



Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi

e-ISSN: 2757-5543

Cilt 2 Sayı 1



Mayıs, 2021

G.Ü. Fen Fakültesi Dekanlığı
tarafından yayınlanır

Hakkında

Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi'nde, Biyoloji, Fizik, Kimya, Matematik ve İstatistik alanlarında uluslararası özgünlük taşıyan nitelikli araştırma ve derleme makaleleri yayımlanmaktadır. Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi yılda iki kez elektronik olarak Türkçe yayım yapan hakemli, ulusal ve akademik bir dergidir. Dergiye gönderilen makaleler amaç, kapsam ve yeterlilik kriterleri bakımından editör tarafından değerlendirilerek uygun bulunanlar alan editörlerine yönlendirilmektedir. Kör hakemlik uygulanarak en az iki uzman hakem görüşü ile makale inceleme aşamasını tamamlanmaktadır. Dergiye gönderilen makalelerin içerikleri özgün, daha önce herhangi bir yerde yayımlanmamış veya yayımlanmak üzere gönderilmemiş olmalıdır. Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi makale basımı için herhangi bir ücret talep etmemektedir.

Yayın Kurulu

Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi

İmtiyaz Sahibi:	Prof. Dr. Musa YILDIZ (Rektör)
Genel Yayın Yönetmeni:	Prof. Dr. Suat KIYAK (Dekan)

Baş Editör: Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU

Editör Yardımcıları:

Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ	Doç. Dr. Bayram ÇEKİM	Doç. Dr. Tarık ASAR
------------------------------	-----------------------	---------------------

Alan Editörleri:

Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ	Doç. Dr. Yasemin ŞAFAK ASAR	Doç. Dr. Barış KINACI
Prof. Dr. H. Hasan ÖRKÇÜ	Doç. Dr. Semra TÜRKAN	Prof. Dr. Nurşen SARI
Prof. Dr. Ayşegül ÖKSÜZ	Doç. Dr. Gürhan İÇÖZ	Doç. Dr. Levent KARGIN

Yayın Danışma Kurulu:

Doç. Dr. Akif ÖZBAY	Prof. Dr. Ali TEKE	Prof. Dr. Bekir SARI
Prof. Dr. Belma ASLIM	Prof. Dr. Birol ALTIN	Prof. Dr. Cem KADILAR
Prof. Dr. Emre GÜR	Prof. Dr. Engin TIRAŞOĞLU	Prof. Dr. Fatma TAŞDELEN YEŞİLDAL
Prof. Dr. Fatma ÜNAL	Prof. Dr. H. İbrahim ÜNAL	Prof. Dr. Harun KARSLI
Prof. Dr. Metin AK	Prof. Dr. Ogün DOĞRU	Prof. Dr. Süleyman ÖZÇELİK
Prof. Dr. Şemsettin ALTINDAL	Prof. Dr. Zekiye SULUDERE	

Teknik Sorumlular:

Dr. Damla AMUTKAN	Arş. Gör. Mazlum TÜRK
-------------------	-----------------------

Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi

Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, 06500 Teknikokullar-ANKARA / TÜRKİYE

Telefon: (+90) 312 202 10 01 Faks: (+90) 312 212 22 79 E-posta: fenfakultesidergisi@gazi.edu.tr

Web adresi: www.sci-fac-j.gazi.edu.tr

Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi, 2. Cilt (1), Mayıs, 2021

İÇİNDEKİLER

Sayfa

- Gökhan Mutlu, (2021)**, Kompakt Olmayan Yıldız Graf Üzerindeki Selfadjoint Olmayan Schrödinger Operatörünün Spektral Analizi 1-12
- Fatma Özdemir, Seza Arslan, (2021)**, Balıktan İzole Edilen Hareketli *Aeromonas* Türlerinin Bazı Ekstrasellüler Enzimlerinin Belirlenmesi 13-23
- Yunus Özen, Halil İbrahim Efker, Tarık Asar, Süleyman Özçelik, (2021)**, MoO₃ Arayüzey Tabakalı Metal/Yarıiletken Yapısının Düşük Frekans Değerleri için Dielektrik Özelliklerinin İncelenmesi 24-33
- Neslihan Bal, Hüseyin Özdikmen, (2021)**, Türkiye'nin Asker Böcekleri (Cantharidae) Faunistik Çalışması 34-56
- Zeynep Özat, Bayram Çekim, (2021)**, Üç Değişkenli Fibonacci Tipli Polinomlar için Doğurucu Fonksiyonlar ve Bazı Özellikleri 57-67
- Damla Amutkan Mutlu, Irmak Polat, Zekiye Suludere, (2021)**, Nimfal *Conocephalus fuscus fuscus* (Fabricius, 1793) (Orthoptera, Tettigoniidae)'ta Proventrikulusun Histomorfolojik Özellikleri 68-76
- Sinem Çolak, (2021)**, Tütüne Özgü Kanserojen Nitrozaminlerin Biyolojik Örneklerde Tayini için Kullanılan Analitik Yöntemlerin İncelenmesi 77-92
- İrem Yavuz, Ebru Şebnem Yılmaz, (2021)**, Biyolojik Sistemli Nanopartiküller 93-108
- Cemil Çetinkaya, Ruşen Sözer, (2021)**, Polimer Kompozitlerin Üretiminde Elyaf Oryantasyonunun Etkileri 109-124

Kompakt Olmayan Yıldız Graf Üzerindeki Selfadjoint Olmayan Schrödinger Operatörünün Spektral Analizi

Gökhan Mutlu* 

Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, 06500, Ankara, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Kompakt olmayan yıldız grafi ele alınmıştır.
- Yıldız graf üzerinde etki eden selfadjoint olmayan Schrödinger operatörü incelenmiştir.
- Merkez köşede Neumann köşe koşulları altında operatörün spektral özellikleri araştırılmıştır.

Makale Bilgileri

Geliş: 29.01.2021
Kabul: 12.03.2021

Anahtar Kelimeler

Kuantum graf,
Schrödinger operatörü,
Selfadjoint olmayan
operatörler,
Özdeğerler,
Rezolvent operatör

Özet

Bu çalışmada n kenarlı ($n < \infty$), kenarlarının her biri sonsuz uzunluğa sahip kompakt olmayan yıldız graf üzerine etki eden selfadjoint olmayan Schrödinger operatörünün spektral özellikleri incelenmiştir. Burada grafın merkez köşesi üzerinde standart ya da Neumann koşulları olarak bilinen köşe koşulları ele alınmıştır. Literatürde metrik graflar üzerine etki eden diferensiyel operatörlerin spektral analizi ile ilgili oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Bu graflara üzerlerine etki eden diferensiyel operatörlerle birlikte kuantum graflar adı verilmektedir. Kuantum grafların fen bilimleri ve mühendislikte çok sayıda uygulamaları bulunması nedeniyle bu alan matematiksel fiziğin son yıllarda oldukça aktif bir araştırma alanı haline gelmiştir. Kuantum graflarla ilgili çalışmalarda genellikle Laplace operatörleri $f \rightarrow -f''$ dikkate alınmaktadır. Bununla birlikte Schrödinger operatörü $f \rightarrow -f'' + q(x)f$ ele alınarak yapılan çalışmalar da bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalarda ele alınan potansiyel q reel değerlidir ve dolayısıyla uygun köşe koşullarıyla birlikte ortaya çıkan operatör selfadjointtir. Bu çalışmada ise q potansiyeli kompleks değerli bir fonksiyondur. Dolayısıyla ortaya çıkan operatör selfadjoint değildir. Bu ise spektral analizin tamamen değişmesi anlamı taşır. Bu makalede kompakt olmayan yıldız graf üzerine etki eden kompleks değerli potansiyele sahip Schrödinger operatörünün özdeğerleri, spektral tekillikleri ve rezolvent operatörü elde edilmiştir.

Spectral Analysis of Non-selfadjoint Schrödinger Operator on Non-compact Star Graph

Highlights

- Non-compact star graph is taken under consideration.
- Non-selfadjoint Schrödinger operator acting on star graph is investigated.
- Spectral properties of the operator subject to Neumann conditions at the central vertex is studied.

