosyal ve teknolojik ihtiyaçlarına yönelik alt yapının sağlanması,

6. Üretim ve pazarlamanın etkin, doğru ve kârlı biçimde yapılabilmesi için teşvik, sübvansiyon ve uygun kredi ile kooperatifleşmenin teşvik edilmesi,

7. Türkiye’de kırmızı et açığının kapatılmasında ve Avrupa Birliği ile rekabette kilit role sahip olan koyunculüğün büyük şirketlerce yığınsal olarak yapılmasının teşvik edilmesi,

8. Atıl olan ve etkin işletilemeyen koyunculuğa elverişli kamu arazilerinin, aile işletmelerinin yanı sıra özel sektöre uzun süreliğine ve uygun fiyatlarla kiralanması,

Sonuç olarak, yukarıda sunulan çözüm önerilerinin, sektörün ülke ihtiyaçlarını karşılayabilmesi ve güçlü bir yapıya sahip olabilmesi için ivedilikle pratiğe aktarılması önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Mevcut araştırmanın yapılması sürecinde teknik yardım ve desteğini esirgemeyen Malatya İli Koyun ve Keçi Yetiştiricileri Birliği Başkanı İhsan Akın’a, Hayvan Sağlığı Teknikeri Ayşegül Karakuş’a, Teknik Personel Bahriye Akar’a ve Teknik Personel Serap Aslan’a teşekkürlerimizi sunarız.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Akçapınar H, 2000. Koyun Yetiştiriciliği. İsmat Matbaacılık, Yenilenmiş 2. Baskı, ISBN: 975-96978-1-5. Ankara-Türkiye.

Altınçekiç ŞÖ, 2014. Bursa İli Koyunculuk İşletmelerinin Yapısal Özellikleri ve Refah Ölçütleri Açısından Değerlendirilmesi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).

Anonim 2014a. Malatya İli Tarımsal Yatırım Rehberi, TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Strateji Geliştirme Başkanlığı Tarımsal Yatırımcı Danışma Ofisi, Ankara.

Anonim 2014b. TÜİK, Hayvancılık istatistikleri, Ankara.

Anonim 2014c. Neden Malatya’ya Yatırım Yapmalı? Fırat Kalkınma Ajansı, Malatya.

- Anonim 2016. DAP Bölgesi Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık Yatırım Havzaları Master Planı Raporu. T.C. Kalkınma Bakanlığı DAP Bölge Kalkınma İdaresi Başkanlığı, Erzurum.
- Ayvazoğlu Demir P, Adıgüzel Işık S, Aydın E, Yazıcı K, Ayvazoğlu C, 2015. Ardahan ilinde koyun yetiştiriciliğinin sosyo-ekonomik önemi. Van Veterinary Journal, 26(3):141- 146.
- Bilginturan S, Ayhan V, 2009. Burdur İli Damızlık Koyun ve Keçi Yetiştiriciler Birliği üyesi koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve sorunları üzerine bir araştırma. Hayvansal Üretim, 50(1): 1-8.
- Cengiz F, Karaca S, Kor A, Ertuğrul M, Arık IZ, Gökdal Ö, 2015. Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliğinde Değişimler ve Yeni Arayışlar. Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi, 12-16 Ocak 2015, Ankara.
- Ceyhan A, Şekeroğlu A, Ünalın A, Çınar M, Serbester U, Akyol E, Yılmaz E, 2015. Niğde İli koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve sorunları üzerine bir araştırma. KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi, 18: 60-68.
- Cochran WG, 1997. Sampling Techniques. John Wiley & Sons, 3rd edition, NY.
- Çiçek A, Erkan O, 1996. Tarım Ekonomisinde Araştırma ve Örneklemeye Yöntemleri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Tokat
- Eren AA, Gökten K, 2018. Malatya ili tarım potansiyeli üzerine bir inceleme. Ticari Bilimler Fakültesi Dergisi, 2 (1): 58-80.
- Gül H, Örnek H, 2018. Gaziantep ilinde küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin yapısal özellikleri I. Koyun yetiştiriciliği. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(2):306-314.
- Köseman A, Şeker İ, 2015. Malatya ili sığır koyun ve keçi yetiştiriciliğinin mevcut durumu. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 29 (2): 137-143.
- Semerci A, Çelik AD, 2016. Türkiye’de küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin genel durumu. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(2):182-196.
- SPSS, 2015. SPSS 22.0. Statistical Package in Social Sciences for Windows, Chicago.
- Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V, 2000. Biyoistatistik. Hatipoğlu Yayınları, 9. Baskı, Ankara.
- TİGEM, 2019. Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü 2019 Yılı Hayvancılık Sektör Raporu.
- Tüfekçi H, 2020. Yozgat ili küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin yapısal durumu ve geliştirme olanaklarının belirlenmesi. Journal of Animal Production, 61 (1): 91-100.
- Yamane T, 2010. Temel Örneklemeye Yöntemleri. Literatür Yayıncılık, İstanbul.
- Yetişir R, Dağ B, 2021. Konya’da Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliği; Sorunları ve Çözüm Önerileri. http://profdriryetisir.gen.tr/TB_TBGT_Konyada_Kucukbas_Hay_Yetistiriciliginin_sorunlari.pdf (Erişim Tarihi: 20.05.2021).

Atf İçin: Yıldız S, Deniz S, 2021. Muş İli Damızlık Sığır/Manda Yetiştiricileri Birliklerine Üye İşletmelerin Yem Temini ve Hayvan Besleme Alışkanlıkları. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3280-3291.

To Cite: Yıldız S, Deniz S, 2021. Feedstuff Supplying and Animal Feeding Habits of Businesses That Are Members of the Associations of Cattle Breeders and Water Buffalo Breeders of Muş Province of Turkey. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3280-3291.

Muş İli Damızlık Sığır/Manda Yetiştiricileri Birliklerine Üye İşletmelerin Yem Temini ve Hayvan Besleme Alışkanlıkları

Serhat YILDIZ^{1*} Suphi DENİZ²

ÖZET: Bu çalışma, Muş İli Damızlık Sığır (DSYB) ve Manda (DMYB) Yetiştiricileri Birlikleri'ne üye yetiştiricilerin genel durumları, mevcut hayvansal üretim potansiyelleri ile hayvancılık için gerekli yem temini ve hayvan besleme alışkanlıklarının tespit edilerek, işletmelerin temel sorunlarını saptamak ve çözüm önerilerinde bulunmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi DAP (Doğu Anadolu Projesi) Çiftçi Eğitim Merkezi'nde eğitimlere katılan 250 kursiyerlerle yapılan anketler kullanılmıştır. Araştırma sonunda katılımcıların %85.15'inin 15-50 yaş arasında olduğu, lise ve dengi okul mezunu olanların oranı %21.00, üniversite mezunu olanların oranı ise, %10.00 olduğu belirlenmiştir. Kursiyerlerin %75.71'inin 5-100 da, %16.06'sının 100-250 da, %8.29'unun ise, 250 da ve üzeri tarım arazisi işledikleri tespit edilmiştir. İşletmelerde ortalama olarak 37.8 baş her yaştan sığır ve 9.33 baş mandanın olduğu; kaba ve kesif yemleri dışarıdan temin eden işletmelerin oranının sırasıyla %35.68 ve %52.50 olduğu; hayvanlarını merada otlatanların oranının %95.45; yonca yetiştirenlerin oranının %35.57 ve silaj kullanan işletmelerin oranının da %50.53 olduğu belirlenmiştir. Katılımcıların %61.73'ünün hayvanlara verilecek rasyonları, kendilerinin göz kararı ile hazırladıkları, %17.35'inin ise, rasyon hazırlamayı bilen birinden yardım aldıkları tespit edilmiştir. Yetiştiriciler içinde hayvanların ihtiyaç duydukları tuz ve vitamin-mineral takviyelerini yapanların oranı %87.63 olarak belirlenmiştir. Yetiştiricilerin çoğunluğunun, hayvanlarını günde iki defa yemledikleri (%64.97) ve ahır içinde sabit suluğa sahip işletmelerin oranının ise %29.80 olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Muş ilinde hayvancılık potansiyeli, yem temini, hayvan besleme alışkanlıkları

Feedstuff Supplying and Animal Feeding Habits of Businesses That Are Members of the Associations of Cattle Breeders and Water Buffalo Breeders of Muş Province of Turkey

ABSTRACT: This study explored fundamental problems of breeding businesses and proposed solutions upon identifying general circumstances, current animal production potentials, and feedstuff supplying & animal feeding habits of breeders that were members of the Associations of Cattle Breeders and Water Buffalo Breeders in Muş province, Turkey. Surveys conducted with 250 participants who had training in DAP (Eastern Anatolia Project) Farmer Training Center of Van Yuzuncu Yil University of Turkey were utilized in the study. Of all participants, 85.15% were aged 15-50, 21.00% were graduates of high schools or their equivalents, 10.00% were university graduates. Percentages of participants cultivating agricultural lands totaling 5-100, 100-250, and 250 decares or above were consecutively 75.71%, 16.06%, and 8.29%. On average, businesses had 37.8 head of cattle at all ages and 9.33 head of water buffalo. Percentages of businesses outsourcing coarse fodder and concentrate feed were successively 35.68% and 52.50% whilst percentages of businesses using pasture feeding, cultivating clover as feedstuff, and using silage were respectively 95.45%, 35.57%, and 50.53%. Of all participants, 61.73% used the rule of thumb to prepare feed rations to be given to animals, 17.35% received assistance from a person savvy about formulating feed rations, and 87.63% provided animals with salt and vitamin-mineral supplements. Most breeders fed their animals twice a day (64.97%) and the percentage of businesses with water drinkers fixed inside the barn was 29.80%.

Keywords: Livestock potential in Muş province, feedstuff supply, animal feeding habits,

¹ Serhat YILDIZ ([Orcid ID: 0000-0003-1063-4704](https://orcid.org/0000-0003-1063-4704)), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Gevaş Meslek Yüksekokulu Veterinerlik Bölümü, Van, Türkiye

² Suphi DENİZ ([Orcid ID: 0000-0002-6005-0056](https://orcid.org/0000-0002-6005-0056)), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Bölümü, Van, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Serhat YILDIZ, e-mail: syildiz@yyu.edu.tr

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makale, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Yayın Etik Kurulu'nun 15/10/2020 tarih ve 2020/07-01 sayılı kararı gereğince; uygulanmasında herhangi bir sakınca olmadığına karar verilmiştir.

GİRİŞ

Ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan Muş ilinde hayvancılık önemli bir yere sahiptir. İl genelinde 324 850 baş sığır ve 7 031 baş da manda bulunmaktadır. Büyükbaş hayvan sayısında Türkiye 15'incisi, manda yetiştiriciliğinde ise 6'ncı sırada yer almaktadır. Yem bitkisi ekilişi 61 612 ha arazide 1 515 000 ton yem bitkisi üretimi yapılarak, ihtiyaç duyulan kaba yemlerin %78'si karşılanmakta ve yonca üretiminde Türkiye'de 4. üncü sırada yer almaktadır. İl genelinde hayvan beslemede önemli bir değer oluşturan çayır ve meraların (3 716 350 da) fazla olması, Muş (165 000 ha.), Bulanık (52 250 ha.), Malazgirt (45 000 ha.) ve Liz Ovaları gibi geniş ovalara sahip olması, ilde birçok yem fabrikasının bulunması, sığırcılık faaliyetinin sürdürülebilirliği noktasında önemli bir etkidir. Ancak uzun ve sert geçen kış aylarından dolayı meradan faydalanma süresi kısalmakta ve yaklaşık yılın yarıdan fazlasında hayvanların ahırlarda barındırılması gerekmektedir (Bakır ve Kibar, 2019a; Anonim, 2021).

Muş ili, sosyo-ekonomik olarak ülkemizin geri kalmış illerinden birisidir. Ekonomideki geri kalmışlığın nedenleri arasında; tarımsal faaliyetlerde geleneksel yöntemlerin uygulanması ve yeterince tarımsal mekanizasyona yer verilmemesi, arazilerin parçalanmış olması, mera ve otlak alanlarının bilinçsizce kullanılması, hayvancılıkta teknolojiden yeterince faydalanılamaması ve yeterli organize olunamaması ile hayvan sağlığına önem verilmemesi, devlet teşviklerinin yeterince yapılmamış olması, sermayenin yetersiz oluşu, eğitim seviyesinin düşüklüğü ve kalifiye eleman yetersizliği, yeterli ve nitelikli yatırımcıya sahip olunamaması, iklim şartlarının çetin oluşu, terörle mücadele ve göç sorunları, ilde yetiştirilen doğal gıdalar için yeterli pazarlama stratejileri oluşturulamaması sayılabilmektedir (Arslan, 2018).

Muş ilinde hayvancılığın tarımsal faaliyet içinde özel bir önemi bulunmaktadır. Hayvancılık faaliyetlerinin, özde büyükbaş hayvancılığın ön plana çıkmasındaki en büyük pay, doğal çayır ve meraların bir hayli fazla olması, tarım arazilerinin kirletilmemiş olması, kırsal kesimde yaşayan kişi sayısının fazla olması gibi faktörlerdir. Bunun yanında, mevsimsel olaylardan olan uzun ve sert geçen kış ayları, tarımsal faaliyetleri ve hayvancılık faaliyetlerini sınırlamaktadır. Bundan dolayı hayvancılık faaliyetlerinin ekseriya ekstansif hayvancılık şeklinde yapılmasına neden olmaktadır. Ayrıca kış aylarının uzun geçmesi, hayvanların yılın büyük bir bölümünde kapalı ahırlarda kalmasına yol açmaktadır. Muş ilinde faaliyet gösteren hayvancılık işletmelerinde görülen diğer sorunlardan bazıları ise; desteklemelerin yetersiz oluşu, yem özellikle kaba yem temini sıkıntısı, hayvan yetiştiriciliği ve beslenmesi konularında yeterince bilgiye sahip olunmaması, kredi ve veterinerlik hizmetlerinin yetersiz ve pahalı olması şeklinde sıralanabilmektedir (Bakır ve Kibar, 2019a; Bakır ve Kibar, 2019b).

Ülkemizin genelinde olduğu gibi, Muş ilinde de nüfusun çoğunluğu (%60) kırsal kesimde yaşamaktadır. Bu oranın yüksek olması tarım ve hayvancılık açısından ili, avantajlı bir hale getirmektedir. Sınırlı miktarda kullanılabilir arazi kaynakları ve sınırlı üretim kaynaklarından en iyi şekilde yararlanmak suretiyle, kırsal kesim insanlarına daha iyi bir yaşam düzeyi ve yüksek hayat standartları sağlanmış olacaktır (Arslan, 2018; Anonim, 2021). Bundan dolayı, tarım ve hayvancılıkla uğraşan Muş İli DSYB ve/veya DMYB'ne üye yetiştiricilerin genel durumları ile mevcut hayvansal üretim kapasitelerini belirlemek, hayvancılık için gerekli olan yem temini ve hayvan besleme alışkanlıklarını belirlemek, üretimi azaltan temel sorunların tespit edilerek çözüm önerileri sunmak amacıyla, bu çalışma Van YYÜ DAP Çiftçi Eğitim Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Araştırma materyalini, tamamı Muş İli DSYB ve DMYB'ne üye olan ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi DAP Çiftçi Eğitim Merkezi'nde düzenlenen eğitimlere katılan, 250 kursiyer ile yüz yüze

yapılan anketlerden elde edilen veriler oluşturmuştur. Düzenlenen eğitim faaliyetlerine, Muş ili Merkez, Bulanık, Hasköy, Korkut, Malazgirt ve Varto ilçelerinden katılımlar gerçekleşmiştir. Eğitimlere katılan kursiyerlerin seçimi birlikler tarafından yapılmış ve katılımcılar beşer günlük süt sığırı yetiştiriciliği ve manda yetiştiriciliği eğitimleri almışlardır. Eğitimlere katılan tüm işletme sahipleri ankete dahil edilmiştir. Anket çalışması Kasım 2019 ile Mayıs 2020 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesi SAS (2014) paket programı ile yapılmış ve bazı bulgulara ki-kare (χ^2) testi uygulanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Eğitilmelere Katılan Çiftçilerin Bazı Özellikleri

Araştırmaya konu olan ve DAP Çiftçi Eğitim Merkezi'nde eğitim alan, Muş ili Damızlık Sığır/Manda Yetiştiricileri Birliği üyesi kursiyerlerin %85.15'inin 15-50 yaş arasında olduğu ve genç bir kitlenin büyükbaş hayvan eğitimi almış olmasının, tarım ve hayvancılığın geleceği açısından umut verici olduğu düşünülmektedir (Çizelge 1). Edirne ili Lalapaşa ilçesinde verilen süt sığırcılığı eğitimi ve bu eğitimi alan kişilerin durumlarının değerlendirildiği bir çalışmada (katılımcıların %95'inin 18-50 yaş aralığında olduğu bildirilmiştir (Şevik, 2017). Karaturhan ve ark. (2014), tarımsal kalkınmada yetiştirici birliklerinin önemini, Edirne DSYB örnek olayı ile ortaya koyma amacıyla yaptıkları çalışmada, ankete katılanlardan %75'inin 25-55 yaş arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Van ilinde yapılan bir başka çalışmada, çiftçilerin örgütlerden beklentileri ve örgütlenme düzeyi tespit edilmiş, ankete katılanlardan 22-50 yaş aralığında olanların oranının, %62.7 olduğu belirlenmiştir (Terin ve Ateş, 2010). Bakır ve Kibar (2019a)'ın yapmış olduğu bir çalışmada ise, Muş İlinde bulunan süt sığırcılığı işletmeleri sahiplerinin %71.9'unun 30-50 yaş aralığında olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 1. Eğitim alan yetiştiricilerin bazı özellikleri

YERLEŞİM YERİ	%	YAŞ	%
Bulanık	27.23	15- 20 yaşları arası	3.47
Hasköy	2.97	21-30 yaşları arası	29.70
Korkut	2.97	31-40 yaşları arası	26.24
Malazgirt	3.96	41-50 yaşları arası	25.74
Merkez	55.94	51-60 yaşları arası	12.38
Varto	6.93	61 yaş ve üzeri	2.48
ÖĞRENİM DURUMU	YAPILAN HAYVANCILIK İÇİN EĞİTİM ALINIP ALINMADIĞI		
Okur-yazar değil	3.00	Aldım	20.00
Okur-yazar	3.50	Almadım	80.00
İlkokul mezunu	38.00		
Ortaokul mezunu	24.50		
Lise mezunu	21.00		
Üniversite	10.00		

Ankete katılan, Muş ili Damızlık Sığır/Manda Yetiştiricileri Birliği üyesi kursiyerlerin eğitim düzeyleri incelendiğinde, %3.00'ünün okur-yazar olmadığı, %3.50'sinin okur-yazar, %38.00'inin ilkokul mezunu, %24.50'sinin ortaokul mezunu, %21.00'inin lise ve dengi okul mezunu, %10.00'unun üniversite mezunu olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Katılımcıların büyük çoğunluğunun (%80.00) şu anda yaptıkları hayvancılık faaliyetleri için başka bir yerden eğitim almadıkları görülmüştür. Yapılan bir çalışmada, anket kapsamında görüşme yapılan işletme sahiplerinin %8.0'inin okur yazar olmadığı, %38.4'ünün ilkokul ve %2.4'ünün de üniversite mezunu olduğu belirlenmiştir (Şeker ve ark. 2012). Yıldız ve ark. (2019a) tarafından yapılan bir çalışmada, çalışmaya dahil edilen okuma yazma bilmeyen kursiyerlerin oranı %9.77, okur-yazar olanlar %8.20, ilkokul mezunu %39.06, ortaokul mezunu %21.88, lise ve dengi okul mezunu %14.84 ve üniversite mezunu olanların oranı ise %5.86

olarak tespit edilmiştir. Yıldız ve ark. (2019b) tarafından yapılan başka bir araştırmada, okur-yazar olmayanların oranı %13.36, okur-yazar olanlar %19.43, ilkokul mezunu %22.27, ortaokul mezunu %19.03, lise ve dengi okul mezunu %10.93, üniversite mezunu olanlar ise %4.45 olarak bildirilmiştir. Bakır ve Kibar (2019a)'ın yapmış olduğu bir araştırmada, işletmecilerin eğitim seviyesi %9.1 okuryazar olmayan, %51.5 ilkokul, %24.6 ortaokul, %13.5 lise ve %1.5 üniversite mezunu şeklinde tespit edilmiştir.

Araştırma konusu olan Muş ili DSYB/DMYB üyesi kursiyerlerin yerleşim yerleri; Merkez %55.94, Bulanık %27.23, Hasköy %2.97, Korkut %2.97, Malazgirt %3.96 ve Varto %6.93 şeklinde gerçekleşmiştir (Çizelge 1). Bakır ve Kibar (2020), Muş İlinde bulunan besi işletmelerinin bazı yapısal özelliklerini inceledikleri bir araştırmada, araştırmaya katılanların yerleşim yeri dağılımları yaklaşık olarak, Merkez %16.48, Bulanık %24.73, Hasköy %3.85, Korkut %19.23, Malazgirt %20.33 ve Varto %15.33 şeklinde bildirilmiştir. Aynı araştırmacıların, Muş ilinde bulunan süt sığırcılığı işletmelerinin bazı yapısal özelliklerini belirledikleri başka bir araştırmada ankete katılanların yerleşim yeri dağılımları Merkez %15.65, Bulanık %31.59, Hasköy %6.09, Korkut %6.96, Malazgirt %23.77 ve Varto %15.94 şeklinde tespit edilmiştir (Bakır ve Kibar, 2019a).

İşletmelerin Genel Durumu

Ülkenin gelişmişlik düzeyi, hayvansal üretim ve tüketim artışlarına paralel olarak artmakta, hayvansal üretim miktarlarının artmasında önemli olan kaliteli ve ucuz yem bitkisi üretilebilmesi açısından tarım arazilerinin önemi büyüktür (Özkan, 2020). Bu önemi dikkate alındığında, Muş ili Damızlık Sığır/Manda Yetiştiricileri Birliği üyesi olan ve Van YYÜ DAP Çiftçi Eğitim Merkezi'nde eğitimlere alan yetiştiricilerin %75.71'i 5-100 da, %16.06'sı 100-250 da, %8.29'u ise, 250 da ve üzeri tarım arazisini işledikleri tespit edilmiştir (Çizelge 2). Ağrı ilindeki sığırcılık işletmelerinin sosyo-ekonomik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, incelenen işletmelerin sahip oldukları arazi büyüklüğü ortalama olarak 111.4 da olarak belirlenmiştir (Bakan ve Aydın, 2016). Turan (2019), Diyarbakır manda yetiştiriciliğinin mevcut durumu ve sorunlarını incelediği bir çalışmada, 112 işletmenin arazi varlığı ortalamasını 174.9 da olarak bulurken; Güzel ve Aybek (2017), işletmelerin arazi varlığını ortalama olarak 156 da olarak hesaplamıştır.

Gelir düzeyi, insanların yaşam kalitesini artıran faktörlerden biri olarak görülmektedir (Yıldız ve ark., 2019b). DAP Çiftçi Eğitim Merkezi'nde verilen eğitimlere katılan kursiyerlerin aylık gelirleri incelendiğinde, büyük çoğunluğunun gelirinin 3 000 TL'sinin altında (%86.11) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Türkiye'deki sürekli tarım işçilerinin ortalama aylık ücretleri, 2018 yılı tarımsal işletme işgücü ücret yapısı istatistiklerine göre, 2 117 TL (TÜİK, 2018) olarak bildirilmektedir. Yıldız ve ark (2019b)'ın yaptığı bir araştırmada, aylık gelirleri 3 000 TL'nin altında olan işletme sahiplerinin oranı %70,30 olarak tespit edilmiştir. Başka bir araştırmada, üreticilerin ortalama aylık gelirlerinin 1 155 TL olduğu ve bu miktarın yoksulluk sınırının altında olduğu belirlenmiştir (Karadavut ve ark., 2011).

Gün geçtikçe gelişen ve farklılaşan zirai alet ve makineleri bugün tarımsal faaliyetlerle uğraşanların vazgeçilmez bir yardımcısıdır. Günümüzde işlerin zamanında bitirilmesi, bitkisel üretim ve hayvancılık yapmayı kolaylaştırması, zirai alet ve makinelerin önemini artırmaktadır (Kabaş, 2021). Bu çalışmada, katılımcıların birçok zirai alet ve makinelere sahip olduğu, fakat en fazla sahip oldukları zirai makinenin traktör olduğu (%37.57) belirlenmiştir (Çizelge 2). Ancak, yem kırma makinası (%3.17), yem karıştırma makinası (%2.12), balya makinası (%3.17) ya da süt sağım makinasına (%4.76) sahip yetiştiricilerin oranının oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Ağrı ilindeki sığırcılık işletmelerinin sosyo-ekonomik özelliklerinin incelendiği bir araştırmada, işletmelerin %80.2'sinde en

çok bulunan ekipmanın traktör olduğu belirlenmiştir (Bakan ve Aydın, 2016). İşletmelerdeki traktör oranını, Güzel ve Aybek (2017), %76; Yıldız ve ark. (2019b) ise %68.15 olarak tespit etmişlerdir.