Article Info

Received: 29.01.2021
Accepted: 12.03.2021

Keywords

Quantum graph,
Schrödinger operator,
Non-selfadjoint
operators,
Eigenvalues,
Resolvent operator

Abstract

In this study, spectral properties of non-selfadjoint Schrödinger operator on non-compact star graph with n vertices having infinite length are investigated. Here, the vertex conditions on the central vertex are the conditions known as standard or Neumann conditions. There are numerous studies on the differential operators on metric graphs in the literature. These metric graphs together with the differential operators acting on them are called quantum graphs. Due to various applications of quantum graphs in science and engineering, it is an active field of research in mathematical physics in recent years. Most of the studies on quantum graphs concern Laplace operators $f \rightarrow -f''$. On the other hand there are some studies in which Schrödinger operators $f \rightarrow -f'' + q(x)f$ are considered. In these studies, the potential q is real-valued and hence the operator is selfadjoint with appropriate vertex conditions. However in this study, the potential q is complex-valued. Therefore, the resulting operator is non-selfadjoint. This means that the spectral analysis completely changes. In this paper, eigenvalues, spectral singularities and the resolvent operator of the Schrödinger operator with complex-valued potential acting on non-compact star graph are obtained.



1. GİRİŞ

Yarım eksende tek boyutlu Schrödinger denklemi

$$-y'' + q(x)y = k^2y, \quad 0 < x < \infty \quad (1)$$

olarak verilmektedir. Burada k^2 spektral parametre, q potansiyel fonksiyonudur. (1) denklemi kuantum fizikte çok önemli bir yere sahiptir. Burada q potansiyeli reel değerli, $q \in L_2(0, \infty)$ ve $h \in \mathbb{R}$ olmak üzere

$$y'(0) - hy(0) = 0 \quad (2)$$

sınır koşulu ele alınırse selfadjoint Schrödinger operatörü elde edilir. Bu operatörün spektral analizi detaylı olarak ele alınmıştır. Selfadjoint Schrödinger denklemiyle ilgili sonuçların bir derlemesi için [1] incelenebilir. (1) denkleminde q potansiyeli kompleks değerli bir fonksiyon olsun. q fonksiyonu

$$\int_0^\infty (1+t)\|q(t)\|dt < \infty$$

koşulunu sağlasın. (2) sınır koşulunda $h \in \mathbb{C}$ alınırse elde edilen operatör selfadjoint olmayan singüler Schrödinger operatörüdür. Bu operatörün spektral analizi Naimark tarafından yapılmıştır [2]. Bu operatörün spektrumu sürekli spektrum ve nokta spektrumdan oluşmaktadır. Ayrıca sürekli spektrumda spektral tekillik adı verilen bazı noktalar tespit edilmiştir. Bu noktalar nokta spektrumda yer almayıp, rezolvent operatörünün çekirdeğinin kutup noktalarıdır. Spektral tekilliklerin fiziksel anlamı ve uygulamaları için [3, 4] incelenebilir.

Yarım eksende matris Schrödinger denklemi

$$-y'' + Q(x)y = k^2y, \quad 0 < x < \infty \quad (3)$$

şeklinde verilmektedir. Burada k^2 spektral parametre, Q , $n \times n$ matris değerli fonksiyon ve $y(x, k)$ dalga fonksiyonu bir vektör değerli fonksiyondur. (3) denkleminde $n = 1$ alınırse (1) denkleminin elde edileceği açıktır. Dolayısıyla matris Schrödinger denklemleri skaler Schrödinger denklemlerini genellemektedir. Ayrıca matris Schrödinger denklemlerinin fizikte uygulamaları vardır. Örneğin; elastiklik teorisinde, elektromagnetik dalgaların tanımlanmasında ve nükleer yapılarda matris Schrödinger denklemleri kullanılmaktadır. Bu denklemler aynı zamanda kuantum mekaniğindeki saçılma problemleriyle ve özellikle kuantum graflarıyla yakından ilişkilidir. Bu nedenle matris Schrödinger denklemleri ile ilgili son yıllarda oldukça fazla sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Selfadjoint matris Schrödinger operatörleri ile ilgili detaylı bilgilere [5, 6] kaynaklarından ulaşılabilir. Q matris değerli fonksiyonu selfadjoint, $(0, \infty)$ aralığında Lebesgue ölçülebilir ve sonlu birinci momente sahip olsun yani

$$\int_0^\infty (1+t)\|Q(t)\|dt < \infty \quad (4)$$

eşitsizliği herhangi bir $\|\cdot\|$ matris normu için sağlansın. $x = 0$ noktasındaki en genel selfadjoint sınır koşulları

$$My(0) + Ny'(0) = 0 \quad (5)$$

şeklinde verilebilir [7]. Burada M ve N , $n \times n$ tipinde sabit matrisleri aşağıdaki koşulları sağlamaktadır;

$$MN^* = NM^*, \quad (6)$$

$$\text{rank}(M|N) = n. \quad (7)$$

Burada $***$ matris adjointi göstermektedir. (3)-(7) eşitlikleriyle üretilen matris Schrödinger operatörü selfadjointtir [5, 6].

Literatürde selfadjoint olmayan matris Schrödinger operatörleri ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır [8-10]. Bu çalışmalarda (3) denklemindeki $n \times n$ matris potansiyeli Q selfadjoint (Hermityen) değildir. [8] çalışmasında $x = 0$ noktasında Dirichlet sınır koşulu ve [9, 10] çalışmalarında $x = 0$ noktasında spektral parametreye bağlı sınır koşulları ele alınmıştır. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar [1] de elde edilen sonuçları genellemektedir. Bu çalışmalarda selfadjoint olmayan matris Schrödinger operatörlerinin özdeğerleri, spektral tekillikleri ve rezolvent operatörleri elde edilmiş ve bunların Q potansiyeli üzerindeki bazı koşullar altında özellikleri incelenmiştir [8-10].

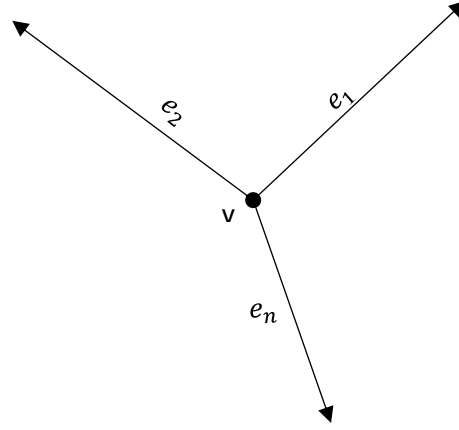
Şimdiye kadar bahsedilen matris Schrödinger operatörleri ile ilgili çalışmalarda (3) denklemindeki $n \times n$ matris potansiyeli Q sonlu boyutlu bir operatör (matris) dür yani $n < \infty$ dur [5-10]. Q potansiyelinin sonsuz boyutlu bir Hilbert uzayında tanımlı bir operatör olması durumunda (3) denkleminde yarım eksende Schrödinger operatör denklemi adı verilir. Bu konudaki ilk çalışma [11] de ele alınmıştır. Burada (3) denklemindeki Q potansiyelinin sonsuz boyutlu bir Hilbert uzayında tanımlı tamamen sürekli ve selfadjoint bir operatör fonksiyonu olması durumu incelenmiştir. Bu çalışmada orijinde Dirichlet sınır koşulu altında operatörün nokta spektrumu araştırılmıştır. Burada elde edilen operatör selfadjointtir. Son yıllarda selfadjoint olmayan operatör katsayılı Schrödinger operatör denklemleri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır [12-16]. Bu çalışmalarda ele alınan Q potansiyeli ise sonsuz boyutlu bir Hilbert uzayında tanımlı tamamen sürekli ve selfadjoint olmayan bir operatör fonksiyonudur. Dolayısıyla elde edilen operatörler selfadjoint değildir. Açıkça görülmektedir ki, [11-16] da ele alınan Schrödinger operatör denklemi ile ilgili çalışmalar matris Schrödinger denklemleri ile ilgili çalışmaları genellemekte ve problemleri sonsuz boyuta taşımaktadır. Problemin sonsuz boyutta ele alınması probleme yenilik ve orijinalite katmasının yanı sıra operatör teorisinin kullanılmasına olanak tanıyarak problemin daha da zenginleşmesini sağlamaktadır.