Tarımsal örgütlenme, birlikte karar alabilen ve sorumluluk bilinciyle hareket eden insanların, bir araya gelerek ortak bir sinerji geliştirdikleri bir organizasyon olarak ifade edilmekle birlikte, üreticilerin etkili bir biçimde örgütlenmesiyle de, tarımsal üretimin artırılması, kaliteli ürün elde edilmesi ve tarım ile uğraşanların yaşam düzeylerinin yükseltmesi sağlanmış olacaktır (Karaturhan ve ark., 2014; Taşan, 2019). Bu çalışmada ankete katılanlar, Muş ili Damızlık Sığır/Manda Yetiştiricileri Birliği üyesi kişilerden oluştuğu için, katılımcıların tamamı, tarımsal bir örgüte üyedir (Çizelge 2). Bakır ve Kibar (2020) yaptıkları bir çalışmada, Muş ilinde bulunan besi sığırcılığı ile uğraşan yetiştiricilerin %39.3'ünün birliğe ve %15.9'unun kooperatife üye olduklarını bildirmişlerdir. Ağrı ilinde yapılan bir diğer çalışmada, işletme sahiplerinin %96.2'sinin herhangi bir birlik veya kooperatife üye olmadıkları belirlenmiştir (Bakan ve Aydın, 2016). Turan (2019)'ın yaptığı bir çalışmada, yetiştiricilerin %72.8'inin tarımsal bir örgüte üye oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 2. İşletmelerin genel durumu

KULLANILAN TARIM ARAZİSİ MİKTARI (DA)	%	HAYVANCILIKTA KULLANILAN ZİRAİ ALET VE MAKİNALAR	%
5-20 dönüm	19.69	Traktör	37.57
20-50 dönüm	26.42	Yem karıştırma makinası	2.12
50- 100 dönüm	29.53	Yem kırma makinası	3.17
100-250 dönüm	16.06	Süt sağım makinası	4.76
250-500 dönüm	4.15	Balya makinası	3.17
500-1 000 dönüm	2.59	Diğer	28.04
1 000 dönüm ve üzeri	1.55	İki veya daha fazla parametre seçenler*	21.16
TARIMSAL ÖRGÜTLERE ÜYELİK		AYLIK GELİR (TL)	
Hiçbirine üye değilim	0	2 000 den az	62.22
Tarımsal kalkınma kooperatifine	0.50	2 001-3 000 arası	23.89
Sulama kooperatifine	0	3 001-4 000 arası	6.67
Tarım kredi kooperatifine	0.50	4 001-5 000 arası	4.44
DSYB'ne	42.79	5 001 ve üzeri	2.78
DMYB'ne	1.00	TARIMSAL DESTEK DURUMU	
İki parametre seçenler*	51.74	Evet	48.02
Üç parametre seçenler*	2.99	Hayır	51.98
Dört parametre seçenler*	0.50		
HAYVAN SAYILARI	EN AZ	EN ÇOK	ORTALAMA
İnek	1	200	13.85
Manda	1	30	9.33
Düve	1	45	5.76
Dana	1	45	7.37
Buzağı	1	240	8.53
Boğa	1	20	2.29

*Bu sorularda birden fazla parametre seçilmiştir

Tarımsal ürünler stratejik oldukları için, dünyanın birçok ülkesi tarım sektörlerine destek vermektedir. Tarım sektörünün gelişmesinde ve sürdürülebilirliğin sağlanmasında, örgütlenme ve desteklemeler önem arz etmektedir. Tarımsal desteklemeler, tarımsal gelirlerin artırılmasında; verimliliğin artırılması, kalitede iyileşme ve üretimde istikrar gibi nedenlerle önemli roller üstlenmektedir (Akın ve ark., 2018). İşletmelerin gelişip daha iyi faaliyet gösterebilmeleri açısından önem arz eden tarımsal desteklemeler, yapılan bu çalışmada değerlendirilmiş ve işletmelerin %48.02'inin tarımsal desteklerden faydalandıkları tespit edilmiştir (Çizelge 2). Ağrı ilinde yapılan bir çalışmada, işletmelerin tamamına yakınının herhangi bir tarımsal destekten faydalandığı belirlenmiştir (Bakan ve Aydın, 2016). Aksoy ve ark. (2014), birliğe üye olan işletmelerin herhangi bir tarımsal

destekten faydalanma oranını %46.6; Yıldız ve ark. (2019b) %41.82; Demir ve ark. (2015) ise, %87.9 olarak bildirmişlerdir.

Bu araştırma kapsamında incelenen, Muş ili Damızlık Sığır/Manda Yetiştiricileri Birliği üyesi işletmelerin, işletme başına ortalama olarak 37.8 baş her yaştan sığıra, 9.33 baş mandaya sahip oldukları belirlenmiştir (Çizelge 2). Bakır ve Kibar (2019a), Muş ilinde bulunan süt sığırcılığı işletmelerindeki hayvan sayısını ortalama olarak 56.6; Akkurt ve Köknaroğlu (2016), Isparta ilinde işletme başı hayvan sayısını 53; Bakan ve Aydın (2016) Ağrı ilinde bu sayıyı 19.9 baş olarak belirlemişlerdir. Turan (2019) ise, Diyarbakır ilinde ortalama manda sayısını, işletme başına 11.03 baş şeklinde bildirmektedir.

İşletmede Yem Temini

Önemli yem kaynaklarından olan yem bitkileri ve doğal çayır meralar, hayvanlara kaliteli, ucuz ve bol kaba yem sağlamada ön plana çıkmaktadır. Hayvan beslemede ucuz bir kaynak olan kaliteli kaba yemler, ruminantların rumen mikro florası için gerekli besinleri sağlayan, hayvanların üreme gücünü artırılmasında etkili olan, beslenmeye ilgili birçok metabolik hastalığı önlemeye yardımcı olan özellikleri nedeniyle üzerinde önemle durulmaktadır. Ayrıca, tarım arazilerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini ve kendisinden sonra ekilen bitkilerin verim ve kalitesine olumlu etkide bulunmaları açısından da önemlidirler (Soya ve ark. 2004). Bu çalışmada, eğitimlere katılan kursiyerlerin, hayvanların ihtiyacı olan kaba yemleri, kendi yetiştirenlerin oranının %22.11, dışarıdan temin edenlerin oranının %35.68 ve hem kendi yetiştiren hem satın alanların oranının ise %42.21 olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3). Yıldız ve ark. (2019b), işletmenin ihtiyacı kaba yemlerin, %46.55'inin kendileri tarafından üretildiğini, %21.55'inin dışarıdan satın alındığını, %18.97'inin ise, hem kendileri tarafından üretildiği, hem de işletme dışından satın alındığını saptamıştır. Karakuş ve Akkol (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, kaba yemlerin %12.26'sının işletmenin kendisinden, %17.22'sinin dışarıdan satın alındığı, %70.52'sinin ise, hem kendilerinin ürettiği, hem de işletme dışından satın alındığı bildirilmektedir. Boz (2013), işletmelerin kaba yem ihtiyacının temin edilme durumunu incelemiş ve işletmelerin %44.4'ünün kaba yemleri kendilerinin ürettiği ve %28.8'inin yem bayiiinden temin ettiklerini tespit etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, işletmelerin çoğunluğunun (%52.26) kaba yemleri kendi işletmesinde ürettiği tespit edilmiştir (Demir ve ark., 2013).

Çalışmaya katılan kursiyerlerin, 2-5 farklı kaba yemi karıştırarak (%59.01) hayvanlarına verdikleri belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, Van ilinde üreticilerin sığır besisi işletmelerinde en çok buğday ve arpa samanı (%87), yonca (%66), korunga (%35), çayır kuru otu (%45) ve mercimek samanı (%54) kullanıldığı bildirilmektedir (Budağ ve Keçeci, 2013). Yapılan bir çalışmada ele alınan işletmelerde kaba yem kaynağı olarak, %84.1'inin saman, %72.2'sinin kuru ot, %15.3'ünün kes ve %12.8'inin ise, yaş şeker pancar posası kullanıldığı tespit edilmiştir (Bakır ve Demirel, 2001). Yapılan başka bir çalışmada ise, işletmede kullanılan kaba yemlerin %75.41'inin saman, %45.08'inin yonca, %23.77'inin korunga ve %4.92'inin çayır otundan oluştuğu belirlenmiştir (Şahin ve Yılmaz, 2008a).

Kesif yemler, protein ve enerji bakımından zengin, gerek süt hayvanları, gerekse besi hayvanlarının beslenmesinde, kaba yemlerle birlikte kullanılan yemlerdir. Hayvanların dengeli ve sağlıklı beslenmelerinde, hayvansal ürünlerin kalitesinin yükseltilmesinde ve işletme karlılığının artırılmasında büyük önem taşımaktadır (Gülsün ve Miç, 2018). Yapılan bu çalışmaya katılan kursiyerlerin, hayvanların ihtiyacı olan kesif yemleri temin noktasında, kendi yetiştirenlerin oranının %11.50, dışarıdan temin edenlerin oranının %52.50 ve hem kendi yetiştiren hem satın alanların oranının ise %36.00 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). Yıldız ve ark. (2019b), ankete katılanların hayvan beslemede kullandıkları kesif yemlerin, %23.11'ini kendilerinin ürettiği, %43.56'ını dışarıdan

satın aldığı, %25.33'ünün de, hem kendilerinin ürettiği, hem de işletme dışından satın aldıkları bildirilmiştir. Karakuş ve Akkol (2013), kesif yemlerin %5.65'inin işletmede üretildiği, %15.86'nın dışarıdan satın alındığı, %78.49'unun ise, hem kendilerinin ürettiği, hem de işletme dışından satın aldıklarını belirlemişlerdir. Boz (2013), işletmelerin kesif yem ihtiyacının temin edilme durumunu incelemiş ve çoğunluğun kesif yemleri yem bayiinden (%54.4) ve yem fabrikasından (%20.6) temin ettiklerini tespit etmiştir. Bu çalışmaya katılan kursiyerlerin, hayvanları beslemek için kullandıkları kesif yemleri de 2-5 farklı kesif yemi (%50.55) karıştırarak verdikleri, bu oranın yüksek olmakla birlikte sadece arpa kırması (%27.27) ya da kepek (%15.66) kullanarak hayvanlarını besleyenlerin de olduğu belirlenmiştir. Esen (2017), Bingöl ilinde büyükbaş hayvancılık işletmelerinde mera döneminde sağmal ineklere kesif yem kullanan işletmelerin oranının %25.80 olduğu bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, çalışmada ele alınan işletmenin %71.5'i kesif yem kaynağı olarak kepek, %69.3'ü süt yemi, %5.6'sı arpa kırığı ve %2.2'si de besi yemi kullandığı tespit edilmiştir (Bakır ve Demirel, 2001).

Çizelge 3. İşletmede yem temini

KABA YEMLERİN TEMİNİ	%	İŞLETMEDE YETİŞTİRİLEN YEM BİTKİLERİ	%
Kendi yetiştiriyor	22.11	Yonca	35.57
Dışarıdan satın alıyor	35.68	Korunga	2.06
Hem kendi yetiştiriyor hem satın alıyor	42.21	Fiğ	1.03
KABA YEMLERİN TEMİNİ		Silajlık mısır	3.09
Kendi yetiştiriyor	11.50	Diğer	23.71
Dışarıdan satın alıyor	52.50	İki parametre seçenler*	28.87
Hem kendi yetiştiriyor hem satın alıyor	36.00	Üç parametre seçenler*	4.64
TUZ VE VİTAMİN-MİNERAL TAKVİYESİ YAPILMASI		Dört veya daha fazla şık seçenler*	1.04
Evet	87.63	HAYVANLAR MERAYA ÇIKIYOR MU?	
Hayır	12.37	Evet	95.45
SİLAJ YEMİ KULLANILIYOR MU?		Hayır	4.55
Evet	50.53		
Hayır	49.47		

* Bu sorularda birden fazla parametre seçilmiştir

Yapılan bu çalışmada, çalışmaya katılan işletmeler içinde sadece yonca yetiştiriciliği yapan işletmelerin oranı %35.57 iken, sadece silajlık mısır, korunga ve fiğ yetiştiren işletmelerin oranı ise sırasıyla %3.09, %2.06 ve %1.03 gibi düşük seviyede kalmıştır. İki ve daha fazla yem bitkisini beraber yetiştirenlerin oranı ise %58.25 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Yapılan bir çalışmada, süt sığırcılığı işletmelerinde, ortalama işlenen alan, işletme başına 14.55 da olmuş, bunun 5.0 da'ı buğday, 4.14 da'ı yonca, 3.12 da'ı arpa, 1.05 da'ı silajlık mısır ve 0.60 da'nın da korunga olduğu bildirilmiştir (Şahin ve Gürsoy, 2016). Şahin ve Yılmaz (2008a)'in yaptığı bir çalışmada, ele alınan işletmelerde yem bitkisi ekim alanlarının ortalama 29.38 da, bunun 20.67 da'ı yonca ve 8.71 da'nın ise korunga olduğu; aynı araştırmacıların yaptığı benzer bir çalışmada, ortalama yem bitkileri ekim alanı 26.87 da, bunun 20.14 da'ı yonca, 5.34 da'ı korunga ve 1.39 da'nın ise silajlık mısır olduğu belirlenmiştir (Şahin ve Yılmaz, 2008b). Yapılan bir çalışmada, Kars ili süt sığırcılığı işletmelerinde yem kullanımı ve hayvan besleme alışkanlıklarının ekonomik önemi üzerinde durulmuş, işletmelerin %88.7'sinde yem bitkisi üretildiği ve yem bitkileri içinde de en fazla korunga ve fiğ üretiminin yapıldığı bildirilmiştir (Demir ve ark., 2013).

Bu çalışmada ele alınan işletmelerdeki yetiştiriciler içinde hayvanların ihtiyacı olan tuz ve vitamin-mineral takviyesini %87.63'ünün yaptığı, %12.37'sinin ise yapmadıkları belirlenmiştir (Çizelge 3). Yıldız ve ark (2019b), ankete katılan yetiştiricilerin %86.94'ünün tuz ve vitamin-mineral katkısı yaptıkları, %13.06'sının ise yapmadıklarını bildirirken; Karakuş ve Akkol (2013), tuz ve vitamin-mineral takviyesini %57.95'inin yaptığı, %42.05'inin ise yapmadıkları bildirilmiştir.

Hayvanların meradan yararlanması, işletme giderlerinin azaltılması ve sağlıklı bir hayvan yetiştiriciliği için önem arz etmektedir (Kara ve Kızıloğlu, 2013). Yapılan bu çalışmada, işletme sahiplerinin çoğunluğunun hayvanlarını merada otlattıkları (%95.45) tespit edilmiştir (Çizelge 3). Yıldız ve ark. (2019b) tarafından yapılan bir araştırmada, ankete katılan yetiştiricilerin %90.87'sinin hayvanlarını meraya çıkarttıkları bildirilmiştir. Şahin ve Yılmaz (2008a), bu oranı %76.22 olarak bildirmişlerdir. Turan (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, ankete katılan yetiştiricilerin %36.7'si mandalarını tek bir sürü halinde merada otlatırken, %63.3'ü mandalarını sığırlarla bir arada merada otlattıklarını bildirmişlerdir. Esen (2017) hayvanların meraya çıkarılma oranını %97.93 olarak bildirirken; Demir ve ark. (2013) ise, işletmelerin %87.6'sının yılın farklı aylarında çayır-mera imkanlarından faydalandığını ifade etmiştir.

Kârlı hayvancılığın önemli bir faktörü olan silajın, bu çalışmada yer alan yetiştiricilerin %50.53 tarafından kullanıldığı belirlenmiştir (Çizelge 3). Aksoy ve ark. (2014)'nın yapmış olduğu ve Erzurum ili DSYB'ne üye olan ve olmayan üreticilerin belirli özellikler açısından karşılaştırıldığı bir çalışmada, birliğe üye olan ve silaj yemi yapanların oranı %11.3 iken, üye olmayanlarda bu oran %2.0 olarak tespit edilmiştir. Yapılan bir araştırmada, işletmelerin %88.3'ünün hayvanlarını beslerken silajdan faydalanmadıkları tespit edilmiştir (Demir ve ark., 2013). Yıldız ve ark. (2019b), ankete katılan yetiştiricilerin %18.40'ının silajı kullanırken; Şahin ve Keskin (2010), silaj kullanım oranını %25.20 olarak saptamışlardır.

İşletmede Hayvan Besleme Alışkanlıkları

Katılımcıların %30.81'i hayvanlarını sulamak için önlerine kendilerinin taşıdığı, %29.80'inin ise ahır içinde sabit sulukta hayvanlarını suladıkları belirlenmiştir (Çizelge 4). Turan (2019), ankete katılan yetiştiricilerin %10.2'sinin mandalarını yaz döneminde çeşmede, %34.7'si çeşme+nehirde ve %32.7'sinin çeşme+nehir+kuyu suyu ile suladıklarını ifade etmiştir. Yapılan bir çalışmada, işletmelerdeki bazı özellikler ele alındığında, %34.3'ü taşıma ile, %34.3'ü yemliklere su doldurarak, %22.4'ü otomatik suluklarla, %4.6'sı köy çeşmesinde ve % 4.3'ünün ise yalalarda hayvanlarını suladıkları belirlenmiştir (Aydın ve ark., 2016).

Bu çalışmada, yetiştiricilerin çoğunluğu, hayvanlarını günde iki defa yemlediklerini (%64.97), yemleme işlemini çuval kullanarak (%64.80) yaptıklarını ve yoğun yem ile kaba yemler için ayrı yemliklerinin bulunmadığını (%62.03) belirtmişlerdir (Çizelge 4). Yapılan bir çalışmada, işletme sahiplerinin işgücü değerlendirmesine göre hayvanlarını günde iki defa yemledikleri belirlenmiştir (Güzel ve Aybek, 2017). Bakır (2002), betonarme, ahşap veya sac malzemeden yapılan yemliklerin ahırların tamamında duvara bitişik olduğu, yem yolunun ise bulunmadığı, yemlemenin hayvanların aralarına girilerek zor ve tehlikeli şartlarda yapıldığı bildirilmektedir. Turan (2019), ankete katılan yetiştiricilerin %73.5'inin işletmelerinde betondan oluşan yemlikleri kullandıklarını belirtirken, %12.9'unun metal yemlikleri, %8.8'inin plastik yemlikler ve %4.8'inin ise tahtadan oluşan yemlikleri tercih ettiklerini ifade etmiştir.

Bu araştırmada yer alan kursiyerlerin çoğunluğunun hayvanlara verilecek rasyonları, kendileri göz kararı (%61.73) ile hazırladıklarını; rasyon hazırlamayı bilen birinden yardım alanların oranı ise %17.35 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4). Yapılan bir çalışmada, hayvanlara verilen kaba ve kesif

yemlerin hayvanların ihtiyaçlarını tam olarak karşılama bilinciyle değil, bu yemlerin işletmede var olduğu için kullanıldığı, rasyonlarda silajın kullanılmadığı, hayvanların yaşama ve verim durumları dikkate alınmadan beslendiği bildirilmiştir (Bakır ve Demirel, 2001). Yapılan başka bir çalışmada, üreticilerin önemli bir kısmının hayvanları kendi bilgi ve tecrübeleri doğrultusunda besledikleri belirlenmiştir (Demir ve ark., 2013).

Çizelge 4. Hayvan besleme alışkanlıkları

HAYVAN BESLEMEDE KULLANILAN KABA YEMLER	%	HAYVAN BESLEMEDE KULLANILAN KESİF YEMLER	%
Buğday-arpa samanı	11.88	Buzağı yemi	2.02
Yonca	14.85	Süt yemi	3.54
Korunga	2.97	Arpa kırması	27.27
Çayır otu	8.42	Kepek	15.66
Silaj	1.49	Pamuk tohumu küspesi	3.54
Şeker pancarı posası	1.49	İki parametre seçenler*	22.74
İki parametre seçenler*	23.79	Üç parametre seçenler*	16.17
Üç parametre seçenler*	18.84	Dört parametre seçenler*	8.10
Dört parametre seçenler*	9.92	Beş veya daha fazla parametre seçenler*	3.54
Beş veya daha fazla şık seçenler*	6.46	RASYON HAZIRLANIRKEN İZLENİLEN YOL	
HAYVANLARI SULANMA ŞEKLİ		Rasyon hazırlamayı bilen birinden yardım alıyorum	17.35
Derede	13.13	Komşular ya da arkadaşlarım nasıl hazırlıyorsa ben de öyle hazırlıyorum	11.22
Köy ortak çeşmesinde	9.60	Kendim göz kararı dengeli hazırlıyorum	61.73
Önlerine ben taşıyorum	30.81	Rastgele ve düzensizce hazırlıyorum	5.61
Ahır içinde sabit sulukta	29.80	İki veya daha fazla şık seçenler*	4.09
Otomatik sulukta	5.55	GÜNLÜK YEMLEME SAYISI	
İki veya daha fazla şık seçenler*	11.11	Günde bir defa	5.08
YEMLEME ŞEKLİ		İki defa	64.97
Yem karma makinasıyla	5.61	Üç defa	25.89
El arabasıyla	10.71	Üçten fazla	4.06
Çuvalla	64.80	YEMLİKLERİN DURUMU	
Kovayla	18.88	Yoğun ve kaba yemler için ayrı yemlik var	37.97
		Yoğun ve kaba yemler için ayrı yemlik yok	62.03

* Bu sorularda birden fazla parametre seçilmiştir

Hayvan Besleme Alışkanlıkları ile Önemli Bazı Parametreler Arasındaki İlişki

Muş ili DSYB/DMYB üyesi olan ve Van YYÜ DAP Çiftçi Eğitim Merkezi'nde eğitimler katılan kursiyerlerin hayvan besleme alışkanlıkları ile yaş, öğrenim durumu, hayvancılık eğitimi alma durumu, işlenen tarım arazisi miktarı ve herhangi bir tarımsal organizasyona üyelikleri değişkenleri arasında Khi kare testi uygulanmıştır (Çizelge 5). Çizelge incelendiğinde, katılımcıların öğrenim durumu ile hayvan beslemede kullanılan kaba yemler ($P<0.05$) ve hayvanların yemlenme şekli arasında ($P<0.01$); hayvancılık eğitimi alma durumu ile hayvan beslemede kullanılan kesif yemler ($P<0.05$), hayvanların yemlenme şekli ($P<0.001$), rasyonlar hazırlanırken izlenen yol ($P<0.05$) ve hayvan yemliklerinin durumu ($P<0.01$) değişkenleri arasında; işlenen tarım arazisi miktarı ile hayvan beslemede kullanılan kaba yemler ($P<0.05$), hayvanların yemlenme şekli ($P<0.001$) ve rasyonlar hazırlanırken izlenen yol ($P<0.001$) değişkenleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya katılan bireylerin yaşları ve tarımsal organizasyona üyelik parametreleri ile hayvan besleme alışkanlıkları değişkenleri arasında herhangi anlamlı bir ilişki olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 5: İşletmelerin hayvan besleme alışkanlıkları ile bazı parametreler arasındaki ilişki

	Yaş		Öğrenim Durumu		Hayvancılık eğitimi alma		İşlenen tarım arazisi		Tarımsal organizasyonlara üyelik	
	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
Hayvan beslemede kullanılan kaba yemler	53.2258	0.3511	67.7843	0.0477	15.8106	0.1052	80.6081	0.0392	63.7557	0.3459
Hayvan beslemede kullanılan kesif yemler	45.0109	0.6734	46.0937	0.6309	20.6013	0.0241	66.1072	0.2742	48.0427	0.8669
Hayvanların günlük yemleme sayısı	24.5343	0.0566	18.8407	0.2210	2.0192	0.5684	11.0901	0.8905	27.3943	0.0719
Hayvanların yemlenme şekli	16.1253	0.3738	37.5115	0.0011	42.4437	0.0001	45.8107	0.0003	15.3483	0.4266
Rasyonlar hazırlanırken izlenen yol	28.1941	0.2990	33.6543	0.1155	12.4362	0.0293	105.6595	0.0001	18.9745	0.9405
Hayvanların sulanma şekli	26.3967	0.3867	16.6506	0.8941	4.7288	0.4499	32.0655	0.3645	24.4031	0.7535
Hayvan yemliklerinin durumu	4.6450	0.4607	4.0024	0.5491	9.0141	0.0027	3.9596	0.6821	2.6214	0.7581

Yem Temini ile Önemli Bazı Parametreler Arasındaki İlişki

Çalışmada, hayvanların ihtiyacı olan yem temini ile katılımcıların yaş, öğrenim durumu, hayvancılık eğitimi alma durumu, işlenen tarım arazisi miktarı ve tarımsal bir organizasyona üyelik değişkenleri arasında Khi kare testi uygulanmıştır (Çizelge 6). Çizelge incelendiğinde, ankete katılan bireylerin öğrenim durumu ve tarımsal bir organizasyona üyelikleri ile yem temini değişkenleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir. Katılımcıların yaşları ile kesif yem temin edilme durumu ($P<0.01$), hayvancılık eğitimi alma durumu ile hayvanların silaj yemleriyle besleme durumu ($P<0.001$) ve işletmede yem bitkileri yetiştirilme ($P<0.05$) değişkenleri arasında; işlenen tarım arazisi miktarı ile kaba yem temin edilme durumu ($P<0.05$), hayvanların silaj yemleriyle besleme durumu ($P<0.05$) ve işletmede yem bitkileri yetiştirme ($P<0.001$) değişkenleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 6: İşletmelerin yem temini ile bazı parametreler arasındaki ilişki

	Yaş		Öğrenim Durumu		Hayvancılık eğitimi alma		İşlenen tarım arazisi		Tarımsal organizasyonlara üyelik	
	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
Kaba yem temin edilme durumu	12.8814	0.2304	5.9339	0.8208	0.0986	0.9519	22.7300	0.0301	14.4122	0.2752
Kesif yem temin edilme durumu	25.7487	0.0014	14.4945	0.1516	2.1403	0.3430	18.7277	0.0951	20.1111	0.0650
Hayvanların meraya çıkarılma durumu	5.0375	0.4113	8.3158	0.1397	1.1738	0.2786	8.2550	0.2200	2.4230	0.8770
Hayvanların silaj yemleri ile besleme durumu	3.1225	0.6811	6.7321	0.2413	15.4979	0.0001	16.2300	0.0126	3.9833	0.6789
Tuz ve vitamin-mineral takviyesi durumu	3.5425	0.6170	4.3560	0.4994	1.4185	0.2336	2.9003	0.8213	0.9728	0.9647
İşletmede yem bitkileri yetiştirilmesi	55.6668	0.0509	31.4342	0.8315	15.9973	0.0424	117.9437	0.0001	58.1331	0.1500

SONUÇ

Sonuç olarak; geçimini tarım ve hayvancılıktan sağlayan ve ülke kalkınmasını doğrudan etkileyen insanların çoğunluğu kırsal kesimde yaşamaktadır. Doğu Anadolu Bölgesi gibi coğrafi şartların ağır olduğu yerlerde ise, ağırlıklı olarak hayvancılık ön plana çıkmaktadır. Hayvancılıkla uğraşan üreticilerin etkin bir şekilde eğitilmesi üretim, gelir ve refah artışının sağlanabilmesi için oldukça önemlidir. Muş ilimizde hayvancılık faaliyetleriyle, özellikle de sığır ve manda yetiştiriciliği ile uğraşan üreticilerin, bu sektörde bilinçlendirilmesi ile hedef kitlenin büyükbaş hayvancılık potansiyellerinin artırılması mümkün görünmektedir. Çalışmada aşağıda özetlenen sonuçlara ulaşılmıştır:

- Katılımcıların çoğunluğunun genç yaşta olması, bölgede hayvancılık potansiyelinin yüksek oluşu açısından umut vadetmektedir.
- Yetiştiricilerin eğitim seviyelerinin yüksek olmasına rağmen, hayvancılık konusunda eğitim almış olanların oranı oldukça düşüktür. Bu nedenle, bölgede uygun hayvan besleme yöntemlerinin kullanılmadığı gözlenmiştir.
- Bölgede işletmelerin yeterli hayvan varlığına sahip olmadıkları tespit edilmiştir.

- Yetiştiricilerin sahip olduğu ekilebilir arazilerinin küçük olması işletmelerin kaba/konsantre yem teminini zorlaştırmaktadır.
- İşletmelerin küçük olması nedeniyle, bölgede tarımsal teknoloji yeterli düzeyde kullanılamamaktadır.
- Üreticilerin büyük bir kısmının hayvanlarını meraya çıkarıyor olması, ekonomik hayvancılık için olumlu görülmektedir.
- Bölgede silaj gibi kaliteli kaba yemlerin üretimi ve kullanımının yetersizliği belirgin bir şekilde görülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Yazar Katkısı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Akın S, Kara A, Tutkun, M, 2018. Diyarbakır Damızlık Sığır Yetiştiricileri ve Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliği Özelinde Hayvancılık Destekleri Hakkında Üretici Görüşlerinin Belirlenmesi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(1): 21-26
- Akkurt M, Köknaoğlu H, 2016. Isparta İli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliğine Üye Olan Ve Olmayan İşletmelerin Performanslarının Karşılaştırılması Ve Üreticilerin Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği İle İlişkilerinin İncelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 11(2):79-90.
- Aksoy A, Güler İO, Terin M, 2014. Erzurum İli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliğine Üye Olan Ve Olmayan Üreticilerin Belirli Özellikler Açısından Karşılaştırılması. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 31 (3): 82-90
- Anonim, 2021. Muş Tarımsal Yatırım Rehberi 2021. Tarım ve Orman Bakanlığı Strateji Geliştirme Başkanlığı Tarımsal Yatırımcı Danışma Ofisi. https://www.tarimorman.gov.tr/SGB/TARYAT/Belgeler/il_yatirim_rehberleri/mus.pdf (Erişim tarihi: 13.04.2021).
- Arslan Ö, 2018. Muş İli Özelinde Doğal Tarım ve Hayvancılığa Dayalı Sürdürülebilir Bir Ekonomik Gelişim. Anemon, Muş Alparlan Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, 6(1): 75–90
- Aydın R, Güler O, Yanar M, Diler A, Koçyiğit R, Avcı M, 2016. Erzurum İli Hınıs İlçesi Sığırcılık İşletmelerinin Barınak Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 19 (1): 98-42
- Bakan Ö ve Aydın R, 2016. Ağrı İli Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Sosyo-Ekonomik Özellikleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 47 (2): 113-122
- Bakır G ve Demirel M, 2001. Van İli Ve İlçelerindeki Sığırcılık İşletmelerinde Kullanılan Yem Çeşitleri ve Hayvan Besleme Alışkanlıkları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 11 (1): 29-37.
- Bakır G ve Kibar M, 2019a. Muş İlinde Bulunan Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Bazı Yapısal Özelliklerinin Crosstab Analiziyle Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tarım ve Doğa Dergisi, 22 (4): 609-619, DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.512650
- Bakır G ve Kibar M, 2019b. Muş İlinde Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Sağlık Yönetiminin Belirlenmesi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9 (4): 2409-2419, DOI: 10.21597/jist.533230
- Bakır G ve Kibar M, 2020. Muş İli Besi Sığırcılığı İşletmelerinin Bazı Yapısal Özelliklerinin Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tarım ve Doğa Dergisi, 23 (6): 1687-1697, DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.694060
- Bakır G, 2002. Van İlindeki Özel Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısal Durumu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 12 (2): 1-10
- Boz İ, 2013. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Süt Sığırcılığı Yapan İşletmelerin Yapısı, Sorunları ve Çözüm Önerileri. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Doğa Bil. Dergisi, 16 (1): 24-32
- Budağ C ve Keçeci Ş, 2013. Van'da Büyükbaş Hayvan Beslerinde Kullanılan Yemler ve Besi Şekillerine İlişkin Bir Anket Çalışması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 18 (1-2): 48-61
- Demir P, Elmalı DA, Işık S, Tazegül R, Ayvazoğlu C, 2013. Kars İli Süt Sığırcılık İşletmelerinde Yem Kullanımı ve Hayvan Besleme Alışkanlıklarının Ekonomik Önemi. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 8 (3): 229-236

- Demir PA, Işık SA, Aydın E, Yazıcı K, Ayvazoğlu C, 2015. Socio-economic Importance of Sheep Breeding Farms in Ardahan Province. *Van Veterinary Journal*, 26 (3): 141-146
- Esen F, 2017. Bingöl İli'nde Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık Faaliyetleri. *Bingöl Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 7 (13): 83-100
- Gülsün B ve Miç P, 2018. Rasyon Hazırlamada Temel Yem Miktarlarının Ekonomik Olarak Belirlenmesi İçin Çok Amaçlı Programlama Yaklaşımı. *Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7 (2): 634-648, DOI: 10.28948/ngumuh.444657
- Güzel M ve Aybek A, 2017. Kahramanmaraş İli Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Mekanizasyon Yapısı. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Doğa Bilimleri Dergisi*, 20 (2): 148-159, DOI : 10.18016/ksujns.88470
- Kara A ve Kızıloğlu S, 2013. Meraya Dayalı Hayvancılık Yapan İşletmelerde Optimum Ürün Bileşiminin Belirlenmesi: Erzurum İli Örneği. *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 44 (1): 63-73
- Karadavut U, Genç A, Palta Ç, Çarkacı DA, Kökten K, 2011. Konya İli Yem Bitkileri Üreticilerinin Sosyo-Ekonomik Yapıları ile Başarılı Üretimi Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi. *Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1 (2): 38-50
- Karakuş F, Akkol S, 2013. Van İli Küçükbaş Hayvancılık İşletmelerinin Mevcut Durumu ve Verimliliği Etkileyen Sorunların Tespiti Üzerine Bir Araştırma. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18 (1-2): 09-16
- Karaturhan B, Şevik T, Yıldız Ö, 2014. Yetiştirici Birliklerinin Tarımsal Kalkınmaya Etkileri Üzerine Bir Araştırma: Edirne Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği Örnek Olayı. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 51 (2): 175-184
- Özkan U, 2020. Türkiye Yem Bitkileri Tarımına Karşılaştırmalı Genel Bakış ve Değerlendirme. *Türk Ziraat Mühendisliği Araştırmaları Dergisi*. 1 (1), 29-43
- SAS 2014. SAS/STAT. Statistical Analysis System for Windows. Released Version 9.4. SAS Institute Incorporation, Carry, NC, USA
- Soya H, Avcıoğlu R, Geren H, 2004, Yem Bitkileri. *Hasad Yayıncılık*, 223 s.
- Şahin K ve Gürsoy AK, 2016. Iğdır İli Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Sosyo Ekonomik Yapısı. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı 118-129*, DOI: 10.17100/nevbittek.210975
- Şahin K ve Keskin B, 2010. Van İli Gevaş İlçesinde Yem Bitkileri Üreten İşletmelerin Mevcut Durumu ve Sorunları. *Alnteri*, 19 (B): 7-13 ISSN:1307-3311
- Şahin K ve Yılmaz İH, 2008a. Van İli'nde Yem Bitkileri Tarımı, Mera Kullanımı ve Sosyo Ekonomik Yapı Üzerine Bir Araştırma. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 14 (4): 414-419
- Şahin K ve Yılmaz İH, 2008b. Van İli Gürpınar İlçesinde Yem Bitkileri Üretimi ve Sorunları Üzerine Bir Araştırma. *Tarım Bilimleri Dergisi* 14 (1): 16-21.
- Şeker İ, Tasalı H, Güler H, 2012. Muş İlinde Sığır Yetiştiriciliği Yapılan İşletmelerin Yapısal Özellikleri. *Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 26 (1): 9-16.
- Terin M ve Ateş HÇ, 2010. Çiftçilerin Örgütlenme Düzeyi ve Örgütlerden Beklentileri Üzerine Bir Araştırma: Van İli Örneği. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 47 (3): 265-274
- Turan M, 2019. Diyarbakır Manda Yetiştiriciliğinin Mevcut Durumu, Sorun ve Çözüm Önerilerinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Diyarbakır*, 2019
- TÜİK 2018. Tarımsal İşletme İşgücü Ücret Yapısı, 2018. <https://tuikweb.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?jsessionid=RBs9fYcSLTtyFvHcQCG2Jq49pMb66wHD2yNjJrwcJh2v22JZ85qm!-765828690?id=30820> Erişim tarihi: 10.04.2021
- Yıldız S, Akkol S, Deniz S, 2019a. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dap Çiftçi Eğitim Merkezi'nde Eğitim Alan Kursiyerlerin Tarım-Hayvancılık Okuryazarlığı Kapasitelerinin Değerlendirilmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24 (2): 133-141
- Yıldız S, Akkol S, Deniz S, 2019b. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dap Çiftçi Eğitim Merkezi'nde Eğitim Alan Kursiyerlerin Tarım-Hayvancılık Potansiyellerinin Değerlendirilmesi. *Van Veterinary Journal*, 30 (3): 151-157.

Atf İçin: Türkyılmaz D, Şişik Oğraş Ş, Dağdelen Ü, Yaprak M, Esenbuğa N, 2021. Morkaraman ve İvesi Erkek Kuzularında Bazı Et Kalite Özellikleri Üzerine Olgunlaştırma Süresi ve Irkın Etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3292-3299.

To Cite: Turkyilmaz D, Şişik Oğraş Ş, Dagdelen U, Yaprak M, Esenbuga N, 2021. The Effect of Aging Time and Breed on Some Meat Quality Traits in Morkaraman and Awassi Ram Lambs. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3292-3299.

Morkaraman ve İvesi Erkek Kuzularında Bazı Et Kalite Özellikleri Üzerine Olgunlaştırma Süresi ve Irkın Etkisi

Doğan TÜRKYILMAZ^{1*}, Şeyma ŞİŞİK OĞRAŞ², Ülkü DAĞDELEN¹, Mustafa YAPRAK¹, Nurinisa ESENBUĞA¹

ÖZET: Bu çalışmanın amacı, Morkaraman ve İvesi erkek toklularında bazı et kalite özellikleri üzerine olgunlaştırma süresi ve ırkın etkisini incelemektir. Çalışma Erzurum ili Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Koyunculuk Şubesinde yetiştirilen ve ortalama 7.5 aylıkken kesime gönderilen on baş Morkaraman ve İvesi kuzularından alınan *m. longissimus dorsi* (MLD) kasında gerçekleştirilmiştir. Et kalite özelliklerinin belirlenmesi için 12 gün boyunca +4 °C'de tutulan MLD kasında kesimden sonraki 24. saat, 2., 4., 7. ve 12. günlerde renk (L*, a*, b*, C, ve H), pH, sızıntı su kaybı ve TBA değerleri belirlenmiştir. Et kalitesi parametreleri üzerine L*, pH ve sızıntı su kaybı dışında ırkın etkisi olmazken, olgunlaştırma süresine bağlı olarak incelenen tüm et kalite parametrelerinde değişimler olduğu gözlenmiştir. Olgunlaşma esnasında proteolitik enzimler tarafından kasın yapısal bozulmasına bağlı olarak etin renk, pH, sululuk ve TBA gibi özelliklerinde önemli gelişmeler ortaya çıkmıştır. Fakat olgunlaştırma süresinin ilerleyişine bağlı olarak a* değerinin düştüğü, sızıntı su kaybı ve TBA değerlerinin ise yükseldiği gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Morkaraman, İvesi, olgunlaştırma, et kalitesi

The Effect of Aging Time and Breed on Some Meat Quality Traits in Morkaraman and Awassi Ram Lambs

ABSTRACT: The aim of this study was to examine the effects of aging time and breed on some meat quality parameters in Morkaraman and Awassi male rams. The study was carried out in Sheep Breeding Branch, Food and Livestock Application and Research Center, Atatürk University, Erzurum. Meat quality characteristics were determined from *m. longissimus dorsi* (MLD) muscles taken from ten Morkaraman and Awassi lambs sent to slaughter at an average age of 7.5 months. Meat quality such as color (L*, a*, b*, C, and H), pH, drip loss and TBA was determined on the MLD muscle. The MLD muscles were maintained at 4 °C for up to 12 days. While there was no effect of breed on meat quality parameters except L, pH and drip loss, it was observed that there were changes in all meat quality parameters examined depending on the aging time. Due to the structural deterioration of the muscle by proteolytic enzymes during aging, significant improvements have occurred in the properties of meat such as color, pH, juiciness and TBA. However, it was observed that a* value decreased, drip loss and TBA value increased depending on the progress of aging time.

Keywords: Morkaraman, Awassi, aging, meat quality

¹Doğan Türkyılmaz ([Orcid Id: 0000-0001-6293-3787](https://orcid.org/0000-0001-6293-3787)), Ülkü Dağdelen ([Orcid Id: 0000-0002-5167-8255](https://orcid.org/0000-0002-5167-8255)), Mustafa Yaprak ([Orcid Id: 0000-0002-6791-7273](https://orcid.org/0000-0002-6791-7273)), Nurinisa Esenbuğa ([Orcid Id: 0000-0002-2036-8369](https://orcid.org/0000-0002-2036-8369)), Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

²Şeyma Şişik Oğraş ([Orcid Id: 0000-0001-6293-3787](https://orcid.org/0000-0001-6293-3787)), Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

***Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Doğan TÜRKYILMAZ, e-mail: dogan.turkyilmaz@atauni.edu.tr

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makalede yer alan hayvan deneyi için "Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Veteriner Fakültesi Birim Etik Kurulu'nun 29.05.2018 tarihli ve 2018/64 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı alınmıştır.

GİRİŞ

Genel olarak kuzu eti, tüketici tarafından karakteristik tadı olan, insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen maddeler içermeyen doğal bir ürün olarak algılanmakta aynı zamanda pahalı ve dolayısıyla bir dereceye kadar lüks bir ürün olarak değerlendirilmektedir ve belirli pazarlar için çok özeldir. Bununla birlikte, et kalitesinin bazı yönleri, üretim ve pazarlama zinciriyle ilgilidir ve bu esnada çeşitli değişikliklere uğramaktadır. Et kalitesi ırk, yetiştirme tekniği, hayvanların taşınması-kesilmesi ve karkaslara kesim sonrası uygulanan teknolojik işlemler gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir. Etin renk, doku, sululuk ve tat gibi ticari olarak önemli niteliklerinin öznel doğası nedeniyle et kalitesi kavramını tanımlamanın zor olduğu vurgulanmaktadır (Grunert ve ark., 2004; Serra ve ark., 2005; Muchenje ve ark., 2009).

Taze ette olgunlaştırma işlemi lezzet, gevreklik ve aromayı artırarak, tat ve kokuyu geliştirmek için uygulanmaktadır. Etlerde olgunlaştırma işlemi belirli bir süre düşük sıcaklıklarda (buzdolabı sıcaklığı) depolanarak gerçekleştirilmektedir. Olgunlaştırmanın taze kesilmiş etlere uygulanmasının en önemli nedeni ürünün lezzet özelliğini geliştirmektir. Tüketiciler için en önemli lezzet göstergesinin gevreklik olduğu ve olgunlaştırmanın et ve ürünlerinin gevrekliklerine katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Smith, 2008). Kesimin hemen sonrasında oluşan rigor mortisle birlikte etlerde sertleşmenin artmasına paralel olarak gevreklikte önce azalma (yaklaşık kesimi takiben 6-12 saat), daha sonra ise kademeli olarak artış göstererek 11 gün kadar artmaya devam etmekte, daha sonra ise artış olmamaktadır (Epley, 1992; Huff-Lonergan ve ark., 2010; Koohmaraie ve Geesink, 2006). Olgunlaştırma etlerde oluşan bir dizi enzimatik reaksiyon sonucunda meydana gelmektedir (Wang ve ark., 2018). Olgunlaştırma sürecinde lezzet ve aromayı arttıran mekanizma etin su kaybederek dokulardaki lezzet bileşenlerinin (linoleik, stearik, palmitik, oleik asit, aspartat, glutamat, karnosin, inosin monofosfat) yoğunluklarının artması şeklinde açıklanmaktadır (Kahraman ve Gürbüz, 2018).

Genellikle kuzu etinin raf ömrü uygun koşullar altında yaklaşık 10 gün olarak belirtilmektedir (Williams, 1991). Kuzu etinin kısa raf ömrü, ticarileştirilmesindeki temel sorunlardan biridir. Taze etin raf ömrünü sınırlayan en önemli üç faktör renk, mikrobiyal artış ve lipid oksidasyonudur (Jakobsen ve Bertelsen, 2000). Renk, bir ürünün bütünlüğü, olgunlaşması veya tazeliği gibi kritik bilgilerin bir göstergesi olma rolü nedeniyle gıda ürünlerinde temel bir optik özelliktir (Hutchings, 2003). Et rengi, tüketicilerin et kalitesini değerlendirmek için kullanılan en önemli faktördür (Faustman ve Cassens, 1990; Zerby ve ark., 1999). Et rengi, tazelik algısını etkiler ve tüketicinin eti satın alma kararında önemli rol oynar (O'Grady ve ark., 2000). Ette renkten sorumlu pigment miyoglobindir. Taze ette miyoglobinin deoksimioglobinin (DMb), oksimioglobinin (MbO₂) ve metmiyoglobinin (MMb) olmak üzere üç temel formda bulunabilir ve bu formlar pigmentin indirgenmiş, oksijenlenmiş ve oksitlenmiş durumlarına karşılık gelir (Mancini ve Hunt, 2005). Oksijen yokluğunda miyoglobinin indirgenmiş durumda kalır. Et yüzeyi oksijenle temas eder etmez deoksimiyoglobinin hızla oksimiyoglobine dönüşür ve et tüketiciler tarafından tercih edilen parlak kırmızı rengi alır. Son olarak, miyoglobinin kademeli olarak oksitlenerek kahverengileşmeye ve çekici görünümünün kaybını teşvik eden metmiyoglobine dönüşür (Hunt ve ark., 2012). Etin oksijen tüketim oranı, kas tipi, işleme ve depolama sırasındaki sıcaklık, teşhir sırasında ultraviyole ışığa maruz kalma, ışık türü ve perakende teşhir sırasındaki koşullar gibi dış faktörler renk değişimi üzerine etkili olmaktadır. (Bertelsen ve Skipsted, 1987; Behrands ve ark., 2003; Jacob ve Thomson, 2012; Ripoll ve ark., 2013; Steele ve ark., 2016).

Et kalitesinin belirlenmesinde kullanılan en önemli kriterlerden biri de pH değeridir. Canlı hayvanda etteki pH değeri 7.3 olup, kesim yapılarak kanın akıtılmasından sonra 7.0 düzeylerine düşmektedir. Kaslarda şekillenen anaerobik glikozis neticesinde laktik asidin artması sonrası oksijen

düzeyinin düşmesi ile etteki pH değeri kesim sonrasında ilk birinci saatte 5.6 – 6.2 değerleri arasına düşmektedir. pH değerinin düşmesi sonucunda et daha sulu ve gevrek bir hal almaktadır (Savell ve ark., 2005; Şireli, 2018).

Eti oluşturan kasların yapısında, hayvanın yaşı ve türüne bağlı olmakla birlikte %70-80 arasında su bulunmaktadır. Ette bulunan su, etin duyuşsal özelliklerini koruması açısından önemlidir. Gerek ekonomik, gerekse teknolojik nedenlerden dolayı ette su kaybı istenmeyen durumlardan biridir. Fakat kasların yapısında mevcut olan suyun bir bölümünde kasların işlenerek ete dönüştürülme aşamalarında kayıplar oluşabilmektedir (Ergezer ve Serdaroğlu, 2008; Şireli, 2018). Su tutma kapasitesi, bir et proteini olan miyofibrilik proteinlerinin ette suyu tutması olarak tanımlanmaktadır. Su kaybı metabolik, kimyasal ve genetik faktörler tarafından da etkilenir (Öztan, 2005; Şireli, 2018). Su tutma kapasitesinin ölçülmesi, proteinlerin su ile etkileşimini belirlemenin bir yoludur ve protein-su etkileşimleri proteinlerin fonksiyonel özelliklerini belirler. Su tutma, doku, renk ve diğer duyuşsal nitelikleri doğrudan etkilediği için protein işlevselliği açısından önemlidir (Zayas, 1997). Yapılan bazı çalışmalarda ırk ve kesim ağırlığının su tutma kapasitesi üzerine etkili olduğu bildirilmektedir. Ayrıca su tutma kapasitesi yüksek olan etlerin daha lezzetli olacağı da bildirilmektedir (Sanudo ve ark., 1998; Vergara ve ark., 1999).

Ette ve yağ içeren gıdalarda oksidatif acılaşmanın ölçümü için en uygun metot tiyobarbitirik asit (TBA) ölçümü olup bu metotta çoklu doymamış yağ asitlerinin ikincil oksidasyon ürünü olarak ortama verilen malonaldehit ölçülmektedir. Acılaşmaya neden olan kısa karbon zincirli ürünlerin birikimine paralel olarak TBA sayısında da (mg malonaldehit kg⁻¹) artış söz konusu olmaktadır (Pikul ve ark., 1984, Gökalp ve ark., 2001).

Bu çalışmanın amacı, Morkaraman ve İvesi erkek toklularında bazı et kalite parametreleri üzerine olgunlaştırma süresi ve ırkın etkisini incelemektir.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın etik kurul onayı, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Birim Etik Kurulu'ndan 29.05.2018 tarih ve 2018/64 nolu kararla alınmıştır.