Graflar üzerinde etki eden diferensiyel operatörler ilk olarak [17, 18] de ele alınmıştır. Bu çalışmalarda kompakt ve kompakt olmayan graflar üzerinde reel değerli potansiyele sahip Schrödinger operatörü incelenmiştir. Literatürde diferensiyel operatörlerin etki ettiği graflara metrik graflar adı verilir. Kısaca bir metrik graf, bir grafın kenarlarına pozitif bir uzunluk ve yön atanmasıyla elde edilir. Γ bir metrik graf ve H, Γ üzerine etki eden bir diferensiyel operatör olsun. Ayrıca grafın her bir köşesi üzerinde köşe koşulları olarak bilinen sınır koşulları verilsin. Literatürde (Γ, H) ikilisine verilen köşe koşullarıyla birlikte kuantum graf adı verilmektedir. Kuantum graflar üzerine son yıllarda oldukça fazla sayıda çalışma yapılmıştır (yapılan çalışmaların bir derlemesi için [19, 20] incelenebilir). Bu konuda giderek artan ilginin nedeni kuantum grafların kuantum fiziğindeki uygulamalarının keşfedilmesidir. Ayrıca kuantum graflar matematik, fizik, kimya, mühendislik ve nanoteknoloji alanlarındaki problemlerin modellenmesinde kullanılmaktadır. Özel olarak kuantum graflar bir grafın komşuluğundaki bölgede dalga yayılımını modellemek için kullanılmaktadır [20]. Bu modeller organik kimya, mezoskopik fizik, nanoteknoloji, fotonik kristaller, saçılım teorisi, kuantum kaos vs. gibi alanlarda karşımıza çıkmaktadır [20]. Ayrıca kuantum graflar matris Schrödinger denklemleriyle yakından ilişkilidir.

Γ_n , kenarlarının her biri sonsuz uzunluğa sahip n kenarlı ($n < \infty$) yıldız grafı gösterebilir (bkz Şekil 1). Γ_n üzerinde Schrödinger operatörünü $H := -\frac{d^2}{dx_i^2} + q_i(x_i)$ ele alalım. Burada x_i koordinatı yerine basitlik olması açısından x yazılabilir. Ayrıca burada $q_i (i = 1, 2, \dots, n)$ potansiyelleri kompleks değerli fonksiyonlar olup $(0, \infty)$ aralığında Lebesgue ölçülebilir ve sonlu birinci momente sahip olsunlar yani

$$\int_0^\infty (1+t)|q_i(t)|dt < \infty, \quad i = 1, 2, \dots, n. \quad (8)$$

Star graflar üzerinde etki eden diferensiyel operatörleri ilgili detaylı bilgi için [21] incelenebilir. Merkez köşede (bkz Şekil 1) standart ya da Neumann köşe koşulları olarak bilinen ve kuantum graflarda en yaygın olarak kullanılan köşe koşullarının bulunduğunu kabul edelim. Bu koşullar aşağıdaki gibi ifade edilir;



Şekil 1. n kenarlı kompakt olmayan yıldız graf

$$y_i(0) = y_j(0), \quad 1 \leq i, j \leq n, \quad (9)$$

$$\sum_{i=1}^n y_i'(0) = 0. \quad (10)$$

(9)-(10) koşullarını

$$AF_v + BF_v' = 0 \quad (11)$$

şeklinde matris formunda ifade edebiliriz. Burada

$$F_v = \begin{bmatrix} y_1(0) \\ y_2(0) \\ \vdots \\ y_n(0) \end{bmatrix}, \quad F_v' = \begin{bmatrix} y_1'(0) \\ y_2'(0) \\ \vdots \\ y_n'(0) \end{bmatrix},$$

ve A ve B matrisleri $n \times n$ tipinde matrisler olup

$$A = \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \end{bmatrix}, \quad B = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 1 & 1 & \cdots & 1 \end{bmatrix} \quad (12)$$

şeklinindedir. (11) köşe koşullarıyla verilen (Γ_n, H) kuantum grafına karşılık

$$L_2(\Gamma_n) := \bigoplus_{i=1}^n L_2(\mathbb{R}_+), \quad \mathbb{R}_+ := (0, \infty)$$

uzayında

$$H_{A,B}y := -y'' + Q(x)y, \quad 0 < x < \infty \quad (13)$$

matris Schrödinger operatörünü elde edebiliriz. Burada $y = (y_1, y_2, \dots, y_n)^T$, $y_i \in L_2(\mathbb{R}_+)$, $(i = 1, 2, \dots, n)$ ve $Q(x) = \text{diag}(q_1(x), q_2(x), \dots, q_n(x))$, $n \times n$ tipinde diyagonal matristir. Burada M^T ile M matrisinin transpozunu gösterilmektedir. Sınır koşulları ise

$$Ay(0) + By'(0) = 0 \quad (14)$$

şeklindedir. Burada A ve B matrisleri (12) eşitliğiyle verilen matrislerdir. Dikkat edilirse (13) ve (14) tarafından üretilen operatör selfadjoint değildir. Açıkça görülmektedir ki (11) köşe koşullarıyla verilen (Γ_n, H) kuantum grafi ile (13) eşitliği ile verilen ve (14) sınır koşuluna sahip matris Schrödinger operatörü spektral analiz anlamında eşdeğerdir. Bu makalede (11) köşe koşullarıyla verilen (Γ_n, H) kuantum grafinin spektral özellikleri incelenecektir. Özel olarak bu selfadjoint olmayan operatörün nokta spektrumu, spektral tekillikleri ve rezolvent operatörü elde edilecektir. Bunun için (13) ile verilen ve (14) sınır koşuluna sahip matris Schrödinger operatörünün spektral özellikleri kullanılacaktır. (13) ile verilen ve $Q(x) = \text{diag}(q_1(x), q_2(x), \dots, q_n(x))$ şeklinde potansiyele sahip, orijinde Dirichlet sınır koşuluna sahip selfadjoint olmayan matris Schrödinger operatörünün spektral analizi [22] de yapılmıştır. Ancak bizim çalışmamızda ele alınan sınır koşulları (14) eşitliğiyle verilen genel sınır koşullarıdır. Dikkat edilecek olursa (14) eşitliğinde $A = I_n$ ve $B = 0_n$ alınması ile Dirichlet koşulu elde edilir, burada I_n ile $n \times n$ tipindeki birim matris, 0_n ile $n \times n$ tipindeki sıfır matrisi gösterilmektedir. Dolayısıyla bizim çalışmamızda ele alınan problem daha geneldir.

Kuantum graflarda genel olarak Laplace operatörü $L := -\frac{d^2}{dx^2}$ ele alınmaktadır [19, 20]. Bununla birlikte Schrödinger operatörünü $S := -\frac{d^2}{dx^2} + q(x)$ inceleyen çalışmalar da bulunmaktadır [23-25]. Bu çalışmalarda ele alınan potansiyeller (q fonksiyonları) reel değerlidir. Dolayısıyla selfadjoint köşe koşulları kullanılarak selfadjoint kuantum graflar elde edilmiş ve spektral analizi incelenmiştir [19, 20, 23-25]. Ancak bizim çalışmamızda ele alınan kompakt olmayan yıldız graf üzerindeki Schrödinger operatörü kompleks değerli q potansiyeline sahiptir. Bu özellik ele alınan kuantum grafi selfadjoint olmayan bir graf yapmakta ve literatürdeki geçmiş çalışmalardan ayırmaktadır. Ayrıca kompakt kuantum grafların spektrumunun ayırık olduğu bilinmesine rağmen bu makalede ele alınan kompakt olmayan kuantum grafların spektral özellikleriyle ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır.

Bu makale 4 bölümden oluşmaktadır. 2. bölümde kuantum graflar ve yarım eksende matris Schrödinger operatörü ile ilgili ön bilgiler verilecektir. 3. bölümde kompakt olmayan yıldız graf üzerinde etki eden kompleks potansiyele sahip Schrödinger operatörünün spektral analizi ile ilgili elde edilen sonuçlar verilecektir. 4. Bölüm olan Tartışma bölümünde ise elde edilen sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalarla kıyaslanacaktır.

2. ÖN BİLGİLER

Bu bölümde kuantum graflar ve yarım eksende matris Schrödinger operatörü ile ilgili genel bilgiler verilecektir.