Bu çalışma Erzurum ili Atatürk Üniversitesi Gıda Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Koyunculuk Şubesinde yürütülmüştür. Sütten kesimden itibaren merada otlatılan Morkaraman (5 baş) ve İvesi (5 baş) erkek kuzulara canlı ağırlıklarının %2'si kadar ek yemleme yapılmıştır. Kuzular mera döneminin ardından ortalama 7.5 aylık yaşta kesime gönderilmiş ve bunlardan alınan on adet *m. longissimus dorsi* (MLD) kasından bazı et kalite özellikleri belirlenmiştir. Et kalite özelliklerinin belirlenmesi için et örnekleri 2 cm kalınlığında kesilerek 12 gün boyunca +4 °C'de buzdolabı şartlarında tutulmuştur. Kesimden sonraki 24. saat, 2., 4., 7. ve 12. günlerde renk (L*, a*, b*, C, ve H), pH, sızıntı su kaybı ve TBA değerleri gibi bazı et kalite parametreleri belirlenmiştir. pH değerleri, pH metrenin direkt probu kullanılarak MLD kaslarının taze kesilmiş yüzeylerinden ölçülmüştür. Parlaklık (L*), renk (a* ve b*), açığı (H) ve kroma (C) gibi renk değerlerini (CIELAB (Commission Internationale l'Eclairage)) ölçmek için Minolta kolorimetre cihazı (CR-200, Minolta Co, Osaka, Japonya) kullanılmıştır (Aurand ve ark., 1987; Rödel 1992). pH ve renk ölçümleri 3'er kez tekrarlanarak bu ölçümlerin ortalama değerleri alınmıştır. Örneklerdeki TBA değerleri Gökalp ve ark., (2001), Lemon (1975) ve Kılıç ve Richards (2003) tarafından bildirilen yöntemlere göre belirlenmiştir. TBA değerleri, kg et başına mg malonaldehit olarak ifade edilmiştir. Sızıntı su kaybı 3 x 4 cm ebatlarında ki bir numunenin ağırlık kaybı olarak ölçülmüştür (Honikel ve ark., 1986). Çalışmadan elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS 20.00 paket programının GLM prosedürü kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası farkların belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Görünüş özellikleri içerisinde, tüketicilerin satın alma isteğini etkileyen en önemli faktör renktir. Etin renk pigmentleri, myogloblin ve kanda bulunan hemoglobindir. Kuzu etinde myogloblin miktarı 3 - 8 mg g⁻¹ et düzeyindeyken, yaşlı koyunlarda ve ergin koçlarda 12 - 18 mg g⁻¹ et düzeyindedir. Bu sebeple kuzu etleri koyun ve koç etlerine göre daha pembemsi renktedir (Öztaş, 2005; Burke ve Apple, 2007; Yakan, 2008). Renk değerleri incelendiğinde L* parametresi dışında kalan a*, b*, C ve H değerleri bakımından Morkaraman ve İvesi ırklarının benzer oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 1). İvesi ırkının Morkaramanlara göre istatistiki olarak çok önemli (P<0.01) seviyede daha yüksek L* değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Esenbuga ve ark., (2009) İvesi ve Morkaraman erkek kuzuları arasında renk parametreleri bakımından fark olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada her iki ırk için bildirilen L*, a*, b*, H ve C değerlerinin yürütülen çalışmadan elde edilen değerlerden daha yüksek oldukları gözlenmiştir. pH ve sızıntı su kaybı değerleri incelendiğinde İvesi kuzularının Morkaramanlara göre istatistiki olarak önemli (P<0.05) seviyede daha yüksek değerlere sahip oldukları tespit edilmiştir. Irklar arasında TBA değerleri bakımından fark olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 1. Morkaraman ve İvesi erkek kuzularına ait bazı et kalite özelliklerinin ortalama değerleri

	L*	a*	b*	C	H	pH	Sızıntı su kaybı (%)	TBA
İrk (I)	**	ös	ös	ös	ös	*	*	ös
Morkaraman	38.85	15.27	3.99	15.99	15.63	5.67	1.44	0.55
İvesi	40.22	14.82	4.00	15.67	15.42	5.98	1.89	0.47
SEM	0.27	0.20	0.17	0.21	0.64	0.01	0.15	0.03
Olgunlaştırma süresi (OS)	**	**	**	**	**	**	**	**
24. saat	37.56 ^c	17.72 ^a	0.24 ^b	18.74 ^a	2.63 ^c	5.56 ^a	0.22 ^d	-
2. gün	40.67 ^a	17.48 ^a	5.19 ^a	18.23 ^a	16.46 ^b	5.61 ^d	0.63 ^d	0.35 ^c
4. gün	39.79 ^{ab}	14.79 ^b	4.86 ^a	15.57 ^b	17.99 ^b	5.69 ^c	1.49 ^c	0.45 ^c
7. gün	40.33 ^{ab}	13.33 ^c	4.88 ^a	14.59 ^c	19.25 ^{ab}	5.78 ^{ab}	2.47 ^b	0.61 ^{ab}
12. gün	39.33 ^b	11.89 ^d	4.80 ^a	13.00 ^d	21.31 ^a	5.86 ^b	3.54 ^a	0.72 ^a
SEM	0.43	0.32	0.27	0.33	0.99	0.03	0.25	0.05
IxOS	ös	ös	ös	ös	ös	ös	ös	ös

*: P<0.05, **: P<0.01, ös: Önemsiz, ^{a,b,c,d}: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark bulunmamaktadır.

SEM: Standart hata, TBA: mg malonaldehit kg⁻¹ taze et

Olgunlaştırma süresi, etlerin gevreklik kazanmasına yol açan bir süreçtir. Bu süreç doğru işlediğinde, olgunlaştırılmış et taze etten daha fazla gevrekliğe sahip olur. Etlerdeki olgunlaştırma sürelerinin incelenen tüm kalite parametreleri üzerine istatistiki olarak çok önemli (P<0.01) seviyede etkili oldukları gözlenmiştir. L*, b* ve H renk değerlerinde ilk 24. saatlik değerlere göre çok önemli seviyede yükselme olurken; a* ve C değerlerinde ise çok önemli seviyede düşme olduğu gözlenmiştir. Olgunlaştırma süresi ile ırk arasındaki interaksiyon önemsiz bulunmuştur. Macit ve ark., (2003a, 2003b) İvesi ve Morkaraman kuzularında yaptıkları bir çalışmada MLD kasında L*, a*, b* değerlerini kesimden sonraki 2. günde sırasıyla İvesilerde 46.1, 18.6 ve 7.8, Morkaramanlarda 43.2, 17.5 ve 6.2; 4. günde İvesilerde 43.4, 15.4 ve 8.6, Morkaramanlarda 43.6, 16.7 ve 7.5; 7. günde İvesilerde 46.1, 15.6 ve 8.5, Morkaramanlarda 44.8, 13.6 ve 7.8 olarak; 12. günde İvesilerde 41.7, 17.0 ve 4.2, Morkaramanlarda ise 40.9, 16.3 ve 4.7 olarak bildirmişlerdir. Bildirilen bu değerlerin bu çalışmada elde edilen renk değerlerinden yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni hayvanların yaşları veya farklı yetiştirme sistemlerinden kaynaklanmış olabilir.

Etin pH değeri et kalitesi üzerine etkili en önemli faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir. Kesimden önce hayvanlarda pH değeri 7.3 iken, kesimle birlikte bu değer 7.0 seviyelerine iner, kesimden sonra ise ortamda oksijen tükenmesinden dolayı oluşan anaerobik glikozis ile birlikte pH değeri düşmeye başlar. Kesimden sonra ilk 1 saatte pH değerinin 5.6 – 6.2 arasına düştüğü ve böylece etin sulu ve gevrek bir hal aldığı bildirilmektedir (Öztan, 2005; Savell ve ark., 2005; Yakan, 2008). Çalışmamızda kesimden sonra ilk 24. saatte MLD kasından ölçülen pH değerlerinin 5.56 olduğu, bu değer depolama süresince yükselerek 12. günde 5.86 değerine ulaştığı gözlenmiştir (Çizelge 1). pH değerleri bakımından elde edilen sonuçlar aynı ırklarla çalışan Macit ve ark., (2003a, 2003b) ve Gül ve ark., (2005) tarafından bildirilen değerlerle benzerlik göstermektedir.

Olgunlaşmış ette meydana gelen en önemli karakteristik değişiklik etin daha lezzetli bir tada sahip olmasıdır. Bu değişikliğin nedeni, yağ ve protein gibi büyük molekülleri oksitleyen enzimatik ve bakteriyel aktivitedir. Ette oluşan enzim aktivitesi sonucunda ortaya çıkan kimyasal reaksiyonların etkisi ile büyük moleküler yapılar daha küçük olanlara indirgenir. Olgunlaştırma süreciyle ilgili önemli değişikliklerden biri su kaybıdır ve bu da % 30 hacim kaybına ve yoğun bir tada neden olur. Ette su, proteinlere bağlı olarak bulunur ve su proteinlere yüksek pH'da daha fazla bağlanır. Post-mortem süreçte laktik asit miktarının artması ve buna bağlı olarak pH değerinin düşmesi et proteinlerinin su tutma kapasitelerini etkiler. Çalışmada olgunlaştırma süresinin sızıntı su kaybını çok önemli ($P<0.01$) şekilde etkilediği ve ilk 24 saatlik sızıntı su kaybının 0.22 iken 12. günde bu değer 3.54'e yükseldiği gözlenmiştir (Çizelge 1). Su tutma kapasitesi, olgunlaştırma gibi herhangi bir süreçten sonra nihai ağırlık kaybını doğrudan etkilediği ve tüketici kabulünü de etkilediği için temel kalite özelliklerinden biri olarak kabul edilmektedir. Tüketici, buharlaşma, pişirme veya başka herhangi bir nedenden kaynaklanan ağırlık kaybını kolayca gözlemleyebilir. Den-Hertog-Meischke ve ark., (1997)'nin çalışmalarında, su tutma kapasitesinin ırk, yaş, cinsiyet, kas tipi, kas bileşimi ve pH gibi fizyolojik faktörlerden; büyüme-gelişme, yem bileşimi ve kesim öncesi uygulanan son aktiviteler gibi yetiştirme koşullarından; soğutma hızı, paketlenme, dondurma ve çözündürme, olgunlaştırma, sıcaklık, bayılma, elektriksel uyarı vb. gibi kesim esnası ve sonrasındaki işlemlerle ilgili faktörlerden etkilendiğini bildirmişlerdir. Etin birçok fiziksel özelliği (renk, tekstür, gevreklik, sululuk gibi) etin su tutma kapasitesine bağlıdır. Etin su tutma kapasitesi, depolama sırasındaki fireyi doğrudan etkiler. Macit ve ark., (2003a, 2003b) İvesi ve Morkaramanlarda yaptıkları çalışmalarda kontrol grubunda sızıntı suyu sırasıyla 2. gün 0.80 ve 0.85, 12. gün ise bu değerleri 3.80 ve 4.53 olarak bildirmişlerdir. Elde edilen bu değerlerin çalışmamızdaki sonuçlardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Ette ve yağ içeren gıdalarda oksidatif acılaşmanın ölçüsü olan TBA değerlerinin 2. ve 4. günlerde benzer olduğu, 7. ve 12. günlerde ise yükseldiği gözlenmiştir (Çizelge 1). TBA için elde edilen değerlerin Macit ve ark., (2003a, 2003b)'nin bildirdiği değerlerden daha düşük olduğu gözlenmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada et kalitesi parametreleri üzerine L^* , pH ve sızıntı su kaybı dışında ırkın etkisi olmazken, olgunlaştırma süresine bağlı olarak incelenen tüm et kalite parametrelerinde değişimler olduğu gözlenmiştir. İncelenen parametreler bakımından ırk ile olgunlaştırma süresi arasında istatistiksel olarak önemli bir interaksiyon bulunmamıştır. Olgunlaşma esnasında proteolitik enzimler tarafından kasın yapısal bozulmasına bağlı olarak etin renk, pH, sululuk ve TBA gibi özelliklerinde önemli gelişmeler ortaya çıkmıştır. Fakat olgunlaştırma süresinin ilerleyişine bağlı olarak a^* değerinin düştüğü, sızıntı su kaybı ve TBA değerlerinin ise yükseldiği gözlenmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

KAYNAKLAR

- Aurand LW, Woods AE, Well MR, 1987. Food Composition and Analysis. An Avi Book, New York, USA.
- Behrands JM, Mikel WB, Armstrong CL, Newman MC, 2003. Color stability of semitendinosus, semimembranosus, and biceps femoris steaks packaged in a high-oxygen modified atmosphere. *Journal of Animal Science*. 81: 2230-2238.
- Bertelsen G, Skjold LH, 1987. Photooxidation of oxymyoglobin. Wavelength dependence of quantum yields in relation to light discoloration of meat. *Meat Science*, 19: 243-251.
- Brewer MS, Jensen J, Prestat LG, Zhu LG, Mckeith FK, 2002. Visual acceptability and consumer purchase intent of enhanced pork loin roasts. *Journal of Muscle Foods*, 13: 53-68.
- Buckley DJ, Morrissey PA, Gray JI, 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*, 73: 3122-3130.
- Burke JM, Apple JK, 2007. Growth performance and carcass traits of forage- fed hair sheep wethers. *Small Ruminant Research*, 67: 264- 270.
- Den-Hertog-Meischke MJA, van Laack RJLM, Smulders FJM, 1997. The water holding capacity of fresh meat. *Veterinary Quarterly*, 19: 175-181.
- Epley RJ, 1992. Aging beef.
<https://conservancy.umn.edu/bitstream/handle/11299/51510/05968.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
(Erişim tarihi: 28.07.2021)
- Ergezer H, Serdaroğlu M, 2008. Et ve Et Ürünlerinde Su Tutma Kapasitesi ve Ölçüm Yöntemleri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21–23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Esenbuga N, Macit M, Karaoglu M, Aksakal V, Aksu Mİ, Yörük MA, Gül M, 2009. Effect of breed on fattening performance, slaughter and meat quality characteristics of Awassi and Morkaraman lambs. *Livestock Science*, 123: 255-260.
- Faustman C, Cassens RG, 1990. The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. *Journal of Muscle Foods*. 1: 217-243.
- Faustman C, Sun Q, Mancini R, Suman SP, 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86: 86-94.
- Gokalp HY, Kaya M, Tülek Y, Zorba O, 2001. Guide for Quality Control and Laboratory Application of Meat Products, 4th Press, Ataturk Univ. Publication, No. 751.
- Grunert KG, Bredahl L, Brunso K, 2004. Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector - A review. *Meat Science*. 66: 259-272.
- Gül M, Yörük MA, Macit M, Esenbuga N, Karaoglu M, Aksakal V, Aksu MI, 2005. The effects of diets containing different levels of common vetch seed (*Vicia sativa*) on fattening performance, carcass and meat quality characteristics of Awassi male lambs. *Journal of the Science Food Agriculture*, 85: 1439-1443.
- Honikel KO, Kim CJ, Hamm R, Roncales P, 1986. Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. *Meat Science*, 16: 267-282.

- Hood DE, Riordan EB, 1973. Discolouration in pre-packaged beef: measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. *International Journal of Food Science and Technology*, 8: 333-343.
- Huff-Lonergan E, Zhang W, Lonergan SM, 2010. Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, 86: 184-195.
- Hunt M, King A, Barbut S, Clause J, Cornforth D, Hanson D, Mohan A, 2012. *AMSA Meat Color Measurement Guidelines*. American Meat Science Association, Champaign, Illinois USA, pp. 1-135.
- Hutchings JB, 2003. *Expectantions and the Food Industry. The Impact of Color and Appearance*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Jacob RH, Thomson KL, 2012. The importance of chill rate when characterising colour change of lamb meat during retail display. *Meat Science*, 90: 478-484.
- Jakobsen M, Bertelsen G, 2000. Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. *Meat Science*, 54: 49-57.
- Kahraman HA, Gürbüz Ü, 2018. Aging Applications on Beef Meat Sığır Etlerinde Dinlendirme Uygulamaları. *Manas Journal of Engineering*, 6: 7-13.
- Kılıç B, Richards MP, 2003. Lipid Oxidation in Poultry Döner Kebab: Pro-oxidative and Anti-oxidative Factors. *Journal of Food Science*, 68: 686-689.
- Koohmaraie M, Geesink GH, 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the clapain system. *Meat Science*, 74: 34- 43.
- Lemon DW, 1975. *An Improved TBA Test for Rancidity*. New Series Circular No. 51. Halifax Laboratory, Halifax, Nova Scotia, Canada.
- Macit M, Aksakal V, Emsen E, Esenbuga N, Aksu Mİ, 2003a. Effects of vitamin E supplementation on fattening performance, non-carcass components and retail cut percentages, and meat quality traits of Awassi lambs. *Meat Science*, 64: 1-6.
- Macit M, Aksakal V, Emsen E, Esenbuga N, Aksu Mİ 2003b. Effects of vitamin E supplementation on performance and meat quality traits of Morkaraman male lambs. *Meat Science*, 63: 51-55.
- Mancini RA, Hunt MC, 2005. Current research in meat color. *Meat Science*, 71: 100-121.
- Mckenna D, 2008. *The color of meat*. Meat Science Section Department of Animal Science, Texas A&M University, 2471 TAMU.
- Muchenje V, Dzama K, Chimonyo M, Strydom PE, Hugo A, Raats JG, 2009. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chemistry*. 112: 279-289.
- O'Grady MN, Monahan FJ, Burke RM, Allen P, 2000. The effect of oxygen level and exogenous α -tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs. *Meat Science*. 55: 39-45.
- Öztan A, 2005. *Et Bilimi ve Teknolojisi*, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi Yayın No: 1, ISBN: 975- 395- 632- 0, Ankara.
- Pikul J, Leszczynski DE, Bechtel PJ, Kummerow FA, 1984. Effects of frozen storage and cooking on lipid oxidation in chicken meat. *Jornal of Food Science*, 49: 838-843.
- Renerre M, Mazuel JP, 1985. Relationships between instrumental and sensorial measurements methods of meat color. *Sciences des Aliments*, 5: 541-558.
- Ripoll G, Albertí P, Casasús I, Blanco M, 2013. Instrumental meat quality of veal calves reared under three management systems and color evolution of meat stored in three packaging systems. *Meat Science*, 93: 336-343.

- Rödel W, 1992. Measurement magnitudes and transportable measuring instruments for in factory quality control. *Fleischwirtsch*, 72: 995-1001.
- Sanudo C, Sanchez A, Alfonso M, 1998. Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Science*, 49: 29- 64.
- Savell JW, Mueller SL, Baird BE, 2005. The chilling of carcasses. *Meat Science*, 70: 449-459.
- Sen AR, Muthukumar M, Naveena BM, Ramanna DBV, 2012. Effects on colour characteristics of buffalo meat during blooming, retail display and using vitamin C during refrigerated storage. *Journal of Food and Technology*, 51: 3515-3519.
- Serra X, Ruiz-Ramiraz J, Arnau J, Gou P, 2005. Texture parameters of dry-cured ham m. biceps femoris samples dried at different levels as a function of water activity and water content. *Meat Science*, 69: 249-254.
- Smith RD, Nicholson KL, Nicholson JDW, Harris KB, Miller RK, Griffin DB, Savell JW, 2008. Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US Choice and US Select short loins. *Meat Science*, 79: 631-639.
- Steele KS, Weber MJ, Boyle EAE, Hunt MC, Lobaton-Sulabo AS, Cundith C, Hiebert YH, Abrolat KA, Attey JM, Clark SD, Johnson DE, Roenbaugh TL, 2016. Shelf life of fresh meat products under LED or fluorescent lighting. *Meat Science*, 117:75-84.
- Şireli HD, 2018. Karkaslarda et kalitesinin belirlenmesinde kullanılan geleneksel yöntemler ve yeni teknikler. *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7: 126-132.
- Uğurlu M, Ekiz B, Teke B, Salman Akdağ M, Kaya İ, 2017. Meat quality traits of male Herik lambs raised under an intensive fattening system. *Turk J Vet Anim Sci*. 41: 425-430
- Vergara H, Molina A, Gallego L, 1999. Influence of sex and slaughter weight on carcass and meat quality in light and medium weight lambs produced in intensive systems. *Meat Science*, 52: 221-226.
- Wang A, Kang D, Zhang W, Zhang C, Zou Y, Zhou G, 2018. Changes in calpain activity, protein degradation and microstructure of beef M. semitendinosus by the application of ultrasound. *Food Chemistry*, 15: 724-730.
- Williams GW, 1991. Assessment of Marketing Strategies to Enhance Returns to Lamb Producers. Texas Agricultural Market Research Center Commodity Market Research Report No. CM-1-91. Texas A&M University, College Station.
- Yakan A, 2008. Bafra (Sakız x Karayaka G1) Kuzularında Farklı Kesim Ağırlıklarında Besi Performansı, Kesim, Karkas ve Bazı Et Kalitesi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Zayas JF, 1997. Solubility of Proteins. In: *Functionality of Proteins in Food*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Zerby HN, Belk KE, Sofos JN, McDowell LR, Smith GC, 1999. Case life of seven retail products from beef cattle supplemented with Alpha-tocopheryl acetate. *Journal of Animal Science*, 77: 2458-2463.

Atf İçin: Atalay AI, Kamalak A, 2021. İğdır İli Hayvancılığında Kullanılan Bazı Kaba ve Kesif Yem Kaynaklarının Besin Madde Kompozisyonları, Metabolik Enerji, Organik Madde Sindirim Derecesi ve *In Vitro* Gaz Üretim Kapasitelerinin Belirlenmesi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3300-3307.

To Cite: Atalay AI, Kamalak A, 2021. Determination of Chemical Composition, Metabolisable Energy, Organic Matter Digestibility and *In Vitro* Gas Production of Some Forages and Concentrates In Iğdir Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3300-3307.

İğdır İli Hayvancılığında Kullanılan Bazı Kaba ve Kesif Yem Kaynaklarının Besin Madde Kompozisyonları, Metabolik Enerji, Organik Madde Sindirim Derecesi ve *In Vitro* Gaz Üretim Kapasitelerinin Belirlenmesi

Ali İhsan ATALAY^{1*}, Adem KAMALAK²

ÖZET: Yapılan bu çalışmada ruminant hayvan beslemede kullanılan bazı kaba ve kesif yem materyallerinin kimyasal kompozisyonları, gaz üretim parametreleri, metabolik enerji (ME) ve organik madde sindirim dereceleri *in vitro* gaz üretim tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Kaba yemlerin içeriğindeki asit deterjan fiber (ADF) ve nötral deterjan fiber (NDF) oranı ile yemlerin sindirilebilirlikleri arasında negatif bir ilişki olduğu görülmüştür. ADF ve NDF bakımından zengin bir kaba yem olan samanın organik madde sindirim derecesi (OMSD) düşük bulunmuştur. En yüksek Ham kül içeriğine saman (%9.22) sahip olurken en düşük kül içeriğine mısır danesi (%1.37) sahip olmuştur. Yemlerin ham kül (HK) içerikleri ile ürettikleri toplam gaz arasında negatif bir ilişki vardır. Ham kül içeriği fazla olan yemlerin ürettikleri toplam gaz (TG) miktarları düşük bulunmuştur. Yemlerin ham protein (HP) içerikleri %2.48 ile %28.52 arasında değişmiştir ve aralarındaki farklar istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur (P<0.001). Yemlerin fermantasyonu sonunda en fazla gaz üretimi mısır dane yeminde (%63.74), en az gaz üretimi samanda (%24.52) gerçekleşmiştir. Araştırmaya konu olan yemler metabolik enerji, organik madde sindirim derecesi bakımından önemli derecede (p<0.001) farklılık göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Besin madde, kaba yem, kesif yem, metabolik enerji, organik madde sindirim derecesi, ruminant hayvanlar

Determination of Chemical Composition, Metabolisable Energy, Organic Matter Digestibility and *In Vitro* Gas Production of Some Forages and Concentrates In Iğdir

ABSTRACT: In the current study, the chemical composition, gas production parameters, metabolic energy, organic matter digestibility were determined using *in vitro* gas production technique. It has been seen that there is negative relationship between digestibility and acid detergent fiber (ADF) or neutral detergent fiber (NDF). The digestibility of wheat straw was lower since it is very rich in ADF and NDF. Although ash content of dry hay (9.22%) was the highest one, the lowest one is maize grain (1.37%). It has been found that there is a negative relationship between total gas productions. The feedstuffs with high as content produced less gas than the others. Crude protein contents of feedstuffs ranged from 2.48% to 28.52%. There are significant (P<0.001) differences among feedstuffs. The gas production decreases with increased CP contents since carbohydrate contents decreases at the expense of protein. Although the highest gas production was obtained for maize grain, the lowest gas production was obtained for sunflower seed meal. It has been found that there are significant differences (p<0.001) among feedstuffs in terms of organic matter digestibility, metabolisable energy.