Tanım 2.1. Γ , $E = \{e_1, e_2, \dots, e_m\}$ kenar kümesine ve $V = \{v_1, v_2, \dots, v_r\}$ köşe kümesine sahip bir graf olsun. Eğer her bir $e \in E$ kenarına pozitif bir l_e uzunluğu ve bir yön atarsak elde edilen grafa bir metrik graf denir. Bir metrik grafta her bir $e \in E$ kenarı reel eksenin $[0, l_e]$ şeklindeki sonlu ya da sonsuz bir aralığıyla ve graf üzerindeki her bir x noktası $[0, l_e]$ aralığındaki bir x_e koordinatı ile eşleştirilebilir. Eğer E kümesi herbiri sonlu uzunluğa sahip sonlu sayıda kenar içeriyorsa Γ ya kompakt graf aksi halde kompakt olmayan graf denir [19]. Γ metrik grafi üzerinde tanımlanan bir f fonksiyonu grafin her bir kenarı üzerinde tanımlı fonksiyonların oluşturduğu vektör değerli bir fonksiyon olarak düşünülebilir, yani

$$f = (f_{|e_1}, f_{|e_2}, \dots, f_{|e_m})$$

şeklindedir. Burada her $i = 1, 2, \dots, m$ için

$$f_{|e_i}: [0, l_{e_i}] \rightarrow \mathbb{C}$$

şeklindedir. Γ üzerinde bir diferensiyel operatörü tanımlamak için Γ üzerindeki fonksiyonların

$$L_2(\Gamma) := \bigoplus_{i=1}^m L_2[0, l_{e_i}]$$

Hilbert uzayı tanımlanır. Γ üzerinde Hamiltonyan olarak adlandırılan diferensiyel operatörleri $L_2(\Gamma)$ uzayı üzerinde tanımlanır. Genellikle Hamiltonyan olarak Schrödinger operatörü

$$H := -\frac{d^2}{dx_i^2} + q_i(x_i) \quad (15)$$

ele alınır. Burada x_i koordinatı yerine basitlik olması açısından x yazılabilir. Ayrıca Γ üzerindeki her köşe için köşe koşulları olarak bilinen sınır koşullarına ihtiyaç duyulur. Köşe koşulları bir f fonksiyonunun ve birinci türevinin o köşedeki değerlerini ilişkilendirir. Literatürde en çok kullanılan köşe koşulları standart ya da Neumann köşe koşulları olarak bilinen koşullardır. Bir $v \in V$ köşesi için Neumann koşulları aşağıdaki şekilde verilir;

1. f, v köşesinde süreklidir yani v köşesine komşu olan her e_i ve e_j kenarı için $f|_{e_i}(v) = f|_{e_j}(v)$,
2. $\sum_{e \sim v} \frac{df}{dx}(v) = 0$ dır. Burada toplam v köşesine komşu olan e kenarları üzerinden alınmaktadır ve türevler köşeden kenara giden yönde alınmaktadır [19].

Bir $v \in V$ köşesindeki köşe koşulları matrisler yardımıyla ifade edilebilir. v köşesine komşu olan kenarlar e_1, e_2, \dots, e_d olsun. Bu durumda

$$F_v := \begin{bmatrix} f_1(v) \\ f_2(v) \\ \vdots \\ f_d(v) \end{bmatrix}, \quad F_v' := \begin{bmatrix} f_1'(v) \\ f_2'(v) \\ \vdots \\ f_d'(v) \end{bmatrix}$$

vektörlerini tanımlayalım. Burada $f_i = f|_{e_i}$ dir. C_v ve D_v matrisleri $d \times d$ tipinde olmak üzere v köşesindeki en genel köşe koşulları

$$C_v F_v + D_v F_v' = 0 \quad (16)$$

şeklinde ifade edilir [19]. $H^2(e)$ ile e kenarı üzerinde ikinci mertebeden zayıf türevleri $L^2(e)$ uzayında bulunan fonksiyonların Sobolev uzayını gösterelim. (15) eşitliği ile verilen H Hamiltonyanının tanım kümesi aşağıdaki özellikleri sağlayan $f \in L_2(\Gamma)$ fonksiyonlarından oluşur;

- Her bir $e \in E$ kenarı için $f|_e \in H^2(e)$,
- Her $v \in V$ köşesinde (16) köşe koşulları sağlanır.

Eğer E kümesi sonlu ise (15) eşitliği ile verilen H Hamiltonyanının selfadjoint olması için gerek ve yeter şart her $v \in V$ köşesinde

$$\text{rank}(C_v | D_v) = d_v, \quad C_v D_v^* = D_v C_v^*$$

koşullarının sağlanmasıdır [19]. Burada d_v ile v köşesinin derecesi, M^* ile M matrisinin adjointi gösterilmektedir. Ayrıca eğer Γ kompakt ise (15) eşitliği ile verilen H Hamiltonyanının spektrumu ayrıktır yani spektrum her biri sonlu katlılığa sahip izole özdeğerlerden meydana gelmektedir [19].

(13) eşitliği ile verilen $H_{A,B}$ matris Schrödinger operatörünün özdeğer denklemini

$$-y'' + Q(x)y = k^2 y \quad (17)$$

ele alalım. Burada k^2 spektral parametre, $y = (y_1, y_2, \dots, y_n)^T, y_i \in L_2(\mathbb{R}_+), (i = 1, 2, \dots, n)$ ve $Q(x) = \text{diag}(q_1(x), q_2(x), \dots, q_n(x))$ olup q_i fonksiyonları kompleks değerlidir. (14) eşitliği ile verilen sınır koşullarını ele alalım. Bu şekilde elde edilen $H_{A,B}$ operatörü selfadjoint değildir.

(17) denkleminin

$$F(x, k) = e^{ikx}[I_n + o(1)], \quad F_x(x, k) = ike^{ikx}[I_n + o(1)], \quad x \rightarrow \infty, \quad k \in \overline{\mathbb{C}_+} \setminus \{0\} \quad (18)$$

asimptotik bağıntılarını sağlayan bir $n \times n$ matris çözümü $F(x, k)$ vardır [5]. $F(x, k)$ çözümüne (17) denkleminin Jost çözümü denir. Burada \mathbb{C}_+ ile kompleks düzlemin üst yarısı, $\overline{\mathbb{C}_+}$ ile onun kapanışı gösterilmektedir. Ayrıca $e_i(x, k)$, $-y'' + q_i(x)y = k^2y$ denkleminin Jost çözümü olmak üzere ($i = 1, 2, \dots, n$)

$$F(x, k) = \text{diag}(e_1(x, k), e_2(x, k), \dots, e_n(x, k))$$

biçimindedir [22].

(12) eşitliğiyle verilen A ve B matrislerinin

$$AB^T - BA^T = 0 \quad (19)$$

eşitliğini sağladığı kolayca görülebilir. Dolayısıyla (17) denkleminin

$$U(0, k) = B^T, \quad U'(0, k) = -A^T \quad (20)$$

başlangıç koşullarını sağlayan bir $n \times n$ matris çözümü $U(x, k)$ vardır [5]. Benzer şekilde $U(x, k)$ da bir diyagonal matristir. (17) denkleminin her $y(x, k)$ vektör çözümü

$$y(x, k) = F(x, k)\alpha + U(x, k)\beta$$

şeklinde yazılabilir [5]. Burada $\alpha, \beta \in \mathbb{C}^n$ sabit vektörlerdir.

$Y(x, k)$ ve $Z(x, k)$ fonksiyonları (17) denkleminin $n \times n$ tipinde iki matris çözümü olsun. $Y(x, k)$ ve $Z(x, k)$ diyagonal matrisler olduğundan $Y(x, k)$ ve $Z(x, k)$ çözümlerinin Wronskiyanı olan

$$[Y, Z] := YZ' - Y'Z$$

ifadesinin x değişkeninden bağımsız olduğu kolayca gösterilebilir.

3. SONUÇLAR

Γ_n , kenarlarının her biri sonsuz uzunluğa sahip n kenarlı ($n < \infty$) yıldız grafi gösterebilir (bkz Şekil 1). Γ_n üzerinde Schrödinger operatörünü $H = -\frac{d^2}{dx_i^2} + q_i(x_i)$ ele alalım. Burada q_i ($i = 1, 2, \dots, n$) potansiyelleri kompleks değerli fonksiyonlar olup $(0, \infty)$ aralığında Lebesgue ölçülebilir ve sonlu birinci momente sahip olsunlar. Merkez köşede (11) eşitliğiyle verilen Neumann köşe koşulları ele alınsın. Bu özellikleri sağlayan kuantum grafi (Γ_n, H) ile gösterelim. Bu bölümde (Γ_n, H) kuantum grafının spektral analizi ile ilgili elde edilen sonuçlar verilecektir.

Teorem 3.1. Γ_n grafi üzerine etki eden H Schrödinger operatörünün özdeğerleri kümesi $\sigma_d(H)$ ile gösterilsin. Bu durumda $J(k) := AF(0, k) + BF'(0, k)$ olmak üzere

$$\sigma_d(H) = \{k^2 : k \in \mathbb{C}_+, \det J(k) = 0\}.$$

İspat. Açıkça görülmektedir ki (11) köşe koşullarıyla verilen (Γ_n, H) kuantum grafi ile (13) eşitliği ile verilen ve (14) sınır koşuluna sahip matris Schrödinger operatörünün özdeğerleri aynıdır. Dolayısıyla (13)-(14) sınır değer probleminin özdeğerlerini bulmamız yeterlidir. $y(x, k)$ vektör fonksiyonu (13)-(14) sınır değer probleminin k^2 özdeğerine karşılık gelen bir özfonksiyonu olsun.

$$y(x, k) = F(x, k)\alpha + U(x, k)\beta$$

olacak şekilde $\alpha, \beta \in \mathbb{C}^n$ sabit vektörleri vardır (bkz 2. Bölüm).

$$y \in L_2(\Gamma_n) = \bigoplus_{i=1}^n L_2(\mathbb{R}_+)$$

olduğundan $\beta = 0$ olmalıdır. $y(x, k) = F(x, k)\alpha$ fonksiyonu (14) sınır koşulunu sağladığından

$$(A F(0, k) + B F'(0, k))\alpha = 0$$

olur. $\alpha \neq 0$ olduğundan

$$J(k) = A F(0, k) + B F'(0, k) \quad (21)$$

matrisi tersinir değildir. Tersine, $J(k)$ matrisi tersinir değil olsun. Bu durumda $J(k)\alpha = 0$ ve $\alpha \neq 0$ olacak biçimde en az bir $\alpha \in \mathbb{C}^n$ sabit bir vektörü vardır. $y(x, k) = F(x, k)\alpha$ vektör fonksiyonunu ele alalım. $y \in L_2(\Gamma_n)$ olduğu bilinmektedir [5]. Ayrıca (14) sınır koşulu

$$A y(0) + B y'(0) = (A F(0, k) + B F'(0, k))\alpha = J(k)\alpha = 0$$

sağlanır. Dolayısıyla $y(x, k)$ bir özfonksiyondur.

Teorem 3.2. Γ_n grafi üzerine etki eden H Schrödinger operatörünün rezolvent kümesi $\rho(H)$ ile gösterilsin. Bu durumda

$$\rho(H) = \{k^2: k \in \mathbb{C}_+, \det J(k) \neq 0\} \quad (22)$$

şeklindedir. Ayrıca $R_k(H) = (H - k^2 I)$ rezolvent operatörü $g \in \bigoplus_{i=1}^n L_2(\mathbb{R}_+)$ olmak üzere

$$R_k(H)g(x) = \int_0^\infty K(x, t; k)g(t)dt$$

biçimindedir. Burada çekirdek fonksiyonu

$$K(x, t; k) = \begin{cases} -F(x, k)(J(k)^T)^{-1}U(t, k), & 0 \leq t \leq x, \\ -U(x, k)(J(k)^T)^{-1}F(t, k), & x < t < \infty \end{cases}$$

şeklindedir.

İspat. (22) eşitliği Teorem 1 in bir sonucudur. Açıkça görülmektedir ki (11) köşe koşullarıyla verilen (Γ_n, H) kuantum grafi ile (13) eşitliği ile verilen ve (14) sınır koşuluna sahip matris Schrödinger operatörünün rezolvent operatörü aynıdır. $R_k(H) = (H - k^2 I)$ rezolvent operatörünü oluşturmak için

$$-y'' + Q(x)y - k^2 y = g(x), \quad x \in (0, \infty) \quad (23)$$

denkleminin genel çözümünü bulmalıyız. Burada $k^2 \in \rho(H)$ yani $k \in \mathbb{C}_+$, $\det J(k) \neq 0$ olup $y, g \in \bigoplus_{i=1}^n L_2(\mathbb{R}_+)$ ve $y(x, k)$ vektör değerli fonksiyonu (14) sınır koşulunu sağlar. $y(x, k)$ vektör değerli fonksiyonu $\alpha, \beta \in \mathbb{C}^n$ sabit vektörler olmak üzere

$$y(x, k) = F(x, k)\alpha + U(x, k)\beta$$

şeklinde yazılabilir (bkz 2. Bölüm). Parametrelerin değişimi yöntemini kullanarak (23) denkleminin genel çözümünü

$$y(x, k) = F(x, k)a(x) + U(x, k)b(x) \quad (24)$$

biçiminde arayalım. Burada $a(x)$ ve $b(x)$ fonksiyonları vektör değerli fonksiyonlardır. (24) eşitliğinin x e göre türevi alınırsa

$$y'(x, k) = F'(x, k)a(x) + F(x, k)a'(x) + U'(x, k)b(x) + U(x, k)b'(x). \quad (25)$$

(25) eşitliğinde

$$F(x, k)a'(x) + U(x, k)b'(x) = 0 \quad (26)$$

olduğunu kabul edelim. (25) eşitliğinin x e göre türevi alınır

$$y''(x, k) = F''(x, k)a(x) + F'(x, k)a'(x) + U''(x, k)b(x) + U'(x, k)b'(x). \quad (27)$$

(24) ve (27) eşitliklerini (23) de yerine koyarsak

$$F'(x, k)a'(x) + U'(x, k)b'(x) = -g(x). \quad (28)$$

(26) eşitliğini soldan $F'(x, k)$ ile (28) eşitliğini soldan $-F(x, k)$ ile çarpıp taraf tarafa toplarsak

$$[F, U]b'(x) = -F(x, k)g(x) \quad (29)$$

bulunur. $[F, U]$ Wronskiyanı x den bağımsız olduğundan (bkz 2. Bölüm) (20) eşitliğinden

$$[F, U] = [F, U](0) = F(0, k)U'(0, k) - F'(0, k)U(0, k) = -F(0, k)A^T - F'(0, k)B^T = -J(k)^T. \quad (30)$$

$\det J(k) \neq 0$ olduğundan $J(k)^T$ tersinirdir ve (29) eşitliğinden

$$b(x) = \varphi - \int_x^\infty (J(k)^T)^{-1} F(t, k)g(t)dt. \quad (31)$$

Benzer şekilde

$$a(x) = \omega - \int_0^x (J(k)^T)^{-1} U(t, k)g(t)dt \quad (32)$$

elde edilir. (31) ve (32) eşitlikleri (24) de yerine koyulursa

$$y(x, k) = F(x, k)\omega - F(x, k) \int_0^x (J(k)^T)^{-1} U(t, k)g(t)dt + U(x, k)\varphi - U(x, k) \int_x^\infty (J(k)^T)^{-1} F(t, k)g(t)dt \quad (33)$$

elde edilir. (33) eşitliğinde $x = 0$ alınır

$$y(0, k) = F(0, k)\omega - B^T \int_0^\infty (J(k)^T)^{-1} F(t, k)g(t)dt. \quad (34)$$

$y \in \oplus_{i=1}^n L_2(\mathbb{R}_+)$ olması için $\varphi = 0$ olmalıdır. (31) ve (32) eşitlikleri (25) de yerine koyulursa

$$y'(x, k) = F'(x, k)\omega - F'(x, k) \int_0^x (J(k)^T)^{-1} U(t, k)g(t)dt - U'(x, k) \int_x^\infty (J(k)^T)^{-1} F(t, k)g(t)dt$$

bulunur. Son eşitlikte $x = 0$ alınır

$$y'(0, k) = F'(0, k)\omega + A^T \int_0^\infty (J(k)^T)^{-1} F(t, k)g(t)dt. \quad (35)$$

(34) ve (35) eşitlikleri (14) sınır koşulunda yerine koyulursa

$$AF(0, k)\omega + BF'(0, k)\omega + (BA^T - AB^T) \int_0^\infty (J(k)^T)^{-1} F(t, k)g(t)dt = 0$$

bulunur. Son eşitlikte $BA^T - AB^T = 0$ olduğu dikkate alınırsa

$$(AF(0, k) + BF'(0, k))\omega = J(k)\omega = 0.$$

Bu ise $\det J(k) \neq 0$ olduğundan $\omega = 0$ sonucunu verir. Dolayısıyla

$$y(x, k) = -F(x, k) \int_0^x (J(k)^T)^{-1} U(t, k) g(t) dt - U(x, k) \int_x^\infty (J(k)^T)^{-1} F(t, k) g(t) dt$$

olup ispat tamamlanır.