Keywords: Ruminant animals, forage, feed, nutritional, metabolic energy values of the degree, organic matter digestion

¹Ali İhsan ATALAY ([Orcid ID: 0000-0002-7379-9082](https://orcid.org/0000-0002-7379-9082)), İğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, İğdir, Türkiye

²Adem KAMALAK ([Orcid ID: 0000-0003-0967-4821](https://orcid.org/0000-0003-0967-4821)), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ali İhsan ATALAY, e-mail: alihsanatalay66@hotmail.com

International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF 2017 Cappadocia / Turkey) May 15 - 17, 2017 tarihlerinde yapılan kongrede özet metin olarak yayımlanmıştır.

GİRİŞ

Çiftlik hayvanlarının beslenmesinde besin madde ihtiyaçlarını karşılamada kaba ve kesif yemler temel unsurdur. Hayvanların beslenmesinde kullanılan rasyonların belirlenmesinde kullanılan hammaddelerin besin madde içerikleri, besleme değerleri ve hayvanlar tarafından ne derece sindirildikleri büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle rasyonlar hazırlanırken, rasyonun besin değeri, rasyon içeriğinin ne kadarının hangi oranda mikrobiyal sindirime tabi tutulabileceği ve hangi oranda metabolik enerjiye dönüşebildiğinin saptanması büyük önem taşımaktadır (Orskov ve Donald,1979)

Yemlerin besin değerlerine ait bazı kriterlerin saptanmasında kullanılan *in vivo* yöntemlerin yerine bazı *in vitro* metotlar geliştirilmiştir. Bu metotlardan en çok kullanılanları iki aşamalı sindirim tekniği (Tilly ve Terry, 1963) naylon kese tekniği (Orskov ve Donald,1979; Mehrez ve Orskov, 1977) ve gaz üretim tekniği (Menke ve ark., 1979; Menke ve Steingass, 1988) şeklinde sıralamak mümkündür. Her tekniğin kendine özgü bazı üstünlükleri ve dezavantajları olmasına karşın, yukarıda anılan *in vitro* metotların *in vivo* yöntemlere göre daha az zaman, işgücü ve daha az yem materyali gerektirmesi gibi üstünlükleri vardır (Menke ve ark., 1979; Menke ve Steingass, 1988). Gaz üretim tekniğini; yemlerin *in vitro* parçalanma hızı, miktarı, metabolik enerji ve organik madde sindirim derecesini belirlemek için kullanmışlardır. Bu çalışmada, İğdır ili hayvancılığında kullanılan kaba ve kesif yemlerin kompozisyonları, metabolik enerji ve organik madde sindirim dereceleri belirlenerek hayvan beslemecilerin kullanımına sunulacaktır.

MATERYAL VE METOT

Buğday samanı, yonca kuru otu, mısır silajı, buğday kepeği, ayçiçeği tohumu küspesi, pamuk tohumu küspesi, buğday, arpa, mısır materyalleri İğdır ilinden temin edilmiştir. Yemler İğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yemler ve Hayvan Besleme Laboratuvarına getirilip kurutulmuş ve daha sonra 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülerek Hasat edilen örnekler beklenmeden laboratuvara getirilerek kuru maddeleri (KM) belirlenmiş kalan örnekler diğer analizlerde kullanılmak üzere gölgede kurutulduktan sonra 1 mm elekten geçecek şekilde çekiçli değirmen yardımı ile öğütülerek sonraki analizler için hazır hale getirilmiştir. KM içerikleri 105 °C'lik etüvde bir gece tutularak, ham kül içerikleri ise kül fırınında 550 °C'de 8 saat yakılarak belirlenmiştir. Azot (N) içerikleri Kjeldahl metoduna göre belirlenmiştir (AOAC, 1990). Ham protein içerikleri ise analiz sonucu elde edilen azot değerinin 6.25 kat sayısı ile çarpılması sonucunda elde edilmiştir. Yemlerin hücre duvarı içerikleri (ADF ve NDF) Van Soest ve arkadaşları (1991) tarafından yapılan metoda göre belirlenmiştir. Toplanan yem numunelerinin *in vitro* gaz üretim ölçümleri Yaklaşık 0.200 g örnek 24 saat boyunca 39 °C sıcaklıktaki su banyosunda Menke ve ark. (1979) metodu kullanılarak 3'er tekerrürlü olacak şekilde tamponlanmış rumen sıvısı ile inkübasyona bırakılmıştır. Rumen sıvısı günde iki kez (%60) yonca samanı ve (%40) kesif yem karışımı içeren rasyon ile beslenen fistüllü üç koyundan alınmıştır. Örneklerin net gaz üretimi 24 saatlik inkübasyon sonucunda belirlenmiş, kontrol ve standart örneğe (University of Hohenheim, Germany) göre düzeltilerek hesaplanmıştır. Menke gaz üretim tekniği kullanılarak belirlenmiştir (Menke ve Steingass, 1988). Metabolik enerji içeriği (MJ/kg KM) ve organik madde sindirim dereceleri (OMSD) Menke ve Steingass (1988) tarafından bildirilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$ME (MJ/kg KM) = 1.68 + 0.1418 GÜ + 0.073 HP + 0.217HY - 0.028HK$$

$$OMSD (\%) = 14.88 + 0.8893 GÜ + 0.448 HP + 0.651HK$$

Bu eşitliğe göre;

$$GÜ = (ml/200 mg) 24 saat sonundaki net gaz üretimi$$

$$KM = (\%) \text{ Kuru Madde}$$

HP = (%) Ham protein

HY = (%) Ham yağ

HK = (%) Ham kül

ME= (MJ) Metabolik Enerji

OMSD: (%) Organik madde sindirim derecesi

Yemlerin besin madde kompozisyonuna, *in vitro* gaz üretimine, metabolik enerji içeriğine ve organik madde sindirim derecesine olan etkisini araştırmak için varyans analizi (One-way ANOVA), ortalamaların karşılaştırılması ise çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey testi kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Yemlerin Kimyasal Kompozisyonları

Araştırmaya konu olan yemlerin kompozisyonları Çizelge 1’de verilmiştir. Görüldüğü gibi yemler arasında önemli derecede farklar bulunmuştur. Çizelge incelendiğinde yemlerin kompozisyonlarının literatür bildirişleri ile uyum içinde olduğu görülmektedir (Van Soest ve ark., 1991; Khazaal ve ark., 1993; Yılmaz 1995; Ocak 1997; Sarıçiçek ve Ocak 1997; Kutlu 2001; Bernard ve ark., 2002; Filya ve ark., 2002; Denek ve Deniz 2003; Abaş ve ark., 2005; Dale ve Battal 2005; Canbolat ve ark., 2013). Yemlerin KM içeriği %85.56 ile %93.60 arasında değişmiştir. En yüksek KM içeriği PTK’da en düşük KM içeriği ise mısır danesinde görülmüştür. Diğer yemlerin KM içeriği normal sınırlar içerisindedir. Bu da iyi bir kurutma dönemi geçirdiklerini göstermektedir.

Yem maddelerinin HP içeriği %2.48 ile %28.52 arasında değişmiştir. En yüksek protein içeriğine ATK sahip olurken en düşük protein içeriğine saman sahip olmuştur. Görüldüğü gibi protein kaynakları olarak bilinen ATK ve PTK protein bakımından oldukça zengin bulunmuştur. Diğer taraftan yonca kuru otunun protein içeriği (%17.03) oldukça yüksek olduğu ve önemli bir kaba yem kaynağı olmasının yanında protein kaynağı da olduğu görülmüştür. Protein bakımından kaba yemler arasında önemli varyasyonlar bulunmuştur. Kaba yemlerden yonca kuru otu en yüksek proteini içerirken, saman en düşük proteini içermektedir.

Yemlerin NDF içerikleri %23.11 ile %85.09 arasında değişmiştir. En yüksek NDF içeriğine saman sahip olurken en düşük NDF içeriğine mısır ve buğday daneleri sahip olmuştur. NDF bakımından yemler arasında yaklaşık 4 kat fark bulunmaktadır. Saman, yonca kuru otu ve mısır silajının NDF içerikleri sırası ile %85.09, %46.01 ve %58.11 olduğu görülmektedir. Protein yemlerinin NDF içerikleri ise %54.68 ile %59.10 arasında değişmiştir.

Genel olarak yemler karşılaştırıldığında ADF içeriği %2.64 ile %50.99 arasında değişmiştir. En yüksek ADF içeriği saman, en düşük ADF içeriğine buğday danesi sahip olmuştur. Görüldüğü gibi kaba yemler ADF bakımından en zengin yemler olmuştur. Bunun yanında PTK’nın da önemli miktarda ADF ve NDF içeriğine sahip olduğu görülmüştür.

Yemlerin yetiştirildiği bölgelerin iklimi, toprak yapısı, gübreleme, çeşit farklılıkları, hasat zamanı, küspelerin elde edilme yöntemleri, yemlere uygulanan işlemler, yemlerin saklanma koşulları gibi birçok faktör, yemlerin besin madde içeriklerinde değişikliğe neden olmaktadır (Akyıldız 1986; Kutlu, 2001; Şehu, 2002). Yemlerin besin madde içeriklerindeki farklılıklar; *in vitro* gaz üretimini, gaz üretim parametrelerini, bunlardan hesaplanan enerji değerlerini ve organik madde sindirim değerlerini önemli ölçüde etkilemektedir (Adesogan, 2002; Kamalak ve ark., 2004).

Çizelge 1. İğdır ilinde hayvan beslemede kullanılan bazı yemlerin kimyasal kompozisyonları

YEMLER	KM	HK	HP	HY	NDF	ADF
Mısır Dane	85.56d	1.37h	7.45e	4.37b	23.11d	3.54f
Buğday Dane	88.27bcd	2.13g	12.14d	2.25d	26.61d	2.64f
Arpa Dane	87.50bcd	2.97f	11.49d	1.53ef	42.56c	9.92e
Buğday Kepeği	85.64d	3.91e	14.84c	3.90b	41.52c	11.04e
Mısır Silajı	90.96abc	7.36c	6.46e	3.09c	58.11b	29.80d
Yonca	90.97abc	8.65b	17.03b	1.56e	46.01c	32.34cd
Saman	92.32ab	9.22a	2.48f	0.99e	85.09a	50.99a
ATK	86.70cd	6.83d	28.52a	0.88f	54.68b	34.01c
PTK	93.60a	7.21cd	18.08b	8.66a	58.11b	39.80b
SHO	1.434	0.133	0.453	0.187	1.571	0.920
ÖS	***	***	***	***	***	***

abc: Aynı üst simgeye sahip ve aynı satırda yer alan ortalamalar arasında fark yoktur. (P<0.05), SHO: Standard hata ortalaması, Ö.S, *** - P<0.001

Gaz Üretimi, Metabolik Enerjileri ve Organik Madde Sindirim Dereceleri

Araştırmaya konu olan yemlerin toplam gaz üretimi, metabolik enerjileri ve organik madde sindirim dereceleri Çizelge 2’de verilmiştir. Kullanılan yemlerin metabolik enerjileri ve organik madde sindirim dereceleri arasındaki farklar çok önemli (p<0.001) bulunmuştur.

İn vitro koşullarda gaz üretimi iki şekilde oluşmaktadır. Birincisi doğrudan yemlerde bulunan karbonhidratın fermantasyonu sonucu, ikincisi ise fermantasyon sonucu açığa çıkan uçucu yağ asitlerinin tampon çözelti ile reaksiyona girmesiyle oluşmaktadır (Getachew ve ark., 1998).

Toplam gaz üretiminde en fazla payı mısır danesi alırken (63.74 ml/0.2gr KM), bunu buğday danesi takip etmiştir (62.63 ml/0.2 gr KM). Toplam gaz üretiminde en düşük payı saman almıştır (24.52ml/0.2 gr KM). Menke ve Steingass (1988) yaptıkları bir çalışmada toplam gaz üretiminin HK ve NÖM ile ters ilişkili olduğunu bildirmiştir. Yani HK ve NÖM içeriği fazla olan yemlerin toplam gaz üretimi düşük olmaktadır. Çalışmamızda da görüldüğü gibi en düşük HK içeriğine enerji yemleri sahip olurken en yüksek TG içeriğine yine bu yemler sahip olmuştur.

Yonca kuru otunun 24 saatlik inkübasyon sonunda ürettiği gaz miktarı; 40.03 ml/0.2 gr KM olarak belirlenmiş ve Filya ve ark.’nın (2002) bildirdiği değerlerden biraz düşük bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda yonca kuru otu için saptanan ME değeri (8.62MJ/kg) literatür bildirişleriyle uyum içerisinde olduğu Hamilton’un (2005) bildirdiği (5.3-11.3 MJ/kg KM) Filya ve ark.’nın (2002) bildirdiği 9.85-10.56 MJ/kg KM), Kamalak ve ark.’nın (2004) bildirdiği (8.88-11.49 MJ/kg KM) değerler ile uyumluluk göstermiştir. Yonca kuru otunun OMSD ise %63.74 bulunmuş, literatür bildirişleri ile uyumluluk içerisinde. Yapılan çalışmalarda Kamalak ve ark. (2005) %59.15-66.33, Coşkun ve ark. (2005) %56.1, Abaş ve ark. (2005) %55.12-77.28 olarak bildirmişlerdir.

Mısır silajının 24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşturduğu gaz miktarı 45.00 ml/0.2 gr KM olarak saptanmıştır. Kamalak ve ark.’nın (2004) yaptıkları çalışmada mısır silajının 24 saatlik inkübasyon sonunda ürettiği gaz miktarını 60.83 ml/ 0.2 gr KM olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda mısır silajına ait ME değeri (8.71 MJ/kg KM); Kamalak ve ark.’nın (2005) bildirdiği (8.58-10.04 MJ/kg KM), Filya ve ark.’nin (2002) bildirdiği (9.92-10.58 MJ/kg KM), Kamalak ve ark.’nın (2004) bildirdiği (8.77-11.07 MJ/kg KM) Hamilton’un (2005) bildirdiği (5.0- 13.0 MJ/kg KM) değerler ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Yine mısır silajı için belirlenen organik madde sindirim değeri (%62.59), Filya ve ark. (2002) ve Kamalak ve ark.’nın (2004) bildirdiği (% 67.41-70.79 ve %72.76) değerlere benzer bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan samanın 24 saatlik inkübasyon sonunda ürettiği gaz miktarının diğer kaba yemlerden düşük olduğu görülmüştür (24.52 ml/0.2 gr KM). Görüldüğü gibi yemlerin içeriğindeki hücre duvarı unsurları olan ADF ve NDF miktarı arttıkça üretilen gaz miktarında azalma görülmektedir. Kullanılan samana ait ME değeri (5.68MJ/kg KM); Kamalak ve ark.'nın (2005) bildirdiği (7.04 MJ/kg KM) değerden düşük bulunmuştur. Buğday samanına ait organik madde sindirim değeri (%43.80), Kamalak ve ark.'nın (2005) bildirdiği (%46.21) değerden kısmen düşük bulunmuştur.

Selülozca zengin yemlerde OMSD'nin düştüğü bilinmektedir (Umucalılar ve ark., 2002; Robinson ve Getachew 2003). ADF değerlerinin kuru madde sindirilebilirliği ile ilişkili olduğunu ve yemlerin net enerji içeriklerinin belirlenmesinde kullanıldığını, Ronald ve Rex (1993) ise ADF'nin, lignin ve selüloz içermesi nedeniyle kaba yemlerin sindirilebilirliği ile yakından ilişkili olduğunu belirtmektedir. ADF içeriği benzer olan iki kaba yemden lignin içeriği düşük olan daha fazla sindirilebilirliğe sahip olup, ADF ve NDF'nin sindirilebilirliği %20-80 arasında olduğu, yemlerin olgunluk safhasına ve türüne göre bu oranın değiştiği bildirilmektedir (Ronald ve Rex 1993).

Mısır danesi için hesaplanan ME değeri (12.54 MJ/kg KM), Şeker'in (1994) bildirdiği (12.9 MJ/kg KM), Çerçi ve ark.'nın (2003) bildirdiği (12.3 MJ/kg KM), Abaş ve ark.'nın (2005) bildirdiği (10.80-14.75 MJ/kg KM), Hamilton'un (2005) bildirdiği (12.3-14.9 MJ/kg KM) değerler ile aynı doğrultudadır. Bu çalışmada kullanılan mısır danesine ait organik madde sindirim değeri ise (%75.43) literatür bildirişleri ile uyum içindedir. Mısır dane için organik madde sindirim derecesini Abaş ve ark. (2005) %69.87-92.48 arasında ve Şeker (2002) %71.99- 79.94 arasında saptamışlardır.

Çalışmamızda arpa dane yeme ait ME değeri (11.92 MJ/kg KM) Hamilton'un (2005) bildirdiği (8.6-13.5 MJ/kg KM) değerler ile aynı doğrultuda bulunmuştur. Arpa için ME değerlerini; Şeker (1994) 12.4 MJ/kg KM, Çerçi ve ark. (2003) 12.8 MJ/kg KM, Abaş ve ark. (2005) 10.16-14.08 MJ/kg KM olarak bildirmişlerdir. Arpa dane yemi için saptanan organik madde sindirim değeri (%77.00); Umucalılar ve ark. (2002) bildirdiği (%85.0) değerlerden kısmen düşük bulunurken, Abaş ve ark. 'nın (2005) bildirdiği (%66.1-89.82) değerler arasında kalmıştır.

Çalışmamızda kullanılan kesif yemlerden protein ek yemlerinin enerji yemlerinden daha az gaz üretimine sahip oldukları görülmektedir. Bitkilerde HP azalması ile karbonhidrat oranının artması (Hocking ve Meyer 1985) ve protein parçalanması ile açığa çıkan gaz miktarının, karbonhidrat parçalanması ile açığa çıkan gaz miktarından düşük olması (Wolin 1960; Scholfield 2000; Chenost ve ark., 2001) çalışmamızdan elde edilen sonuçları açıklamaktadır.

En fazla metabolik enerji miktarına mısır danesi sahip olurken en az metabolik enerji içeriğine saman sahip olmuştur. Yemlerin organik madde sindirim dereceleri %43.80 ile %77.57 arasında değişmiştir. Organik madde sindirim derecesi en fazla buğday danesinde bulunurken en az samanda bulunmuştur (Çizelge 2).

İn vitro gaz üretim tekniği verilerinden elde edilen ME, NEL ve OMSD'nin hesaplandığı eşitliklerde 24 saatlik gaz üretim miktarı ile aralarında doğrusal bir ilişki vardır. Bu nedenle 24 saatlik inkübasyon sonrasında oluşan gaz üretimi yüksek olan yemlerin OMSD de yüksek olmaktadır (Kılıç 2005). Nitekim çalışmamızda kullanılan kaba yemler arasında TG bakımından; YKO>MS>BS ilişkisi vardır. Buna bağlı olarak da aynı yemlerin aralarında ME ve OMSD bakımından YKO>MS>BS ilişkisi olduğu görülmektedir.

Açığa çıkan uçucu yağ asitlerinin miktarı veya konsantrasyonu üretilen CO₂ miktarını etkileyen en önemli unsurdur (Kamalak 2005). Bu çalışmada kullanılan enerji yemleri kolay sindirilebilir karbonhidratlar bakımından zengin oldukları için daha hızlı sindirilip daha fazla UYA oluşturmakta, dolayısıyla

daha fazla gaz üretmektedirler. Selülozca zengin kaba yemlerin sindirimi daha yavaş gerçekleştiği için birim zamanda daha az UYA ve gaz üretmektedirler.

Çizelge 2. İğdır ilinde hayvan beslemede kullanılan bazı yemlerin gaz üretim, organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri

Yemler	TG	ME	IVOMSD
Mısır Dane	63.74a	12.54a	75.43b
Buğday Dane	62.63a	12.23b	77.57a
Arpa Dane	62.42a	11.92c	77.00a
Buğday Kepeği	56.28b	10.74d	74.13b
Mısır Silajı	45.00c	8.71e	62.59c
Yonca	40.02d	8.62e	63.74c
Saman	24.52g	5.68g	43.80f
ATK	27.73f	7.60f	56.77d
PTK	30.54e	7.59f	54.83e
SHO	0.614	0.076	0.391
ÖS	***	***	***

abc: Aynı üst simgeye sahip ve aynı satırda yer alan ortalamalar arasında fark yoktur. (P<0.05), SHO: Standard hata ortalaması, Ö.S, *** - P<0.001

SONUÇ

Bu çalışmada ruminant hayvan beslemede yaygın olarak kullanılan bazı kaba ve kesif yemlerin *in vitro* gaz üretim tekniği ile besinsel değerleri, ME ve OMSD araştırılmıştır. Yemler arasındaki fiziksel ve kimyasal farklılıklar yemlerin *in vitro* gaz üretimini ve bu değerlerden hesaplanan ME, OMSD'ni önemli düzeyde etkilemiştir. Diğer taraftan enerji yemlerinin (mısır, buğday ve arpa danesi) protein ek yemlerinden (ATK ve PTK) daha yüksek gaz üretimi, ME içeriği ve OMSD sahip olduğu görülmektedir.

Bu yaptığımız çalışma *in vitro* koşullarda yapılmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda bu araştırmalar *in vivo* koşullarda yapılmalı ve *in vitro* koşullar ile karşılaştırılmalıdır.

Çalışmada elde edilen bulgular beslenmeye bağlı olarak rahatsızlıkların azaltılması bakımından uygun Rumen şartlarının sağlanması, maksimum mikrobiyal protein üretimi için uygun yem karmalarının oluşturulması için de kullanılabilir. Sonuç olarak baktığımız zaman İğdır ili hayvancılığında kullanılan kaba ve kesif yem kaynaklarının besin madde, *in vitro* gaz üretimi, ME ve OMSD bakımından genel olarak literatür düzeyleriyle benzerlik içerisinde olduğu tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma İğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2016-FBE-B07 bağımsız proje olarak desteklenmiştir. Çalışmamıza sağlamış oldukları desteklerden ve finansmandan dolayı teşekkür ederiz.

International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF 2017 Cappadocia / Turkey) May 15 - 17, 2017 tarihlerinde yapılan kongrede özet metin olarak yayınlanmıştır.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Abaş İ, Özpınar H, Kutay HC, Kahraman R, Eseceli H, 2005. Determination of metabolizable energy and net energy lactation contents of some feeds in the Marmara Region by *in vitro* gas technique. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29:751-757.
- Adesogan AT, 2002. What are feeds worth: A Critical evaluation of selected nutritive value methods. USA Proceedings 13. Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Florida, January 11-12, 2002, s:33-47.
- Akyıldız AR, 1986. Yem bilgisi ve teknolojisi (2. Basım). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 974, s.286, Ankara-Türkiye.
- AOAC 1990, Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th.edition. Washington, DC. USA. s.66-88.
- Bernard JK, West JW, Trammell DS, 2002. Effect of replacing corn silage with annual ryegrass silage on nutrient digestibility, intake, and milk yield for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 85:2277-2282.
- Canbolat Ö, Kara H, Filya İ, 2013. Bazı baklagil kaba ve kesif yemlerinin *in vitro* gaz üretimi, metabolik enerji, organik madde sindirimi ve mikrobiyal protein üretimlerinin karşılaştırılması. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 27(2): 71-81.
- Çerçi İH, Talıseven P, Azman MA, Birben N, 2003. Ruminant yemlerinin farklı *in vitro* yöntemlerle metabolize olabilir enerjinin belirlenmesi. Türkiye II Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 18-20 Eylül 2003, Konya.
- Chenost M, Aufrere J, Mscheboeuf D, 2001. The gas-test technique as tool for predicting the energetic value of forage plants. Animal Research, 50: 349-364.
- Coşkun B, Gülşen N, Umucalı HD, 2005. *Prangos ferulacea* (Helis)'in yem değeri üzerine bir çalışma. Türkiye III. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 7-10 Eylül 2005, Adana.
- Dale N, Battal A, 2005. Yem hammaddeleri besin değerleri. Feed stuffs reference issue & Buyers Guide, 76(38):16-22.
- Denek N, Deniz S, 2003. Ruminant hayvan beslemede yaygın olarak kullanılan kimi kaba yemlerin sindirilebilirlik ve metabolik enerji düzeyinin *in vitro* metotlarla belirlenmesi. Konya Türkiye II. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 18-20 Eylül 2003, Konya.
- Filya İ, Karabulut A, Canbolat Ö, Değirmencioğlu T, Kalkan H, 2002. Bursa bölgesinde yetiştirilen yem hammaddelerinin beslenme değerleri ve hayvansal organizmalarda optimum değerlendirme koşullarının *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle saptanması üzerine araştırmalar. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler Serisi, 25: 1-61.
- Getachew G, Blümmel M, Makkar HPS, Becker K, 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A Review. Animal Feed Science and Technology, 72: 261-281
- Hamilton, 2005. Nutritive characteristics of supplementary feeds used in the Victorian Dairy Industry non-forage supplements. <http://www.dpi.vic.gov.au/dpi/nrenfa.nsf> (Erişim Tarihi: 01.01.2020).
- Hocking PJ, Meyer CP, 1985. Responses of noogoraburr (*Xanthium occidentale* Bertol.) to nitrogen supply and carbon dioxide. Annals of Botany, 55:835-844.
- Kamalak A, 2005. Bazı kaba yemlerin gaz üretim parametreleri ve metabolik enerji içerikleri bakımından karşılaştırılması. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2).
- Kamalak A, Canbolat O, Erol A, Kılınc C, Kızıllı Ş, Ozkan, CO, Ozkose E, 2005. Effect of variety on chemical composition, *in vitro* gasp, metabolizable energy and organic matter digestibility of alfalfa hays. From <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/7/kama17077.htm> (Erişim Tarihi: 01.01.2020).
- Kamalak A, Canbolat O, Gurbuz Y, Ozay O, Ozkose E, 2004. Variation in metabolizable energy content of forages estimated using *in vitro* gas production technique. Pakistan Journal of Biological Sciences 7(4):601-605.
- Kamalak A, Gurbuz Y, Ozay O, Canbolat O, 2005. Prediction of dry matter intake and dry matter digestibilities of some forages using the gas production in sheep. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29: 1-7.