Sonuç 3.3. Γ_n grafi üzerine etki eden H Schrödinger operatörünün spektral tekilliklerinin kümesi $\sigma_{ss}(H)$ ile gösterilsin. Bu durumda

$$\sigma_{ss}(H) = \{k: k \in \mathbb{R} \setminus \{0\}, \det J(k) = 0\}.$$

İspat. Spektral tekilliklerin tanımından ve Teorem 3.2 den ispat açıktır.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada merkez köşesinde Neumann köşe koşulları bulunan, kenarlarının her biri sonsuz uzunluğa sahip n kenarlı ($n < \infty$) yıldız grafi Γ_n üzerinde etki eden kompleks değerli potansiyele sahip Schrödinger operatörünün $H = -\frac{d^2}{dx_i^2} + q_i(x_i)$ spektral özellikleri incelenmiştir. Ele alınan problem yarım eksende ya da tam eksende kompleks potansiyele sahip Schrödinger operatörünü genellemektedir. Bunun için aşağıdaki örnekleri inceleyelim.

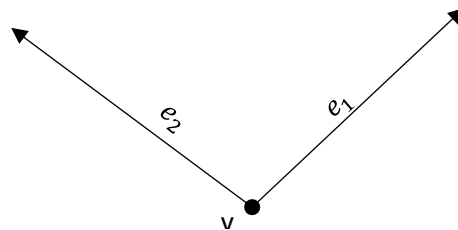
Örnek 4.1. $n = 1$ olması durumunda ele alınan problem

$$-y'' + q(x)y = k^2y, \quad 0 < x < \infty,$$

$$y'(0) = 0$$

sınır değer problemine yani yarım eksende Neumann sınır koşuluna $y'(0) = 0$ sahip kompleks değerli potansiyele sahip selfadjoint olmayan Schrödinger operatörüne dönüşmektedir. Bu operatörün spektral analizi için [2] incelenebilir.

Örnek 4.2. $n = 2$ olması durumunda merkez köşenin derecesi 2 olmaktadır (bkz Şekil 2). Derecesi 2 olan ve Neumann köşe koşullarına sahip köşelerin silinmesi spektral analiz anlamında bir değişikliğe yol açmamaktadır yani köşenin silinmesiyle elde edilen graf ile orijinal graf izospektraldir [19]. Dolayısıyla merkezdeki v köşesinin silinmesiyle elde edilen grafi ele alabiliriz. Bu ise reel ekseni $(-\infty, \infty)$ vermektedir. Dolayısıyla elde edilen problem reel eksende kompleks potansiyele sahip selfadjoint olmayan Schrödinger operatörünü vermektedir. Bu operatörün spektral analizi için [26, 27] incelenebilir.



Şekil 2. 2 kenarlı kompakt olmayan yıldız graf

Literatürde kompakt kuantum grafların spektrumu ile ilgili oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Bu grafların üzerinde etki eden reel potansiyele sahip Schrödinger operatörlerinin her bir köşede (16) genel köşe koşullarına sahip olması durumunda spektrumun sadece izole özdeğerlerden oluştuğu bilinmektedir [19]. Ancak bu makalede ele alınan kompakt olmayan kuantum grafların spektrumlarıyla ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca literatürde kuantum graflar üzerinde ele alınan Hamiltonyanlar genellikle Laplace operatörü ya da reel potansiyele sahip Schrödinger operatörleridir [17-20, 23-25]. Dolayısıyla ele alınan operatörler selfadjointtir. Bizim çalışmamızda ise kompleks potansiyele sahip Schrödinger operatörü göz önüne alınmıştır. Dolayısıyla elde edilen operatör selfadjoint değildir ve literatürdeki diğer çalışmalardan ayrışmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Levitan, B. M. and Sargsyan, I. S. (1975). *Introduction to Spectral Theory: Selfadjoint Ordinary Differential Operators*, American Mathematical Society.
- [2] Naimark, M. A. (1968). *Linear Differential Operators, II*, New York: Ungar.
- [3] Guseinov, G. S. (2009). On the concept of spectral singularities. *Pramana – Journal of Physics*, 73(3), 587-603.
- [4] Mostafazadeh, A. (2015). Physics of Spectral Singularities. *Geometric Methods in Physics*. Trends in Mathematics. Cham: Birkhäuser.
- [5] Agranovic, Z. S. and Marchenko, V. A. (1965). *The Inverse Problem of Scattering Theory*, Gordon and Breach.
- [6] Aktosun, T. and Weder, R. (2020). *Direct and Inverse Scattering for the Matrix Schrödinger Equation*, *Applied Mathematical Sciences*, 203, Cham: Springer.
- [7] Aktosun, T., Klaus, M., and Weder, R. (2011). Small-energy analysis for the self-adjoint matrix Schrödinger equation on the half line. *Journal of Mathematical Physics*, 52(10), 1-24.
- [8] Olgun, M. and Coskun, C. (2010). Non-selfadjoint matrix Sturm-Liouville operators with spectral singularities. *Applied Mathematics and Computation*, 216, 2271-2275.
- [9] Arpat, E. K. and Mutlu, G. (2015). Spectral properties of Sturm-Liouville system with eigenvalue-dependent boundary conditions, *International Journal of Mathematics*, 26(10), 1550080-1550088.
- [10] Yokus, N. and Coskun, N. (2019) A note on the matrix Sturm-Liouville operators with principal functions. *Mathematical Methods in the Applied Sciences*, 42(16), 5362-5370.
- [11] Gasymov, M. G., Zikov, V. V., and Levitan, B. M. (1967). Conditions for the negative spectrum of the Schrödinger equation operator to be discrete and finite. *Mathematical Notes of the Academy of Sciences of the USSR*, 2, 813-817.
- [12] Bairamov, E., Arpat, E. K., and Mutlu, G. (2017). Spectral properties of non-selfadjoint Sturm-Liouville operator with operator coefficient. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 456(1), 293-306.
- [13] Mutlu, G. (2020). Associated functions of non-selfadjoint Sturm-Liouville operator with operator coefficient. *TWMS Journal of Applied and Engineering Mathematics*, 11(1), 113-121.
- [14] Mutlu, G. and Kır Arpat, E. (2020). Spectral properties of non-selfadjoint Sturm-Liouville operator equation on the real axis. *Hacettepe Journal of Mathematics and Statistics*, 49(5), 1686-1694.
- [15] 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(1), 88-96.
- [16] Mutlu, G. and Kır Arpat, E. (2020). Spectral analysis of non-selfadjoint second order difference equation with operator coefficient. *Sakarya University Journal of Science*, 24(3), 494-500.
- [17] Gerasimenko, N. I. and Pavlov, B. S. (1988). Scattering problems on noncompact graphs. *Theoretical and Mathematical Physics*, 74, 345-359.
- [18] Gerasimenko, N. I. (1988). Inverse scattering problem on a noncompact graph, *Theoretical and Mathematical Physics*, 75, 187-200.
- [19] Berkolaiko, G. and Kuchment, P. (2013). *Introduction to Quantum Graphs (Mathematical Surveys and Monographs vol 186)*, Rhode Island: American Mathematical Society.
- [20] Kuchment, P. (2004). Quantum graphs: I. Some basic structures, *Waves in Random Media*, 14(1), 107-128.
- [21] Möller, M. and Pivovarchik, V. (2015). *Spectral Theory of Operator Pencils, Hermite-Biehler Functions, and their Applications*, Operator Theory: Advances and Applications vol 246, New York: Birkhauser, Cham.

- [22] Bairamov, E. and Kir, E. (2004). Spectral properties of a finite system of Sturm-Liouville differential operators. *Indian Journal of Pure and Applied Mathematics*, 35(2), 249-256.
- [23] Kurasov, P. (2008) Schrödinger operators on graphs and geometry I: Essentially bounded potentials. *Journal of Functional Analysis*, 254(4), 934-953.
- [24] Boman, J., Kurasov, P., and Suhr, R. (2018). Schrödinger operators on graphs and geometry II. Spectral estimates for L_1 -potentials and an Ambartsumian Theorem. *Integral Equations and Operator Theory*, 90(3), 1-24.
- [25] Kurasov, P. and Suhr, R. (2018). Schrödinger operators on graphs and geometry. III. General vertex conditions and counterexamples. *Journal of Mathematical Physics*, 59(10), 102104, 21 pp.
- [26] Blashak, B. B. (1966). On the second-order differential operator on the whole axis with spectral singularities. *Doklady Akademii Nauk Ukrainskoj SSR Serija A*, 1, 38-41. (In Russian)
- [27] Bairamov, E. and Tunca, G. B. (1999). Discrete spectrum and principal functions of nonselfadjoint differential operator. *Czechoslovak Mathematical Journal*, 49(124), 689-700.