- Khazaal K, Dentinho MT, Riberio JM, Orskov ER, 1993. A comparison of gas production during incubation with rumen contents and nylon bag degradability as predictors of the apparent digestibility *in vivo* and voluntary intake of hays. *Animal Production*, 57: 105-112.
- Kılıç Ü, 2005. Ruminant beslemede kullanılan bazı yem maddelerinin *in vitro* gaz üretim tekniği kullanılarak bazı fermentasyon ürünlerinin ve enerji içeriklerinin belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Kutlu HR, 2001. Yemler bilgisi ve yem teknolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fak. Yayınları (Ders Notu) Adana. s. 279.
- Mehrez AZ, Orskov ER, 1977. A Study of artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *The Journal of Agricultural Science*, 88: 645-650.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding Stuffs from the Gas Production when they are incubated with Rumen Liqueur *in vitro*. *Journal of Agricultural Science*, 93: 217-222.
- Menke KH, Steingass H, 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal research and development*, 28:7-55.
- Ocak N, 1997. Ruminant beslemede kullanılan bazı yem hammaddelerinin ve kesif yem karmalarının korunmuş protein ve enerji değerlerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Orskov ER, Mc Donald, 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighed according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92: 499-503.
- Robinson PH, Getachew G, 2003. *In vitro* gas production of California feedstuffs. <http://animalscience.ucdavis.edu/faculty/robinson> (Erişim Tarihi: 01.01.2020).
- Ronald LB, Rex ER, 1993. Forages for cattle: New of determining Energy Content and evaluating heat Damage. <http://muextension.missouri.edu/xplor/agguides/dairy/g03150.htm> (Erişim Tarihi: 01.01.2020).
- Sarıçiçek BZ, Ocak N, 1997. Fındık küspesinin korunmuş (bypass) protein ve süt sığırı rasyonlarında kullanılabilme olanaklarının belirlenmesi. TÜBİTAK, VHAG1135'nolu proje kesin sonuç raporu. s 36.
- Scholfield P, 2000. Gas production methods. In: JPF, D'Mello (Editors), *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CAB International, Wallingford, s. 209- 232.
- Şehu A, 2002. Yemlerin tanımı, sınıflandırılması ve değerliliğini etkileyen faktörler. *Yemler Yem Hijyeni ve Teknolojisi*. S. 1-11.
- Şeker E, 1994. Ruminant beslemede kullanılan yemlerin enerji değerlerinin sindirim denemesi ve gaz testi ile belirlenmesi. Proje No: VHAG 884.
- Şeker E, 2002. The determination of the energy values of some ruminant feeds by using digestibility trial and gas test. *Revue de Medecine Veterinaire*, 153 (5): 323- 328.
- Tilly JMA, Terry RA, 1963. A two-stage technique for the digestion of forage crops. *The Journal of the British Grassland Society*, 18: 104-111.
- Umucalılar HH, Coşkun B, Gülşen N, 2002. *In situ* rumen degradation and *in vitro* gas production of some selected grains from Turkey. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 86: 288-297.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
- Wolin MJ, 1960. A Theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*, 43: 1452-1459.
- Yılmaz A, 1995. Ruminant beslemede kullanılan bazı yemlerin *in vivo* ve *in vitro* sindirilebilirlikleri arasındaki ilişkiler, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Başılmış).

Atf İçin: Topal E, Sarioğlu A, Oskay D, Balkanska R, Güneş N, Tunca Rİ, 2021. Arıcılıkta Bazı Biyoteknolojik Gelişmelere Bakış. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 3308-3323.

To Cite: Topal E, Sarioğlu A, Oskay D, Balkanska R, Güneş N, Tunca Rİ, 2021. A Summary of Some Recent Biotechnological Advancements in Beekeeping. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 3308-3323.

Arıcılıkta Bazı Biyoteknolojik Gelişmelere Bakış

Erkan TOPAL^{1*}, Aybike SARIOĞLU², Devrim OSKAY³, Ralitsa BALKANSKA⁴, Nazmiye GÜNEŞ⁵, Raşan İVGİN TUNCA⁶

ÖZET: Arıcılıktaki araştırmalar birçok bilim dalının ışığında yapılmakta olup biyoteknoloji bunlardan biridir. İklimde yaşanan değişimler, arıların beslenme ve besin kaynaklarını etkilerken, son yıllarda hastalık ve zararlıların giderek artması ve kimyasal ilaçlara karşı gerek arının gerekse de parazit ve patojenlerin direnç geliştirmeleri sebebiyle hastalık etmenlerine bu kimyasalların çare olamaması arıcılıkta biyoteknolojik çalışmalara yönelimi hızlandırmıştır. Hastalıklara dirençli / verimli arı ırklarının ve mevcut katkı maddelerinin geliştirilmesiyle birlikte, yeni yem kaynakları oluşturulmasına yönelik biyoteknolojik araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle dünyadaki gelişmelere uyum sağlamak sürdürülebilir arıcılık faaliyetleri açısından da oldukça önem taşımaktadır. Bu çalışmada bal arısı ve arıcılık sektöründe yapılmış bazı biyoteknolojik araştırmalar incelenerek bu alandaki gelişmelerin ortaya konulması ve yakın gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutulması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bal arısı, Mikroorganizma, Arı sağlığı, Biyokimya

A Summary of Some Recent Biotechnological Advancements in Beekeeping

ABSTRACT: Research in beekeeping is carried out in the light of many branches of science, and biotechnology is one of them. While the changes in the climate affect the nutrition and food resources of the bees, the increase of diseases and pests in recent years and the resistance of both bees and parasites and pathogens against chemical pesticides has accelerated the orientation to biotechnological studies in beekeeping. Many studies are being carried out to develop resistant / efficient bee breeds to improve existing additives and to create new food resources. Especially adapting to the developments in the world is essential to sustainable beekeeping activities. This review aims to reveal the developments in this field and shed light on the studies in the near future by examining some biotechnological research conducted in the honey bee and beekeeping sector.

Keywords: Honey bee, Microorganism, Bee health, Biochemistry

¹ Erkan TOPAL ([Orcid ID: 0000-0002-1398-4390](https://orcid.org/0000-0002-1398-4390)), Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Arıcılık Araştırma Merkezi, İzmir, Türkiye

² Aybike SARIOĞLU ([Orcid ID: 0000-0002-8287-6617](https://orcid.org/0000-0002-8287-6617)), Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Bursa/Türkiye

³ Devrim OSKAY ([Orcid ID: 0000-0002-3410-2780](https://orcid.org/0000-0002-3410-2780)), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Tekirdağ/Türkiye

⁴ Ralitsa BALKANSKA ([Orcid ID: 0000-0003-3486-1514](https://orcid.org/0000-0003-3486-1514)), Department of Special Branches – Bees, Institute of Animal Science, Kostinbrod, Spirka Pochivka 1, 2232, Bulgaria

⁵ Nazmiye GÜNEŞ ([Orcid ID: 0000-0002-8096-1316](https://orcid.org/0000-0002-8096-1316)), Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Bursa/Türkiye

⁶ Raşan İVGİN TUNCA ([Orcid ID: 0000-0003-0745-6732](https://orcid.org/0000-0003-0745-6732)), Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Ula Meslek Yüksek Okulu, Muğla/Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Erkan TOPAL, e-mail: topalerkan@tarimorman.gov.tr

GİRİŞ

Bilimsel gelişmelerden en önemlisi 20. yüzyılda biyoloji biliminde DNA'nın yapısının aydınlatılmasıdır. Gelişen teknolojinin ve metotların kullanıldığı çalışmaların sonuçları doğal yaşamı etkilediği gibi, aynı zamanda değiştirebilmektedir. Bu nedenle bilimsel platformlarda yeni yüzyıl biyoteknoloji yüzyılı olarak geçmektedir (Watson ve Crick, 1953; Erçetin, 1999; Kayıhan, 2018). Biyoteknoloji; tek veya çok hücreli canlıların, organ, doku veya hücreleri kullanılarak ekonomik değeri olan ürünlerin üretilmesini amaçlamaktadır (Scott, 1998; Gül, 2014). Başka bir ifade ile biyolojik materyaller kullanılarak doğal olarak var olmayan veya ihtiyacımız kadar üretilmeyen yeni ve sınırlı bulunan ürünlerin, mikrobiyoloji, biyokimya, moleküler biyoloji, immünoloji, protein mühendisliği, enzimoloji ve biyoproses teknolojileri gibi farklı bilim alanlarındaki yaklaşımların birleştirilerek gerçekleştirilmesidir. Son yıllarda özellikle genetik tekniklerin geliştirilmesiyle genetik materyallerin transferi ve ticari öneme sahip yeni metabolitlerin üretiminin optimizasyonu için uygun organizmaların varlığı biyoteknolojik uygulamalara hız kazandırmıştır (Gül, 2014). Multidisipliner bir bilim olan biyoteknolojinin; tıp, tarımsal faaliyetler, çevre ve endüstriyel biyoteknoloji gibi temel alanları bulunmaktadır. Bu alanların dünya pazarlarındaki durumuna bakıldığında; %77 gıda, %12 antibiyotik, %7 ilaç-kit ve %3 tarım sektörlerine ait biyoteknolojik ürünlerin olduğu görülmektedir (Kolankaya, 2000).

Tarımsal biyoteknoloji, bitki çeşitlerinin ve hayvan popülasyonlarının genetik iyileştirilmesi, bitki veya hayvan hastalıklarının teşhisi için gıda endüstrisinde ve tarımda kullanılan farklı teknolojileri temsil eder (Ruane ve Sonnino, 2011). Tarımsal biyoteknolojiye bakıldığında insanlığın ihtiyaçları doğrultusunda gen mühendisliği teknolojisi kullanılarak hastalıklara karşı dirençli, besin değeri daha yüksek ve lezzetli bitkilerin yanında; marjinal toprak ve iklim koşullarında yaşayabilen ve daha fazla ürün verebilen çiftlik hayvanları üretilmesi amaçlanmaktadır. Verimliliği arttırmaya yönelik olarak biyoteknoloji uygulamaları ile birlikte katkı maddesi kullanımı da oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Diğer yandan genetik yapısında değişikliğe uğramış bu ürünlerin insan ve çevre sağlığı açısından bir risk oluşturabileceğine yönelik görüşler artmaktadır. Günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde toplum bilincinin insan ve çevre sağlığına yoğunlaşması ve doğal ürün kullanımına yönelmesi organik üretimin önemini arttırmıştır (Yeşilbağ, 2004; Di Gioia ve Biavati, 2018).

İlk biyoteknolojik çalışmalar M.Ö. 6000 yıllara dayanan bir süreçte fermente ürünlerin elde edilmesiyle başlamıştır. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte özellikle yaklaşık son iki yüz yıl içerisinde mikroorganizmaların ikincil ürünü olan organik asitler, antibiyotikler, enzimler ve çeşitli proteinler elde edilmeye başlanmıştır. Hayvancılıkta biyoteknolojinin kullanılması sonucu transgenik hayvanların üretimine geçilmiştir. İstenilen özellikler yönünden genetik olarak üstün hayvanlar elde etmek için yapay tohumlama, embriyo transferleri ve embriyo veya hücre çekirdeğine mikro injeksiyon ile gen transferi ve klonlama teknikleri kullanılmıştır. Değişik organizmalara ait genlerin bireysel olarak farklı organizmalara transfer edilebilmesi ve çalıştırılması, biyoteknolojinin bir endüstri kolu haline gelmesine yol açmıştır (Woyke, 1962; Sağırkaya, 2009; Cobey ve ark., 2013; İnanç ve Daşkın, 2015). Arıcılıkta yeni bilgilerin sektöre katkısı, hızlı gelişim ve değişim ile kendini göstermektedir. Teknolojideki hızlı değişim ve hızla gelişen biyoteknolojik çalışmaların son beş yıl içerisinde arıcılık sektöründeki bazı yansımaları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Arıcılıkta Yapılan Bazı Teknolojik ve Biyoteknolojik Uygulamalar

Uygulama alanı	Uygulama	Uygulama materyali	Kaynaklar
Moleküler biyoloji	Tür tanımlama, genomik, metagenomik	Arı, bal	Schmehl ve ark., 2014; Syromyatnikov ve ark., 2018; Utzeri ve ark., 2018; Gebremedhn ve ark., 2020
Genetik	Popülasyon genetiği, gen ekspresyonu	Arı	Saelao ve ark., 2020; Wu ve ark., 2020
Mikrobiyoloji	Yem (Mikroalg), bağırsak mikroorganizması, <i>Snodgrassella alvi</i>	Arı	Ricigliano, 2020; Tola ve ark., 2020; Leonard ve ark., 2020
Fizyoloji	Metilenkolesterol, bağışıklık	Arı	Kunc ve ark., 2019; Chakrabarti ve ark., 2020
Biyokimya	Kimyasal kuluçka sinyalleri, yağ asitleri ve keton madde	Arı	Wagoner ve ark., 2019; Lee ve ark., 2020
Üreme biyoteknolojisi	Yapay tohumlama	Arı	Gabka ve Cobey 2018
Bilgisayar mühendisliği	Ses sistemi, hava ölçer vb, morfolojik yazılım	Kovan, Arı kanadı	Nawrocka ve ark., 2018; Su ve ark., 2020; Braga ve ark., 2020

Özellikle biyoteknolojideki son gelişmeler, genetiği değiştirilmiş ürün ve uygulamalarla karşımıza çıkmaktadır (Schulte ve ark., 2014). Genetiği değiştirilen ürünlere karşı duyulan güvensizlik ve tüketilmesi neticesinde ortaya çıkacak sonuçların bilinmiyor olması, yakın zamanda birçok tartışmayı ve biyogüvenliği de beraberinde getirmektedir (Winston, 2003; Çetiner, 2011; Pinheiro ve Faria, 2020). Genetiği değiştirilen ürünlerin bal arılarına etkilerini belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır (O'Brien ve Arathi, 2018; Yuanyuan ve ark., 2019). Oluşabilecek riskler tüketicileri bu ürünlerden uzak tutabilmektedir.

Arıcılıkta biyoteknolojik çalışmalardan temel alanları içeren ıslah, yem katkıları, üreme, biyokimya ve moleküler genetik konularındaki ilgili gelişmeler aşağıda verilmektedir.

Biyoteknoloji Temelli Islah Çalışmaları

Hayvanların genetik yapılarının iyileştirilmesi ile sağlanan hayvan ıslahı ve hayvansal ürünlerin artırılması çalışmalarında uygulanan metotlar kontrollü çiftleştirme ve seleksiyondur. Bu metotlar, biyoteknolojinin hayvan ıslahındaki ilk uygulamaları olarak değerlendirilebilir. Zamanla suni tohumlama, süperovulasyon ve embriyo transferi tekniklerinin uygulamaya konulması ile hayvan ıslahı çalışmaları önemli bir ivme kazanmıştır (Alpan, 1989). Arıcılığa baktığımızda son yıllarda hastalık ve zararlıların artması nedeniyle verim yönlü ıslahın yerine hastalıklara dirençli veya toleranslı bal arısı ırklarının geliştirilmesine yönelik çalışmalar ağırlık kazanmaktadır. Özellikle bu hastalık ve zararlılara karşı çözüm olarak kullanılan kimyasallara karşı parazit ve patojenlerin kendi varlıklarını sürdürmek için direnç geliştirmeleri sebebiyle hastalık etmenlerini ortadan kaldıramaması yanında kalıntı sorununu da beraberinde getirmektedir. Son zamanlarda sürdürülebilir arıcılığa yönelik *Varroa*, *Nosema*, yavru çürüklüğüne karşı dirençli hatların geliştirilmesine yönelik çalışmalar, yönetim planlamaları (Spivak ve Reuter, 2001; Villa ve ark., 2009; Huang ve ark., 2012; Huang, 2013; Kurze ve ark., 2015; Locke ve ark., 2019; Oskay ve ark., 2019; Kovacic ve ark., 2020; van Alphen ve Fernhout, 2020) ve uygulamalar (Lodesani ve ark., 2019) yapılmaktadır. Hijyenik davranış özelliğine yönelik çok sayıda çalışmalar yürütülmektedir (Bak ve ark., 2010; Kekeçoğlu, 2015; Kirrane ve ark., 2015). Özellikle *Varroa destructor*, Avrupa bal arısı kolonilerini tehdit etmeye devam etmektedir. Genel hijyen ve daha spesifik

Varroa Hassas Hijyen (VSH) davranışı *Varroa* akarına karşı direnç sağlamaktadır (Kirrane ve ark., 2015).

Varroa akarının yayılmasını önlemek için ümit verici yaklaşımlar, dirençli bal arıları yetiştirmek ve bal arısı işçilerinin genel olarak kuluçka hastalıklarına karşı davranışsal bir tepkisi olan hijyenik davranıştır. Yürütülen çalışmada bireysel işçi arılar tarafından *Varroa* ile parazitlenmiş yavruların tespiti ve yavru gözlerinden çıkarılmasıyla ilişkili SNP'lerin etrafındaki genomik bölgeler analiz edilmiştir. Bu çalışma için, 22 000 ayrı ayrı etiketlenmiş arı videosu izlenmiş ve 122 vaka ile 122 kontrolden oluşan bir örnek toplanarak SNP genotiplerinin hijyenik ve hijyenik olmayan davranıştan genom çapında bir ölçekte bağımlılığı / bağımsızlığı belirlemek için analiz yapılmıştır. Sonuç olarak 6 SNP işaretçisinin, araştırılan özellik ile oldukça önemli ilişkilere sahip olduğu bildirilmiştir ($\alpha < 0.01$). Bu SNP'lerin etrafındaki genomik bölgelerin incelenmesi, varsayılan aday genlerin keşfedilmesine yol açmıştır (Spötter ve ark., 2016). Lazarov ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı hijyenik davranışa sahip (oldukça hijyenik, hijyenik ve hijyenik olmayan) bal arısı kolonileri için MDH-1 ve Est-3 lokusları için allel frekansları, polimorfizm seviyeleri ve heterozigotluk seviyelerindeki farklılıkları araştırmışlardır. Sonuçlar, bal arılarıyla gelecekteki seçim için kullanılacak hijyenik davranış ve alloenzim özellikleri arasındaki ilişkileri gösteren yeni bilgiler sunmaktadır.

Yem Katkı Maddeleri Çalışmaları

Özellikle besin değeri iyileştirilmiş yem katkı maddeleri (pre-probiyotik) ile hayvanların performansının artırılması, birim hayvandan elde edilen ürün miktarının artırılması ve hayvan sağlığının iyileştirilmesi biyoteknolojik uygulamaların ana hedeflerindedir (Özcan ve Ayaşan, 2009; Ptaszynska ve ark., 2016; Alberoni ve ark., 2018; Fanciotti ve ark., 2018). Faydalı bakteri takviyesinin *Apis mellifera* L.'nin bağırsak mikrobiyotası, koloni gelişimi ve üretkenliği üzerindeki etkisini belirlemek için, dört hafta boyunca açık alanda bulunan bir arı kovanının çerçevelerine arı bağırsağından izole edilen bifidobakteri ve laktobasil içeren şeker şurubu preparatı haftada bir uygulanmıştır. Sonrasında koloniler kuluçka süresi, bal ve polen verimleri için iki ay boyunca takip edilmiştir. Uygulanan bakterilerin, kuluçka popülasyonunda (%46.2), polenlerde (%53.4) ve hasat edilebilir balda (%59.21) önemli bir artışa neden olduğu bildirilmiştir (Alberoni ve ark., 2018). Farklı bir çalışmada ticari bir ürün olan *Lactobacillus salivarius* A3iob'un bal verimi üzerindeki etkisini belirlemek için yürütülen çalışmaya göre floral kaynakların etkisi olsa da bal veriminde artış sağladığı bildirilmiştir (Fanciotti ve ark., 2018).

Prebiyotik ve probiyotik yem takviyesi, işçi bal arılarının balmumu bezleri üzerinde etkilidir. Hem laktik asit hem de probiyotik bir ürünle beslenen arı kolonileri, saf şeker şurubu ile beslenen kontrol grubuna kıyasla daha iyi bir balmumu hücre gelişimine sahiptir (Patruica ve ark., 2012).

Prebiyotik ürünlerin (laktik ve asetik asit) ve probiyotik ürünlerin (Enterobiotik: *Lactobacillus acidophilus* LA-14 ve *Bifidobacterium lactis* BI-04) etkilerine ilişkin çalışmada; deney grubu koloniler, katkı maddelerini farklı dozajlarda içeren şeker şurubu ile beslenmiştir. Üç hafta sonra işçi arı bağırsakları üzerinde histolojik sonuçlara göre bağırsak gelişiminin, besinlerin emilimi ve aktif mevsimde arı kolonilerinin iyi gelişimi ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (Patruica ve ark., 2013).

Lactobacillus rhamnosus (ticari probiyotik) ve inülinin (prebiyotik) *Nosema ceranae* ile enfekte olmuş ve enfekte olmamış bal arılarının hayatta kalma oranları, fenoloksidaz (PO) aktivitesi seviyesi ve nosemoz seyri üzerindeki etkisini araştırmak için bir çalışma yürütülmüştür. Yalnızca 2 µg/mL'lik bir konsantrasyonda takviye edilen inülinin, bal arılarının hayatta kalmasını, PO aktivitesini veya nosemoz enfeksiyon seviyesini önemli ölçüde etkilemediği bildirilmiştir. Özellikle, bal arılarının diyetinin yanlış seçilmiş probiyotikler veya hem probiyotikler hem de prebiyotiklerle takviyesinin, nosemoz gelişimini engellemeyeceği, arının bağırsaklık sistemlerini bozabileceği ve arı ölüm oranını önemli ölçüde

artırabileceği ifade edilmiştir (Ptaszynska ve ark., 2016). Başka bir çalışmada ticari probiyotik karışımı *Nosema* spp. enfeksiyon düzeyleri ve kolonilerin gücüne bağlı olarak arı sağlığını koruma amacı ile kullanılmıştır. Probiyotik karışım, çok sayıda laktik asit bakterisi, maya ve fotosentetik bakteri türü içerir. Bal arısı koloni gücü açısından kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ($p < 0.001$) belirlenirken *Nosema* sporu sayılarında azalma tespit edilmiştir (Tlak Gajger ve ark., 2020).

Protein ve enerji dengesi sağlanmış ikame yemler kullanıldığında işçi arıların yaşam uzunluğunun arttığı, büyüme, gelişme, davranış ve yaşam uzunluğunu etkileyen genlerin (*AmILP-1*, *BRP*, *Vg*) gen ekspresyon seviyeleri yaşa ve farklı besin diyetlerine göre değişim gösterdiği rapor edilmiştir (Koru, 2018). Kışlık gıda olarak bal, sukroz ve yüksek fruktozlu şurup ile beslenen bal arılarında baskın bakteri topluluklarının sayısının etkilendiği ve bunun da kışlama sırasında bal arısı kolonilerinin sağlığını ve güvenliğini etkilediği bildirilmiştir. Sakkaroz ile beslenen bal arılarının bağırsaklarında *Alphaproteobacteria*, *Bifidobacteriales* ve *Lactobacillaceae*'nin varlığı ve baldan daha ucuz olması nedeniyle, sukrozun bal arıları için kışlık besin olarak daha uygun olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2020).