Balıktan İzole Edilen Hareketli *Aeromonas* Türlerinin Bazı Ekstrasellüler Enzimlerinin Belirlenmesi

Fatma Özdemir* , Seza Arslan 

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 14030, Bolu, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Balıklardan izole edilen hareketli *Aeromonas* türlerinin bazı ekstrasellüler enzimleri incelenmiştir.
- Hareketli *Aeromonas* izolatlarında ekstrasellüler enzimleri kodlayan genlerin varlığı PZR tekniği ile tespit edilmiştir.
- A. hydrophila* izolatlarının tamamının (%100) *eprCAI*, *ser* ve *lip* enzim genlerini taşıdığı ortaya çıkarılmıştır.
- Hareketli *Aeromonas* izolatları en az bir veya daha fazla ekstrasellüler enzim geni için pozitif bulunmuştur.

Makale Bilgileri

Geliş: 01.03.2021
Kabul: 31.03.2021

Anahtar Kelimeler

Hareketli *Aeromonas* spp.,
Ekstrasellüler enzimler,
Balık

Özet

Aeromonas türleri yaygın olarak çevrede özellikle deniz ve taze su kaynaklarında bulunmakta, balık ve deniz ürünlerini sıklıkla kontamine etmektedir. Bu türler insanlarda ve balıklarda enfeksiyon etkeni olan fırsatçı patojenler olarak kabul edilmektedir. İnsanlarda gastrointestinal, ekstraintestinal ve yara enfeksiyonlarına neden olur. Bu çalışmada, açık halk pazarı ve marketlerden temin edilen balık örneklerinden elde edilen hareketli *Aeromonas* türlerinde bazı ekstrasellüler enzim genlerinin varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 8 *A. hydrophila*, 19 *A. caviae* ve 9 *A. veronii biovar sobria* olmak üzere toplam 36 hareketli *Aeromonas* izolatında sıcaklık-duyarlı proteaz (*eprCAI*), serin proteaz (*ser*), elastaz (*ela*) ve lipaz (*lip*) genlerinin varlığı PZR tekniği ile araştırılmıştır. İzolatların 8'i (%22,2) *eprCAI*, 32'si (%88,9) *ser*, 23'ü (%63,9) *ela* ve 17'si (%47,2) *lip* geni için pozitif bulunmuştur. *A. hydrophila* izolatlarının hepsinde (%100) *eprCAI*, *ser* ve *lip* enzim genlerinin taşındığı saptanmıştır. *A. veronii biovar sobria* izolatlarının tamamında *ser* gen bölgesi pozitif bulunmuştur. Ancak bu izolatların hiçbirinin *eprCAI* ve *lip* enzim genlerini taşımadığı belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçları, balık örneklerinden izole edilen hareketli *Aeromonas* türlerinde en az bir veya daha fazla ekstrasellüler enzim kodlayan genlerin varlığını göstermiştir. Virulans ve gıdanın bozulması ile ilişkili ekstrasellüler enzimleri salgılayan hareketli *Aeromonas* izolatlarının gıdada varlığı, gıda hijyeni ve güvenliği açısından sorun oluşturabilir.

Detection of Some Extracellular Enzymes of Motile *Aeromonas* Species Isolated from Fish

Highlights

- Some extracellular enzymes of motile *Aeromonas* species isolated from fish were examined.
- Presence of genes encoding extracellular enzymes in motile *Aeromonas* isolates was detected by the PCR technique.
- It was found that all *A. hydrophila* isolates (100%) harbored *eprCAI*, *ser* and *lip* enzyme genes.
- Motile *Aeromonas* isolates were found to be positive for at least one or more extracellular enzyme genes.

Article Info

Received: 01.03.2021
Accepted: 31.03.2021

Keywords

Motile *Aeromonas* spp.,
Extracellular enzymes,
Fish

Abstract

Aeromonas species are found in the environment, especially in marine and fresh water sources, and frequently contaminate fish and sea products. These species are opportunistic pathogens that are infectious agents in humans and fishes. They cause gastrointestinal, extraintestinal and wound infections in humans. The aim of this study was to detect the presence of some extracellular enzyme genes in motile *Aeromonas* species which were isolated from fish obtained from open public bazaars and supermarkets. Presence of the temperature-sensitive protease (*eprCAI*), serine protease (*ser*) and lipase (*lip*) genes in the 36 motile *Aeromonas* isolates (8 *A. hydrophila*, 19 *A. caviae* and 9 *A. veronii biovar sobria*) was investigated using PCR in this study. Eight (22.2%) of the isolates were positive for *eprCAI*, 32 (88.9%) for *ser*, 23 (63.9%) for *ela* and 17 (47.2%) for the *lip* gene. All *A. hydrophila* isolates carried the *eprCAI*, *ser* and *lip* genes. All *A. veronii biovar sobria* isolates were positive for the *ser* gene. However, none of these isolates carried the *eprCAI* and *lip*. The results of this study showed that motile *Aeromonas* species from fish had at least one or more genes encoding extracellular enzymes. The presence of motile *Aeromonas* isolates producing extracellular enzymes associated with virulence and food spoilage in food may pose a problem in terms of food hygiene and safety.



1. GİRİŞ

Aeromonas cinsi bakteriler Gram negatif, oksidaz ve katalaz pozitif fakültatif aerobtur. *Aeromonas* türleri 0- 42°C gibi çok geniş bir sıcaklık aralığında ve pH 4,5- 9 arasında üreyebilmektedir [1, 2]. *Aeromonas* türleri doğada özellikle deniz, tatlı su ve sucul organizmalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca *Aeromonas*, atık sularda, toprak ve gıdada da bulunabilir [2]. *Aeromonas*'ın et, balık, kabuklu deniz ürünleri, süt ürünleri, taze sebze ve meyve gibi çeşitli gıdalardan izole edildiği bildirilmiştir [3-9]. Bununla birlikte, *Aeromonas* türleri ile ilgili birkaç gıda kaynaklı salgın bildirilmiştir [10-14]. Gıdalarda *Aeromonas*'ın gelişmesinde sıcaklık, pH ve tuzluluk gibi faktörler etkilidir [15]. Çiğ balık ve et ürünleri gibi gıdalarda tuz (sodyum klorür) yaygın koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ancak *Aeromonas* %4'e kadar tuz konsantrasyonu içerisinde büyüebilmektedir [16, 17]. Buzdolabı sıcaklığında üreyebilme yeteneğine sahip olan hareketli *Aeromonas* türlerinin soğukta muhafaza edilen balık ve et ürünlerinde canlı kalarak çoğalabilmesi gıdaların bozulması ve gıda kaynaklı hastalıklar açısından önemli risk oluşturmaktadır [16-18].

Aeromonas türleri arasında *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* ve *Aeromonas sobria* hareketlidir. Bu türler en iyi 35-37°C'de gelişen mezofilik bakteriler olduklarından insanlar, balıklar ve diğer çeşitli hayvanlar için fırsatçı patojenlerdir [2, 15]. *Aeromonas*'ın insanlarda başlıca iki tip gastroenterite yol açtığı bilinmektedir. Birincisi, kolera tipinde olup diyare ve hafif ateş tablosu eşlik eder. İkincisi ise dizanteri tipi olarak bilinen kanlı ve mukuslu ishal ile seyreden bir bağırsak enfeksiyonudur [2, 19]. *Aeromonas* suşlarının hem ishalleri hem de ishalleri olmayan bireylerin dışkılarından izole edildiği bildirilmiştir [20]. *Aeromonas* kökenli gastroenterit her yaşta görülebilmekle beraber, özellikle 2 yaşın altındaki küçük çocuklarda ve 50 yaşın üzerindeki kişilerde daha sık karşılaşılan bir hastalıktır [19, 21]. *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. sobria* insanlarda gastrointestinal enfeksiyonlarının yanı sıra, yumuşak doku enfeksiyonları, hemolitik üremik sendrom, septisemi, endokardit, menenjit, pnemoni, artrit, peritonit, göz enfeksiyonları ve osteomyelit gibi çeşitli hastalıklara neden olurlar [2, 18].