Üreme Faaliyetleri Üzerine Çalışmalar

Modern hayvan yetiştirme yöntemlerinin arılara aktarılması, arıcılığın biyolojik, çevresel ve endüstri ile ilgili gerçeklerinden dolayı zor olabilmektedir. Serbest çiftleşme nedeniyle soyağacının olmaması ve genetik ilerlemenin sağlanamaması nedeniyle modern bal arısı yetiştirme programları uygulanmaya başlanmıştır. Böylelikle kontrollü çiftleştirme ya da yapay tohumlama ile istenen genetiğe bağlı özellikleri içinde bulunduran bal arısı kolonilerinin oluşturulması ile sektörün ihtiyaçları karşılanmaktadır (Petersen ve ark., 2020). Bal arısı kolonilerinde bulunan ana arılar hayatları boyunca sadece bir kez havada uçarken ortalama 10-20 erkek arı ile çiftleşirler (Tarpay ve Nielsen, 2002). Bu nedenle; ana arının hangi kovanda bulunan erkek arıyla çiftleştiğini bilmek çok zordur. Bilimsel araştırmalarda ve ıslah çalışmalarında genetik kontrolü sağlayabilmek için üreme biyoteknolojisi alanının konusu olan yapay tohumlama tekniğinden yararlanılır. Teknik; enjeksiyon yardımıyla erkek arılardan toplanan spermin iğne ve karın kancaları yardımıyla ana arının üreme organına enjekte edilmesi üzerine kuruludur. Yapay tohumlama tekniği 1927 yılından itibaren dünyanın çeşitli ülkelerinde bal arısı ile ilgili araştırmalarda ve ıslah çalışmalarında başarılı olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde Muğla arısının (*A.m. anatoliaca*) hijyenik davranışının geliştirilmesi üzerine yapılan ıslah programlarında yapay tohumlama tekniği başarıyla kullanılmıştır (Oskay ve ark., 2019). Yapay tohumlama tekniğinin uygulanması; ana arıların yetiştirilmesi, tuzlu su çözeltisinin hazırlanması, erkek arılardan spermin toplanması, ana arının anestezisi, spermin ana arının üreme organına enjeksiyonu, koloniye kabul ettirilmesi ve yumurtlamaya başlaması basamaklarından oluşur (Cobey ve ark., 2013). Yapay tohumlama tekniği sayesinde doğada olmayan bir erkek arıda bulunan sperm ile birden fazla ana arının döllenmesi ya da yüzlerce erkek arıdan toplanarak oluşturulan havuzdaki spermler ile birçok ana arının döllenmesi sağlanabilir. Yapay tohumlama ile birlikte bal arısı spermasının depolanabilirliği üzerinde çalışmalar da 1960'lı yıllarda başlamıştır. Günümüzde, bal arısı sperması taze olarak 16°C'de 2 hafta gibi bir süre canlı olarak muhafaza edilebilmektedir. Dondurma işleminde ise tam bir başarı elde edilmiş değildir. Günümüzde depolanmış sperma ile döllenmiş ana arılarda %50'nin üzerinde işçi arı oranı elde edilmesine rağmen, spermanın saklanması konusunda metodların geliştirilmesi üzerine araştırmaların devam etmesi gerekmektedir (Gül ve Ceylan, 2016).

Son zamanlarda erkek arı semeninin saklanmasıyla ilgili çalışmalar yürütülmektedir (Harbo, 1977; Taylor ve ark., 2009; Hopkins ve Herr, 2010; Wegener ve ark., 2014a; Wegener ve ark., 2014b; Dadkhah ve ark., 2016; Gül ve ark., 2017; Paillard ve ark., 2017; Alcay ve ark., 2019a; Mills, 2019; Nur

ve ark., 2020). Sperm kriyoprezervasyonu kullanımındaki artış, suni tohumlamanın yalnızca evcil hayvanlar için değil, memeli olmayan türler ve insanlar için de kullanılmasını daha pratik hale getirmiştir. Dimetil Sülfoksit (DMSO), bal arısı erkek arı spermasını dondururken koruyan, en sık kullanılan kriyoprotektandır. Dondurmada en kritik nokta olan donma-çözülme süreci, eritme sonrası erkek arı meni canlılığı için zararlıdır (Nur ve ark., 2020). Erkek arı spermasının çözülme sonrası kalitesinin korunabilmesi için sığır serum albümini takviyeli TL-Hepes bazlı sulandırıcıların, eritme sonrası erkek arı semen parametreleri üzerinde faydalı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Alcay ve ark., 2019b).

Farklı bir çalışmada kriyoprotektanların erkek arı spermatozoasının çözülme sonrası semen motilitesi ve plazma membran bütünlüğü üzerindeki etkisini değerlendirmek için toplanan semen, iki aşamalı bir seyreltme kullanılarak %0 kriyoprotektan (kontrol), %6 gliserol, %6 Etilen Glikol, %6 1.2 propandiol veya %6 DMSO içinde 1/5 nihai konsantrasyona seyreltilmiştir. Mevcut çalışmanın erime sonrası sperm motilitesi ve plazma membran bütünlüğü, kontrol, gliserol, etilen glikol, 1.2 propandiol ($P < 0.05$) ile ilgili olarak sperm DMSO'da dondurulduğunda önemli ölçüde daha iyi olduğu bildirilmiştir (Alcay ve ark., 2015).

Biyokimyasal Çalışmalar

Arı yetiştiriciliğinde diğer sosyal ve kalabalık böceklerde olduğu gibi yakın temasta yaşayan canlıların hastalıklara karşı daha dirençli hale gelmesi ve oluşan hastalıklara karşı tedavilerin geliştirilmesinde birçok biyokimyasal yöntemden faydalanılmaktadır (Cremer ve Armitage, 2007; Möckel ve ark., 2011). Bal arılarının parazitlere ve patojenlere karşı duyarlılığı ve yayılma hızı önemli ölçüde koloni kayıplarına yol açmıştır (Kearns ve ark., 1998; Anderson ve Trueman, 2000; Aizen ve ark., 2008; Wilfert ve ark., 2016). Özellikle *Varroa* ektoparazitleri arıcılık için büyük bir sorun olmasına rağmen bu paraziti kontrol altına almak için yapılan çalışmalardan henüz etkili bir çözüm bulunamamıştır (Dietemann ve ark., 2012). *Varroa* popülasyonlarını azaltmak için kullanılan kimyasallar arılar için zararlıdır ve akarların hızlı direnç gelişimi nedeniyle yalnızca geçici olarak etkilidir (Sammataro ve ark., 2005; Rosenkranz ve ark., 2010). *Varroa* ile mücadelede en umut verici stratejilerden biri olan, Minnesota hijyenik (HYG) ve *Varroa* hijyenik davranış (VSH) gösteren kolonilerde dahil olmak üzere hastalığa dirençli bal arılarının seçilerek yetiştirilmesidir (Wagoner ve ark., 2020). Hijyenik davranış, hastalıklı yavruların (larva veya pupa) kovandan tespit edilmesi ve çıkarılmasıdır (Steinhauer ve ark., 2014; Lee ve ark., 2015; Kulhanek ve ark., 2017) ve en yaygın olarak 15 ila 20 günlük işçi arılarda görülmektedir (Seitz ve ark., 2016). HYG arıları, dondurularak öldürülmüş arıların hijyenik olarak uzaklaştırılmasına dayalı olarak seçilirken (VanEnglesdorp ve ark., 2008), VSH arıları, akar üremesini belirgin şekilde bastırmalarına göre seçilmektedir (Harris, 2007). Bal arısı hijyenik davranışını ortaya çıkaran doğal kimyasal sinyalin belirlenmesinin, iyileştirilmiş hijyenik seçim araçlarının geliştirilmesinde ve dolayısıyla parazitli ve hastalıklı yavruların daha fazla uzaklaştırılması yoluyla bal arısı sağlığının iyileştirilmesinde faydalı olabileceği öne sürülmüştür (Wagoner ve ark., 2019).

İnspekt kütikülleri, hidrokarbonlar, balmumu esterleri, gliseritler, serbest yağ asitleri, steroller, aldehitler ve alkoller dâhil çeşitli lipitlerle kaplıdır (Blomquist ve Bagnères, 2010). Bal arılarında kütiküler bileşikler tipik olarak hidrokarbonlar, özel olarak alkanlar, alkenler ve metilalkanlardan oluşur (Francis ve ark., 1985; Annoscia ve ark., 2012). Doymuş hidrokarbonların, kurumaya karşı direnç sağlamak için olduğu düşünülürken (Gibbs, 1998), metil dallı ve doymamış hidrokarbonların böcek kütikülleri üzerinde, tür içi ve türler arası iletişim gibi işlevlere hizmet ettiği tahmin edilmektedir (Hefetz, 2007). Bal arısı kolonisinde yaygın bal arısı stres etkenlerine tepki olarak oranı önemli ölçüde

artan iki alkan, dört metilalkan ve dört mono doymamış alken olmak üzere on kimyasal belirlenmiştir (Wagoner ve ark., 2019). Salvy ve ark. (2001) ise *Varroa* ile parazitlenmiş larvaların daha yüksek miktarlarda tritriacontene ve hentriacontene içerdiğini bulmuştur. Benzer şekilde Nazzi ve ark. (2004), *Varroa* istilasına yanıt olarak kısa zincirli alkenler pentadecene ve heptadecene 'de bir artış bildirmiş ve en az bir pentadecene izomerinin olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, kütiküler kimyadaki stres etkeni kaynaklı farklılıkların bal arısı yavrularının hasara bağlı olarak uzaklaştırılmasına yol açtığı fikrini desteklemektedir (Wagoner ve ark., 2019). Yapılan çalışmalar, bal arısı kuluçkasındaki kütiküler hidrokarbonların bileşimi üzerindeki Deforme Kanat Virüsü (DWV) ve *Varroa* istilasının önemli etkilerinin kanıtlarını sağlamış (Aumeier ve ark., 2001; Schöning ve ark., 2012) ve bu değişiklikleri hijyenik uzaklaştırmayla ilişkilendirmiştir (Salvy ve ark., 2001; Schöning ve ark., 2012).

Wagoner ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada stresli bal arısı kuluçka ve hijyenik davranışıyla ilişkili iki hidrokarbonun hijyenik etkileri araştırılmış Z6-C15 ((Z)-6-pentadecene) ve Z10-C33'ün (Z-10-tritriacontene) kuluçka sağlığından bağımsız olarak bal arısı hijyenik davranışını tetikleyeceği hipotezi test edilmiştir. Bu iki hidrokarbon, önceki çalışmalarda bal arısı stresörleri (parazitler ve virüsler) ile hijyenik davranış arasındaki ilişki esas alınarak seçilmiştir (Salvy ve ark., 2001; Schöning ve ark., 2012). Bal arısı kuluçkasında doğal olarak bulunmayan bileşiklerin, işçiler tarafından "yabancı" olarak algılanabileceği, kuluçka hücrelerinde veya kuluçka hücre kapaklarında tespit edildiğinde bir tür kapak açma ve/veya çıkarma davranışına yol açabileceği öne sürülmüştür (Wagoner ve ark., 2019). Hijyenik davranış, doğal olarak oluşan doğal kimyasalların miktar ve oranlarındaki değişiklikler yoluyla intraspesifik sinyaller (feromonlar) tarafından da uyarılabilir (Wagoner ve ark., 2020). Z10-C33 ve Z6-C15 hidrokarbonlarının, kuluçka veya kapalı kuluçka hücrelerine uygulandığında hijyenik davranışı uyardığını gösteren çalışmalar da yapılmıştır (Wagoner ve ark., 2019).

Bu moleküllere ek olarak β -okimen ve oleik asit, sıvı nitrojenle dondurularak öldürülmüş bal arısı yavrularından salınır ve hijyenik davranışı ortaya çıkarmak için kullanılabilir (McAfee ve ark., 2018). Bununla birlikte, β -okimen, sağlıklı larvalar tarafından beslenmeyi istemek için üretilir (He ve ark., 2016) ve oleik asit, genel bir böcek nekromonudur (Wilson ve ark., 1958; Rollo ve ark., 1994). Çok sayıda bakıcı arı tarafından tespit edilmesi daha kolay olduğu için *Varroa* savunmasını artırabilir (Gramacho ve Spivak, 2003). Akar istilasına uğramış kuluçka için yok etme oranları, dondurularak öldürülmüş kuluçka için daha düşük olduğundan (Boecking ve Drescher, 1992; Spivak ve Downey, 1998), hijyenik davranışı ortaya çıkaran koku alma sinyalinin canlı kuluçkada, ölü kuluçkadan daha düşük olduğu anlaşılmıştır (Spötter ve ark., 2012). Bu, stres altındaki canlı kuluçka tarafından salınan hentriacontene ve tritriacontene'a göre ölü kuluçka tarafından salınan β -okimen ve oleik asidin daha yüksek yayılımı olduğunu ortaya çıkarmaktadır (McAfee ve ark., 2018). Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, stres faktörlerinin bal arısı kuluçka kütikül hidrokarbonlarını (CHC) etkilediğini ve çeşitli stres faktörlerine yanıt olarak kuluçka CHC'lerindeki değişikliklerin, koloniye bağlı bir şekilde hijyenik davranışın ortaya çıkmasına katkıda bulunduğu fikrini desteklemektedir. Hijyenik temizleme, hedeflenen kuluçka için ölümcül olduğundan, hijyenik sinyallerin iyi lokalize olmasının sağlıklı yavruların kazara çıkarılma olasılığını azalttığı bildirilmiştir (Wagoner ve ark., 2019). Aynı çalışmada buna ek olarak, bir haşere veya patojenin bulunduğu genel alana hijyenik davranış sergileyen bakıcı arıları çekmek için ek uçucu sinyallerin kullanılmasının yararlı olabileceği önerilmiştir.

Moleküler Biyoloji Çalışmaları

Genomik çalışmalar polinatörler konusunda katkı sağlarken, popülasyon genomiği risk altındaki veya dirençli popülasyonları tanımlamak için kullanılabilir. Transkriptomik çalışmalar, arı

sağlığını tehdit eden birçok stres faktörünü ve arıların bu stres faktörleriyle savaştığı karmaşık mekanizmaları ortaya koymaktadır. Metagenomik, arıların etkileşime giren çeşitli ve karmaşık mikroorganizma topluluklarını karakterize etmek ve arıların yiyecek arama tercihlerini ve beslenme gereksinimlerini keşfetmek için yüksek verimli bir strateji sağlayabilir. Bu yaklaşımlar bir araya getirildiğinde, dirençli özellikler için seçim, hızlı ve kapsamlı teşhis yaklaşımları, diyet probiyotiklerinin geliştirilmesi veya hedeflenen floral alanlar yoluyla arı sağlığını iyileştirmek için kullanılacak bir omik araç seti oluşturabileceği ve arı direncini artırmak için potansiyel genetik modifikasyonlar yapılabileceği bildirilmektedir (Chapman ve ark., 2008; Maleszka, 2008; Schmehl ve ark., 2014; Galbraith ve ark., 2015; Galbraith ve ark., 2018; Regan ve ark., 2018; Rittschof ve ark., 2019; Avalos ve ark., 2020; Grozinger ve Zayed, 2020).

Batı Avustralya'da hastalık ve diğer nedenlerle kapalı bir popülasyon ıslah programı oluşturulmuştur. 25 yıllık seçici yetiştirmeye rağmen, üreme popülasyonunun hatırı sayılır genetik çeşitliliği koruduğu belirlenmiştir. Batı Avustralya bal arılarının, iki alt türden kaynaklanan üç mitotip gösterdiği bildirilmiştir (Chapman ve ark., 2008). Türkiye bal arısı popülasyonunu temsil eden yedi farklı bölgeden 23 popülasyonun 25 mikrosatellit lokus bakımından tanımlanması yapılmış, bu popülasyonların yetiştirildikleri coğrafyagöz önüne alınarak beş ana bölgede sınıflandırılmıştır (Yıldız ve ark., 2010). İspanya'da İber bal arılarının genetik yapısını ortaya koymak için dokuz bölgeden 362 işçi arı örneği alınarak 10 mikrosatellit lokus analiz edilmiştir. Allellik çeşitlilik birkaç lokusta oldukça yüksek iken, heterozigotluk değerleri Afrika ve Batı Avrupa popülasyonları arasında bulunmuştur. İber bal arısının uyum sağladığı bir bölgenin olduğu ve göçer arıcılık ile genetik homojenleşme olacağı, bal veriminin artacağı ama ilerleyen süreçte yok olma riski ile karşı karşıya kalacağı bildirilmiştir (Canovas ve ark., 2011).

Bal arısı sağlığı, çevrenin, konakçı genetiğin ve ilgili mikroorganizmaların (ortak, fırsatçı ve patojenik) karmaşık bir sonucudur. İngiltere'nin dört bir yanından 19 bal arısı kolonisinin genomlarını ve metagenomlarını karakterize etmek için DNA dizilimi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre bal arılarıyla ilişkili mikrobiyal topluluklara ışık tutulmuş ve tarımsal ekosistemlerdeki yeni biyolojik tehditleri belirlemek için yüksek verimli, yönlendirilmiş metagenomiklerin gücünü gösterdiği bildirilmiştir (Regan ve ark., 2018).

Bal arılarının beslenme ve pestisit maruz kalması sonucu, işçi arılarda detoksifikasyon, davranışsal olgunlaşma, bağışıklık ve beslenmeyle ilgili genler dahil 1118 transkriptte önemli değişiklikler tespit edilmiştir. Yine pestisitlere ve polen içeren diyetlere transkripsiyon düzeyinde yanıtlarda önemli bir benzerlik bulunmuş, polen bazlı diyetlerin işçilerin pestisit duyarlılığını azalttığı göstermiştir. Bu nedenle, bal arılarına ve diğer tozlayıcılara kaliteli beslenme sağlamanın, arıların pestisitlere karşı direncini artırabileceği bildirilmiştir (Schmehl ve ark., 2014).

Bal arısı kolonisi savunması, bireysel agresif tepkiler sonucu oluşan bir özelliktir. Arılarda bireysel genotip, koloni allel sıklığı ve saldırganlık arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmada, koloni düzeyinde savunma yanıtının, nedensel genomik bölgeleri tanımlamak için kullanılacak bir şekilde koloni düzeyinde allel frekansı ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Hem bekçi hem de tarlacı arılarda çok benzer allel frekansı korelasyonları gözlemlendiği, fakat arıların sokma konusundaki ölümcül kararı almada grup genetiğinin bireysel genetikten daha önemli olduğu rapor edilmiştir (Avalos ve ark., 2020). Bal arılarında sosyal zorluklara davranışsal, transkriptomik ve epigenetik tepkileri belirlemek üzere, kovana izinsiz giriş tepkilerine bakıldığında saldırganlık olasılığı ve yoğunluğu gibi faktörlerin etkisiyle birden çok nöral ve endokrin sisteminin anında bir tepkiyi tetiklemesi ve bir sonraki zorluğu önceden tahmin etmek için gelecekteki davranışı ayarladığı bildirilmektedir (Shpigler ve ark., 2017). Başka bir çalışmada bal arılarının İsrail Akut Felç Virüsüne (IAPV) karşı ortaya koyduğu

transkriptomik tepki mekanizması aydınlatılmıştır. Bu çalışmanın antiviral stratejilerin geliştirilmesine büyük katkı sağlayacağı bildirilmiştir (Li-Byarlay ve ark., 2020).

Arı Ürünlerinde Biyoteknolojinin Kullanımı

Tarımsal biyoteknoloji, moleküler belirteçler, moleküler teşhis, genetik mühendisliği gibi bilimsel araçları ve teknikleri kullanır. Balın botanik ve coğrafi kökenlerinin belirlenmesi için farklı yöntemler kullanılabilir (Anklam, 1998). Polen analizi (melissopalinojisi) geleneksel olarak balın botanik kökenini belirlemek için kullanılmaktadır. Bu yaklaşım balda bulunan polenin mikroskopik incelemesine dayanmaktadır. Bu yöntemdeki kritik noktalar sürecin yorucu ve vasıflı personel gerektirmesidir. Son yıllarda arı balının botanik kökeninin belirlenmesinde DNA'ya dayalı teknikler hızlı, kesin ve daha güvenilir şekilde etkili olmaktadır (Jain ve ark., 2013). Üç plastid bölgesi (rbcL, trnH-psbA ve matK) ve nükleer gen bölgeleri (ITS1 ve ITS2), bitki genomunda standart barkod olarak tanımlanır (Hawkins ve ark., 2015). Bir çalışmada balın coğrafi kökenini bulmak için, DNA meta barkodlama yapılarak iki moleküler belirteç (ITS2 ve rbcL) kullanılmıştır. İncelenen örneklerde 926 bitki türü belirlenmiştir. Araştırmacılar ITS2'nin rbcL'den daha fazla türü tespit edebildiği sonucuna varmışlardır. Her iki işaretleyicinin kombinasyonu, bal örneklerinin coğrafi kökeni hakkında daha fazla bilgi sağlamaktadır (Khansaritoreh ve ark., 2020). Prosser ve Hebert (2017), balın botanik ve entomolojik kökenleri hakkında bilgi sağlamak için üç gen bölgesinin (ITS2, rbcLa ve COI) DNA metabarkodlamasını kullanan bir protokol tanımlamıştır. Soares ve ark. (2018), plastidial matK genini, bal örneklerinde *Lavandula* türlerinin tanımlanması için aday barkod olarak kullanmışlardır. Önerilen bu yöntem, balın botanik kökenini doğrulamak için basit, spesifik ve uygun maliyetli bir araçtır.

SONUÇ

Biyoteknoloji, tarımsal üretim alanlarında yeni gelişmelere neden olmaktadır. Bu gelişmeler uygulamaya geçmeden önce başta insan sağlığına olmak üzere hayvan sağlığına ve çevreye olası etkileri iyi değerlendirilmelidir. Bal arılarının tanımlanması ile başlayan süreç verimli ve dirençli arı ırklarının geliştirilmesi ile devam etmiştir. Biyoteknoloji, özellikle hastalıklarla mücadelede ve kimyasal kalıntısız arı ürünlerinin üretiminde oldukça önemlidir. Bal arısı hijyenik davranışını ortaya çıkaran doğal kimyasal sinyalin tanımlanması, iyileştirilmiş hijyenik temizleme araçlarının geliştirilmesinde ve dolayısıyla parazitli ve hastalıklı yavruların daha fazla uzaklaştırılması yoluyla bal arısı sağlığının iyileştirilmesinde faydalı olabilecektir.

Sonuç olarak, bal arısı ve arı ürünleri üretimi dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli ekonomik kaynaklardan birisidir. Ülkemize arı popülasyonu yönünden bakıldığında değerli bir hazineye sahip olduğu ancak bunların üretimi ve geliştirilmesi yönünden ele alındığında, mevcut potansiyelinin yeterince kullanılmadığı görülmektedir. Bu duruma katkı yapan birçok etkenin yanında özellikle iklimsel değişikliklerle beraber çevre şartlarının etkisi giderek artmaktadır. Bu nedenle tüm üretim sektörlerinde olduğu gibi arı yetiştiriciliğinde ve arı ürünlerinde biyoteknolojik gelişme ve uygulamaların önemi ortaya çıkmaktadır. Bu derlemede özetlenen çalışmalarda olduğu gibi dünya literatürlerindeki örneklerine benzer biyoteknoloji yönünden ön plana çıkan, arı sağlığı ve arı ürünleri üretiminde fayda sağlayan çalışmaların arttırılması yanında elde edilen yeni biyoteknolojik bilgilerin uygulamaya geçirilerek sonuçlarının gözlenmesi önem arz etmektedir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM, 2008. Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Current Biology*, 18:1572–1575.
- Alberoni D, Baffoni L, Gaggia F, Ryan PM, Murphy K, Ross PR, Di Gioia D, 2018. Impact of beneficial bacteria supplementation on the gut microbiota, colony development and productivity of *Apis mellifera* L. *Beneficial microbes*, 9(2), 269-278.
- Alcay S, Cakmak S, Cakmak I, Mulkpınar E, Gokce E, Ustuner B, Nur Z, 2019a. Successful cryopreservation of honey bee drone spermatozoa with royal jelly supplemented extenders. *Cryobiology*, 87, 28-31.
- Alcay S, Cakmak S, Cakmak I, Mülkpınar E, Toker MB, Üstüner B, Nur, Z, 2019b. Drone Semen Cryopreservation with Protein Supplemented TL-Hepes Based Extender. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(4).
- Alcay S, Ustuner B, Çakmak I, Çakmak SS, Nur Z, 2015. Effects of various cryoprotective agents on post-thaw drone semen quality. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21; 31-35.
- Alpan O, 1989. Biyoteknoloji Ve Hayvan Islahı. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 29(1), 107-114.
- Anderson D, Trueman J, 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental & Applied Acarology*, 24:165–189.
- Anklam E, 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63(4): 549-562.
- Aumeier P, Rosenkranz P, 2001. Scent or movement of *Varroa destructor* mites does not elicit hygienic behaviour by Africanized and Carniolan honey bees. *Apidologie*, 32: 253–264.
- Annoscia D, Del Piccolo F, Nazzi F, 2012. How does the mite *Varroa destructor* kill the honeybee *Apis mellifera*? Alteration of cuticular hydrocarbons and water loss in infested honeybees. *Journal of Insect Physiology*, 58:1548–1555.
- Avalos A, Fang M, Pan H, Lluch AR, Lipka AE, Zhao SD, Hudson ME, 2020. Genomic regions influencing aggressive behavior in honey bees are defined by colony allele frequencies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(29), 17135-17141.
- Bak B, Wilde J, Siuda M, 2010. Comparison of hygienic behaviour between five honey bee breeding lines. *Journal of Apicultural Science*, 54(2), 17-24.
- Blomquist GJ, Bagnères AG, 2010. *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology*. (Cambridge University Press,
- Boecking O, Drescher W, 1992. The removal response of *Apis mellifera* L. colonies to brood in wax and plastic cells after artificial and natural infestation with *Varroa jacobsoni* Oud. and to freeze-killed brood. *Experimental & Applied Acarology*, 16:321–329.
- Braga AR, Gomes DG, Rogers R, Hassler EE, Freitas BM, Cazier JA, 2020. A method for mining combined data from in-hive sensors, weather and apiary inspections to forecast the health status of honey bee colonies. *Computers and Electronics in Agriculture*, 169, 105161.
- Cánovas F, de la Rúa P, Serrano J, Galián J, 2011. Microsatellite variability reveals beekeeping influences on Iberian honeybee populations, *Apidologie*, 42(3), 235-251.
- Chakrabarti P, Lucas HM, Sagili RR, 2020. Evaluating Effects of a Critical Micronutrient (24-Methylenecholesterol) on Honey Bee Physiology. *Annals of the Entomological Society of America*, 113(3), 176-182.
- Chapman NC, Lim J, Oldroyd BP, 2008. Population genetics of commercial and feral honey bees in Western Australia. *Journal of economic entomology*, 101(2), 272-277.

- Cobey SW, Tarpy DR, Woyke J, 2013. Standard methods for instrumental insemination of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-18.
- Cremer S, Armitage SA, Schmid-Hempel P, 2007. Social immunity. *Current Biology* 17, R693–R702
- Çetiner S, 2011. Biyogüvenlik nedir? ne değildir? *Tarla Sera Dergisi*, 88-91.
- Dadhah F, Nehzati-Paghaleh G, Zhandi M, Emamverdi M, Hopkins BK, 2016. Preservation of honey bee spermatozoa using egg yolk and soybean lecithin-based semen extenders and a modified cryopreservation protocol. *Journal of Apicultural Research*, 55(4), 279-283.
- Dietemann V, Pflugfelder J, Anderson D, Charrière JD, Chejanovsky N, Dainat B, Neumann P, 2012. *Varroa destructor*: research avenues towards sustainable control. *Journal of Apicultural Research*, 51(1), 125-132.
- Di Gioia D, Biavati B, 2018. Probiotics and prebiotics in animal health and food safety: Conclusive remarks and future perspectives. In *Probiotics and prebiotics in animal health and food safety* (pp. 269-273). Springer, Cham.
- Erçetin Ş, 1999. Biyoteknoloji ile Değişen Dünya Düzeni ve Eğitim-1. Kuram ve Uygulamada Eğitim Yönetimi Dergisi, 5(2), 169-180.
- Fanciotti MN, Tejerina M, Benítez-Ahrendts MR, Audisio, MC, 2018. Honey yield of different commercial apiaries treated with *Lactobacillus salivarius* A3iob, a new bee-probiotic strain. *Beneficial microbes*, 9(2), 291-298.
- Francis B, Blanton W, Nunamaker R, 1985. Extractable surface hydrocarbons of workers and drones of the genus *Apis*. *Journal of Apicultural Research* 24, 13–26.
- Çabka J, Cobey SW, 2018. Factors, based on common practices, affecting the results of instrumental insemination of honey bee queens. *Apidologie*, 49(6), 773-780.
- Galbraith DA, Fuller ZL, Ray AM, Brockmann A, Frazier M, Gikungu MW, Grozinger CM, 2018. Investigating the viral ecology of global bee communities with high-throughput metagenomics. *Scientific reports*, 8(1), 1-11.
- Galbraith DA, Yang X, Nino EL, Yi S, Grozinger C, 2015. Parallel epigenomic and transcriptomic responses to viral infection in honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS Pathog*, 11(3), e1004713
- Gebremedhn H, Deboutte W, Schoonvaere K, Demaeght P, De Smet L, Amssalu B, de Graaf DC, 2020. Metagenomic Approach with the NetoVIR Enrichment Protocol Reveals Virus Diversity within Ethiopian Honey Bees (*Apis mellifera simensis*). *Viruses*, 12(11), 1218.
- Gibbs AG, 1998. Water-proofing properties of cuticular lipids. *American Zoologist*, 38: 471–482.
- Gül ÜD, 2014. Sağlık alanında biyoteknolojik uygulamalar: Kırmızı biyoteknoloji. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1), 66-70.
- Gül A, Ceylan DA, 2016. Bal Arısı (*Apis Mellifera* L.) Spermasının Taze Ve Dondurularak Muhafaza Edilmesi. *Uludag Bee Journal*, 16(2): 76-84
- Gül A, Şahinler N, Onal AG, Hopkins BK, Sheppard WS, 2017. Effects of diluents and plasma on honey bee (*Apis mellifera* L.) drone frozen-thawed semen fertility. *Theriogenology*, 101, 109-113.
- Gramacho KP, Spivak M, 2003. Differences in olfactory sensitivity and behavioral responses among honey bees bred for hygienic behavior. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 54: 472–479.
- Grozinger CM, Zayed A, 2020. Improving bee health through genomics. *Nature Reviews Genetics*, 1-15.
- Harbo JR, 1977. Survival of honey bee spermatozoa in liquid nitrogen. *Annals of the entomological society of America*, 70(2), 257-258.
- Hawkins J, de Vere N, Griffith A, Ford CR, Allainguillaume J, Hegarty MJ, Baillie L, AdamsGroom B, 2015. Using DNA metabarcoding to identify the floral composition of honey: A new tool for investigating honey bee foraging preferences. *PLoS One*, 10(8), e0134735.
- Harris JW, 2007. Bees with *Varroa* sensitive hygiene preferentially remove mite infested pupae aged \leq five days post capping. *Journal of Apicultural Research*, 46: 134–139.

- He XJ, Zhang XC, Jiang WJ, Barron AB, Zhang JH, Zeng ZJ, 2016. Starving honey bee (*Apis mellifera*) larvae signal pheromonally to worker bees. *Scientific reports* 6, 22359.
- Hefetz A, 2007. The evolution of hydrocarbon pheromone parsimony in ants (Hymenoptera: Formicidae)—interplay of colony odor uniformity and odor idiosyncrasy. *Myrmecological News*, 10: 59–68.
- Hopkins BK, Herr C, 2010. Factors affecting the successful cryopreservation of honey bee (*Apis mellifera*) spermatozoa. *Apidologie*, 41(5), 548-556.
- Huang Q, 2013. Genetic analysis of *Nosema* tolerance in the honey bee, *Apis mellifera*. Doctoral Thesis. Universitäts- und Landesbibliothek Sachsen-Anhalt. <http://dx.doi.org/10.25673/938>. (Erişim Tarihi: 30.11.2020).
- Huang Q, Kryger P, Le Conte Y, Moritz RFA, 2012. Survival and immune response of drones of a *Nosemosis* tolerant honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *J Invertebr Pathol.* 109(3):297–302. [pmid:22285444](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22285444/)
- İnanç M, Daşkın A, 2015. Sığırlarda suni tohumlama uygulamaları yönünden genomik seleksiyonun önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(2);139-145.
- Jain SA, De Jesus FT, Marchioro GM, De Araújo ED, 2013. Extraction of DNA from honey and its amplification by PCR for botanical identification. *Food Sci. Technol, Campinas*, 33(4): 753-756.
- Kayıhan C, 2018. *Biyoteknoloji: On Bin Yıllık Serüven*. Pivolka, Nisan 2018, Cilt: 8, Sayı: 27
- Kearns CA, Inouye DW, Waser NM, 1998. Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 83-112.
- Kekeçoğlu M, 2015. Yığılca balarısı (*Apis mellifera* L.)'nin hijyenik davranış bakımından performanslarının belirlenmesi ve geliştirilmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 15(2), 47-59.
- Khansaritoreh E, Salmaki Y, Ramezani E, Azirani TA, Keller A, Neumann K, Alizadeh K, Zarre S, Beckh G, Behling H, 2020. Employing DNA metabarcoding to determine the geographical origin of honey. *Heliyon*, 6, 11, 1 – 6.
- Kirrane MJ, de Guzman LI, Holloway B, Frake AM, Rinderer TE, Whelan PM, 2015. Phenotypic and genetic analyses of the varroa sensitive hygienic trait in Russian honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *PLoS One*, 10(4), e0116672.
- Kolankaya N, 2000. "Küreselleşme Sürecinde Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik", *Biyoteknolojiye Bir Bakış: Dünya ve Türkiye Sempozyum Bildirileri Kitabı*, T.C. Çevre Bakanlığı, T.C. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı ve Biyoteknoloji Derneği Ortak Yayınları, Ankara, pp. 1- 6,
- Kovačić M, Raguž N, Majić I, Lukić B, Sarajlić A, Puškadija Z, 2020. Results of the first generation of Carniolan honey bees (*Apis mellifera carnica*) selection to *Varroa destructor* resistant traits. *sa*55, 334.
- Koru BY, 2018. *Bal Arılarında (Apis Mellifera) Beslenme Farklılığının Yaşam Uzunluğu, Gelişme, Davranış (Amilp-1, Vg) Ve Nörotransmitter Salınımını Düzenleyen (Brp) Genlerindeki Etkilerinin Araştırılması*. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Tekirdağ. 65 sayfa.
- Kulhanek K, Steinhauer N, Rennich K, Caron DM, Sagili RR, Pettis JS, vanEngelsdorp D, 2017. A national survey of managed honey bee 2015–2016 annual colony losses in the USA. *Journal of Apicultural Research*, 56(4), 328-340.
- Kunc M, Dobeš P, Hurychová J, Vojtek L, Poiani SB, Danihlák J, Hyršl P, 2019. The Year of the Honey Bee (*Apis mellifera* L.) with Respect to Its Physiology and Immunity: A Search for Biochemical Markers of Longevity. *Insects*, 10(8), 244.
- Kurze C, Le Conte Y, Dussaubat C, Erler S, Kryger P, Lewkowski O, Moritz RF, 2015. *Nosema* tolerant honeybees (*Apis mellifera*) escape parasitic manipulation of apoptosis. *PLoS One*, 10(10), e0140174.
- Lazarov S, Stoyanov I, Georgieva V, Zhelyazkova I, Ivanova E, 2019. Aloenzimna genetična karakteristika na pčelni semeystva *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) ot Bulgaria s različno higienno povedeni. *Journal of Central European Agriculture*, 20(2), 592-597.

- Lee KV, Steinhauer N, Rennich K, Wilson ME, Tarpy DR, Caron DM, Sagili R, 2015. A national survey of managed honey bee 2013–2014 annual colony losses in the USA. *Apidologie*, 46(3), 292-305.
- Lee S, Lim S, Choi YS, Lee ML, Kwon HW, 2020. Volatile disease markers of American foulbrood-infected larvae in *Apis mellifera*. *Journal of insect physiology*, 122, 104040.
- Leonard SP, Powell JE, Perutka J, Geng P, Heckmann LC, Horak RD, Moran NA, 2020. Engineered symbionts activate honey bee immunity and limit pathogens. *Science*, 367(6477), 573-576.
- Li-Byarlay H, Boncristiani H, Howell G, Herman J, Clark L, Strand MK, Rueppell O, 2020. Transcriptomic and epigenomic dynamics of honey bees in response to lethal viral infection. *Frontiers in genetics*, 11, 1056.
- Locke B, Low M, Forsgren E, 2019. An integrated management strategy to prevent outbreaks and eliminate infection pressure of American foulbrood disease in a commercial beekeeping operation. *Preventive Veterinary Medicine*, 167, 48-52.
- Lodesani M, Franceschetti S, Dall'Ollio R, 2019. Evaluation of early spring bio-technical management techniques to control varroosis in *Apis mellifera*. *Apidologie*, 50(2), 131-140.
- Maleszka R, 2008. Epigenetic integration of environmental and genomic signals in honey bees: the critical interplay of nutritional, brain and reproductive networks. *Epigenetics*, 3(4), 188-192.
- McAfee A, Chapman A, Iovinella I, Gallagher-Kurtzke Y, Collins TF, Higo H, Foster LJ, 2018. A death pheromone, oleic acid, triggers hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Scientific Reports* 8, 5719.
- Mills S, 2019. Instrumental Insemination and Semen Cryopreservation: Can Honey Bees be Selectively Bred Like Cattle? *Journal of the NACAA*, 12(2).
- Möckel N, Gisder S, Genersch E, 2011. Horizontal transmission of deformed wing virus: pathological consequences in adult bees (*Apis mellifera*) depend on the transmission route. *Journal of General Virology* 92, 370–377.
- Nawrocka A, Kandemir İ, Fuchs S, Tofilski A, 2018. Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages. *Apidologie*, 49(2), 172-184.
- Nazzi F, Della Vedova G, D'Agaro M, 2004. A semiochemical from brood cells infested by *Varroa destructor* triggers hygienic behaviour in *Apis mellifera*. *Apidologie*, 35: 65–70.
- Nur Z, Seven Çakmak S, Çakmak İ, Onder NT, Gökçe E, Ustuner B, Alcay S, Toker MB, Soylu MK, 2020. Effects of trehalose supplementation on post-thaw sperm quality of honey bee drones. *Online J. Anim. Feed Res.*, 10(5): 191-196
- O'Brien C, Arathi HS, 2018. Bee genera, diversity and abundance in genetically modified canola fields. *GM crops & food*, 9(1), 31-38.
- Oskay D, Kükreler M, Kence A, 2019. Muğla Bal Arısında (*Apis mellifera anatoliaca*) Amerikan Yavru Çürüklüğü Hastalığına Karşı Direnç Geliştirilmesi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 11(1), 8-20.
- Özcan BD, Ayaşan T, 2009. Hayvan Beslemede Biyoteknoloji Uygulamaları. *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, 8(1), 58-63.
- Paillard M, Rousseau A, Giovenazzo P, Bailey JL, 2017. Preservation of domesticated honey bee (hymenoptera: apidae) drone semen. *Journal of Economic Entomology*, 110(4), 1412-1418.
- Patruica S, Dumitrescu G, Stancu A, Bura M, Dunea IB, 2012. The Effect of Prebiotic and Probiotic Feed Supplementation on the Wax Glands of Worker Bees (*Apis mellifera*). *Scientific Papers: Animal Sciences and Biotechnologies*, 45 (2), 268 – 271.
- Patruica S, Dumitrescu G, Popescu R, Filimon NM, 2013. The effect of prebiotic and probiotic products used in feed to stimulate the bee colony (*Apis mellifera*) on intestines of working bees. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 11(3&4), 2461-2464.
- Petersen GEL, Fennessy PF, Amer PR, Dearden PK, 2020. Designing and implementing a genetic improvement program in commercial beekeeping operations. *Journal of Apicultural Research*, 1-10.

- Pinheiro PV, de Faria JC, 2020. GMOs–Impact on Non-target Arthropods. *GMOs*, 87-127.
- Prosser SWJ, Hebert PDN, 2017. Rapid identification of the botanical and entomological sources of honey using DNA metabarcoding. *Food Chemistry*, 214: 183-191.
- Ptaszyńska AA, Borsuk G, Zdybicka-Barabas A, Cytryńska M, Małek W, 2016. Are commercial probiotics and prebiotics effective in the treatment and prevention of honeybee nosemosis C?. *Parasitology research*, 115(1), 397-406.
- Regan T, Barnett MW, Laetsch DR, Bush SJ, Wragg D, Budge GE, Freeman TC, 2018. Characterisation of the British honey bee metagenome. *Nature communications*, 9(1), 1-13.
- Ricigliano VA, 2020. Microalgae as a promising and sustainable nutrition source for managed honey bees. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 104(1), e21658
- Rittschof CC, Rubin BE, Palmer JH, 2019. The transcriptomic signature of low aggression in honey bees resembles a response to infection. *BMC genomics*, 20(1), 1-14.
- Rollo C, Czwzewska E, Borden J, 1994. Fatty acid necromones for cockroaches. *Naturwissenschaften* 81, 409–410.
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B, 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103, S96–S119.
- Ruane J, Sonnino A, 2011. Agricultural biotechnologies in developing countries and their possible contribution to food security. *Journal of Biotechnology*, 156 (4), 356-363
- Saelao P, Simone-Finstrom M, Avalos A, Bilodeau L, Danka R, de Guzman L, Tokarz P, 2020. Genome-wide patterns of differentiation within and among US commercial honey bee stocks. *BMC genomics*, 21(1), 1-12.
- Sağırkaya H, 2009. Sığırlarda embriyo transfer uygulaması ve Türkiye açısından önemi. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 28(2), 11-20.
- Salvy M, Martin C, Bagnères AG, Provost É, Roux M, Le Conte Y, Clement J L, 2001. Modifications of the cuticular hydrocarbon profile of *Apis mellifera* worker bees in the presence of the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in brood cells. *Parasitology* 122, 145–159.
- Sammataro D, Untalan P, Guerrero F, Finley J, 2005. The resistance of *Varroa* mites (Acari: Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. *International Journal of Acarology*, 31: 67–74
- Scott K, 1998. *Handbook of Industrial Membranes*, 2 nd ed., 14, pp. 655- 680
- Seitz N, Traynor KS, Steinhauer N, Rennich K, Wilson ME, Ellis JD, Rose R, Tarpy DR, Sagili RR, Caron DM, Delaplane KS, Rangel J, Lee K, Baylis K, Wilkes JT, Skinner JA, Pettis JS, vanEngelsdorp D, 2016. A national survey of managed honey bee 2014–2015 annual colony losses in the USA, *Journal of Apicultural Research*, DOI: 10.1080/00218839.2016.1153294.
- Schöning C, Gisder S, Geiselhardt S, Kretschmann I, Bienefeld K, Hilker M, Genersch E, 2012. Evidence for damage-dependent hygienic behaviour towards *Varroa destructor*-parasitised brood in the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Experimental Biology*, 215(2), 264-271.
- Schulte C, Theilenberg E, Müller-Borg M, Gempe T, Beye M, 2014. Highly efficient integration and expression of piggyBac-derived cassettes in the honeybee (*Apis mellifera*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(24), 9003-9008.
- Schmehl DR, Teal PE, Frazier JL, Grozinger CM, 2014. Genomic analysis of the interaction between pesticide exposure and nutrition in honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology*, 71, 177-190.
- Shpigler HY, Saul MC, Murdoch EE, Cash-Ahmed AC, Seward CH, Sloofman L, Robinson GE, 2017. Behavioral, transcriptomic and epigenetic responses to social challenge in honey bees. *Genes, Brain and Behavior*, 16(6), 579-591.

- Spötter A, Gupta P, Nürnberg G, Reinsch N, Bienefeld K, 2012. Development of a 44K SNP assay focussing on the analysis of a varroa-specific defence behaviour in honey bees (*Apis mellifera carnica*). *Molecular Ecology Resources*, 12, 323–332.
- Spötter A, Gupta P, Mayer M, Reinsch N, Bienefeld K, 2016. Genome-wide association study of a Varroa-specific defense behavior in honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Heredity*, 107(3), 220-227
- Spivak M, Downey DL, 1998. Field assays for hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 91: 64–70.
- Spivak M, Reuter GS, 2001. Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie*. 32:555–65.
- Steinhauer NA, Rennich K, Wilson ME, Caron DM, Lengerich EJ, Pettis JS, 2014. Bee Informed Partnership. A national survey of managed honey bee 2012–2013 annual colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership. *Journal of Apicultural Research*, 53(1), 1-18.
- Soares S, Grazina L, Costa J, Amaral JS, Oliveira B, Mafra I, 2018. Botanical authentication of lavender (*Lavandula spp.*) honey by a novel DNA-barcoding approach coupled to high resolution melting analysis. *Food Control*, 86: 367-373.
- Su TS, Wu CC, Chang LW, 2020. Integration of audio surveillance on a queen bee rearing and breeding management system. *Journal of Information and Optimization Sciences*, 1-16.
- Syromyatnikov MY, Borodachev AV, Kokina AV, Popov VN, 2018. A molecular method for the identification of honey bee subspecies used by beekeepers in Russia. *Insects*, 9(1), 10.
- Tarpy, DR, Nielsen DI, 2002. Sampling error, effective paternity, and estimating the genetic structure of honey bee colonies (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America* 95: 513–528.
- Taylor MA, Guzman-Novoa E, Morfin N, Buhr MM, 2009. Improving viability of cryopreserved honey bee (*Apis mellifera* L.) sperm with selected diluents, cryoprotectants, and semen dilution ratios. *Theriogenology*, 72(2), 149-159.
- Tlak Gajger I, Vlainić J, Šoštarić P, Prešern J, Bubnić J, Smodiš ŠMI, 2020. Effects on Some Therapeutical, Biochemical, and Immunological Parameters of Honey Bee (*Apis mellifera*) Exposed to Probiotic Treatments, in Field and Laboratory Conditions. *Insects*, 11(9), 638.
- Tola YH, Waweru JW, Hurst GD, Slippers B, Paredes JC, 2020. Characterization of the Kenyan Honey Bee (*Apis mellifera*) Gut Microbiota: A First Look at Tropical and Sub-Saharan African Bee Associated Microbiomes. *Microorganisms*, 8(11), 1721.
- Utzeri VJ, Ribani A, Fontanesi L, 2018. Authentication of honey based on a DNA method to differentiate *Apis mellifera* subspecies: Application to Sicilian honey bee (*A. m. siciliana*) and Iberian honey bee (*A. m. iberiensis*) honeys. *Food Control*, 91, 294-301.
- Watson JD, Crick FH, 1953. The structure of DNA. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 18, pp. 123-131). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Wang H, Liu C, Liu Z, Wang Y, Ma L, Xu B, 2020. The different dietary sugars modulate the composition of the gut microbiota in honeybee during overwintering. *BMC microbiology*, 20(1), 1-14.
- Wagoner K, Spivak M, Hefetz A, Reams T, Rueppell O, 2019. Stock-specific chemical brood signals are induced by Varroa and Deformed Wing Virus, and elicit hygienic response in the honey bee. *Scientific reports*, 9(1), 1-14.
- Wagoner KM, Millar JG, Schal C, Rueppell O, 2020. Cuticular pheromones stimulate hygienic behavior in the honey bee (*Apis mellifera*). *Scientific Reports*, 10(1). doi:10.1038/s41598-020-64144-8. *Scientific Reports*, 9 (1). doi:10.1038/s41598-019-45008-2.
- Wegener J, May T, Kamp G, Bienefeld K, 2014a. New methods and media for the centrifugation of honey bee (Hymenoptera: Apidae) drone semen. *Journal of Economic Entomology*, 107(1), 47-53.

- Wegener J, May T, Kamp G, Bienefeld K, 2014b. A successful new approach to honeybee semen cryopreservation. *Cryobiology*, 69(2), 236-242.
- Wilfert L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, Boots M, 2016. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by Varroa mites. *Science* 351, 594–597
- Wilson EO, Durlach NI, Roth LM, 1958. Chemical releasers of necrophoric behavior in ants. *Psyche* 65, 108–114.
- Winston ML, 2003. Bees and biotechnology. *Bee World*, 84(4), 141-143
- Woyke J, 1962. Natural and artificial insemination of queen honeybees. *Bee World*, 43(1), 21-25.
- Wu X, Galbraith DA, Chatterjee P, Jeong H, Grozinger CM, Yi SV, 2020. Lineage and parent-of-origin effects in DNA methylation of honey bees (*Apis mellifera*) revealed by reciprocal crosses and whole-genome bisulfite sequencing. *Genome Biology and Evolution*, 12(8), 1482-1492.
- van Alphen JJ, Fernhout BJ, 2020. Natural selection, selective breeding, and the evolution of resistance of honeybees (*Apis mellifera*) against Varroa. *Zoological Letters*, 6, 1-20.
- vanEnglesdorp D, Hayes JJr, Underwood RM, Pettis J, 2008. A survey of honey bee colony losses in the US, Fall 2007 to Spring 2008. *PloS one* 3, e4071.
- Villa JD, Danka RG, Harris JW, 2009. Simplified methods of evaluating colonies for levels of Varroa Sensitive Hygiene (VSH). *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 48(3): 162–167.
- Yeşilbağ D, 2004. Tarımsal ve hayvansal ürünlerde modern biyoteknoloji ve organik üretim. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med*, 23(1-3), 157-162.
- Yıldız MA, Gürel F, Özkan M, 2010. Türkiye Bal Arısı Populasyonlarının Mikrosatelit DNA Analizi Yöntemiyle Tanımlanması, Scientific and Technical Research Council of Turkey, Project No: 108O200
- Yuanyuan J, Yi J, Yongmin L, Xuan Z, Xiaoyun C, Junfeng X, Xiaoli X, 2019. Potential effect of genetically modified maize DR 12-5 on honey bee (*Apis mellifera*). *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 31(11), 1834.