Su ürünleri yetiştiriciliğinde balıklarda oldukça sık rastlanılan patojenler arasında en çok izole edilen türler *Aeromonas* cinsine ait olanlardır. Hareketli *Aeromonas* türleri arasında yer alan *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae* önemli balık patojenleri olarak kabul edilmekte olup, hareketli *Aeromonas* septisemisi olarak bilinen hemorajik septisemiye neden olurlar. Enfekte olmuş balıkların yüzgeç diplerinde, karın altında, ağız bölgesinde, alt çenede, anüs etrafında kızarıklık ve hemorajik alanlar görülür. Vücutta çeşitli derinlikte ülseratif lezyonlar ortaya çıkabilir. Yüksek ölüm oranları ile sonuçlanan çeşitli enfeksiyonlara yol açarlar [22, 23]. Hareketli *Aeromonas* türlerinin balıklara bulaşması su ve temas yoluyla olup, kültür balıklarında enfeksiyonların yayılma riski daha fazladır. Bu enfeksiyonlar sonucunda balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe önemli ekonomik kayıplar oluşmaktadır [17, 21].

Aeromonas'ın konakta hastalık yapma yetenekleri çok karmaşıktır ve birçok faktör bu mikroorganizmanın konak hücrelerin içine girmesini sağlayarak hastalık oluşturabilmesinde rol alır [2, 24]. *Aeromonas*, ekstrasellüler enzimler, sitotoksinler ve biyolojik olarak aktif moleküller gibi çok sayıda virulans faktörü üretir [2, 25-27]. Proteaz, lipaz, elastaz, amilaz, deoksiribonükleaz, lesitinaz, kitinaz, nükleaz ve jelatinaz dahil olmak üzere çeşitli ekstrasellüler enzimler *Aeromonas* tarafından üretilir. Bu enzimler *Aeromonas*'ın ekolojisi, hayatta kalma ve patojenitesi açısından önemlidir [2, 28-30]. *Aeromonas*'ın virulansı türden türe ve suştan suşa varyasyonlar göstermektedir [2]. *Aeromonas* türleri üç değişik proteaz enzimi salgılamaktadır. Bunlardan biri ısıya dayanıksız serin proteaz ve diğer ikisi ise metallo proteaz enzimleridir. Metallo proteazlardan biri ısıya dayanıklı etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) duyarlı diğeri ise ısıya dayanıklı EDTA kararlıdır [31]. *Aeromonas* türleri, molekül kütlesi 68 kDa ve 38 kDa olan ısıya dayanıksız ve ısıya dayanıklı proteaz enzimi üretir [32-34]. Ayrıca, *A. hydrophila* ve *A. caviae* türlerinde ağırlığı yaklaşık 19 kDa olan bir metallo proteaz tespit edilmiştir [34-36]. Bazı çalışmalar, *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae*'nin hücre dışı serin proteazları ve metallo proteazları salgıladığını bildirmiştir [37-41]. *Aeromonas* tarafından üretilen proteazlar, doğuştan gelen konukçu savunmalarını ve hücre büyümesi üzerindeki besin tedarikini önleyerek enfeksiyonun istilasında ve yerleşmesinde kritik bir rol oynar [25, 33, 34, 37]. Ayrıca proteazlar, *Aeromonas*'ın birçok farklı ortama uyum sağlamasına izin veren ve diğer organizmalarla ekolojik etkileşimleri destekleyen çok yönlü metabolik kapasiteye katkıda bulunur [29, 34,

42]. Elastaz, *Aeromonas*'ın patogeneğinde önemli bir virulans faktör olan bir çinko metallo proteazdır [25]. Bu metallo-elastaz ditiyotreitöl tarafından inhibe edildiğinde optimum aktivitenin görüldüğü pH değeri 8 olarak bulunmuştur [33]. Lipaz, *Aeromonas* türlerinin bir diğere önemli virulans faktörü olarak kabul edilir. Konağın sitoplazmik zarının yapısının değiştirilmesinde ve böylece etkenin patojenitesinin güçlenmesinde etkili olur [43]. Konağı dokuyu kolonize etmelerine ve dokunun nekrozuna yardımcı olur [25]. Literatürde birçok çalışma hareketli *Aeromonas* türlerinde sıcaklık-duyarlı proteaz (*eprCAI*), serin proteaz (*ser*), elastaz (*ela*) ve lipaz (*lip*) dahil olmak üzere çeşitli ekstrasellüler enzim genlerinin varlığını bildirmiştir [7, 24, 44-47].

Balık protein açısından oldukça zengin bir gıda olup, genellikle sağlıklı ve dengeli beslenmede ayrı bir öneme sahiptir. Tüm dünyada insanlar tarafından tüketilmek üzere yaygın olarak tercih edilmektedir. Patojenlerle, özellikle *Aeromonas* türleri ile kontamine olmuş balık ve su ürünlerinin tüketimi, insanda gastrointestinal enfeksiyonlar gibi çeşitli enfeksiyonların nedeni olabilir. *Aeromonas* ayrıca en önemli balık patojeni olarak kabul edilmektedir. *Aeromonas* tarafından salgılanan proteaz ve lipaz gibi ekstrasellüler enzimler, *Aeromonas*'ın patogeneğinde ve balıkların bozulmasında önemli bir rol oynayabilir [10, 16, 18]. Bu nedenle, bu çalışma tatlı su balığı olan alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) örneklerinden izole edilen hareketli *Aeromonas* türlerinde sıcaklık-duyarlı proteaz (*eprCAI*), serin proteaz (*ser*), elastaz (*ela*) ve lipaz (*lip*) gibi virulans ve gıdaların bozulması ile ilişkili çeşitli ekstrasellüler enzimleri kodlayan genlerin varlığını araştırmayı amaçlamıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bakteri İzolatları

Bolu ilinde market ve açık halk pazarlarında satışa sunulan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) örneklerinden izole edilen toplam 36 hareketli *Aeromonas* izolatı [48] bu çalışma kapsamına alınmıştır. Bu izolatların 8'i *A. hydrophila*, 19'u *A. caviae* ve 9'u *A. veronii* bv. *sobria*'dır. Gliserol içeren Brain Heart Infusion (BHI) broth içinde -80°C' de saklanan izolatlar yine aynı besiyeri ortamına aktiveleştirilmek üzere ekim yapılmış ve 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası BHI broth kültürlerinden bir öze dolusu alınarak BHI agar besiyerine çizgi ekimleri yapılmış ve 37°C' de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

2.2. DNA İzolasyonu

Alabalık örneklerinden elde edilen hareketli *Aeromonas* izolatlarının genomik DNA'sı setil trimetil amonyum bromür (CTAB) ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilmiştir [49]. Geliştirilen saf bakteri kültüründen bir öze dolusu alınarak 5 mL BHI broth içeren tüplere inoküle edilmiştir. Bu bakteri süspansiyonlarını içeren sıvı besiyerleri 37°C' de inkübe edilmiştir. Daha sonra bu bakteri süspansiyonları 1.5 mL'lik steril ependorf tüplerine alınarak santrifüj edilmiştir. Elde edilen pelet 567 µL TE tamponunda (10 mM Tris, 1 mM EDTA) süspanse hale getirilmiştir. Daha sonra 30 µL sodyum dodesil sülfat (SDS) (%10) ve 3 µL proteinaz K (20 mg / mL) eklenerek 37°C' de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Karışıma 100 µL NaCl (5M) ilave edildikten sonra, 80 µL setil trimetil amonyum bromür ilave edilmiştir. 65°C' de 10 dakika inkübe edilmiştir. Tüplere eşit hacimde kloroform/izoamil alkol (24:1) çözeltisi eklenmiştir. Santrifüj sonrası, süpernatant yeni bir tüpe aktarılmış ve 25:24:1 oranında hazırlanmış fenol/kloroform/izoamilalkol eşit miktarda eklenmiştir. Santrifüj işleminden sonra DNA, izopropanol ile çöktürülmüş ve %70'lik etanol ile yıkanmıştır. Son olarak, pelet DNA 100 µL TE tamponu içerisinde çözündürülmüştür.

2.3. Ekstrasellüler Enzimleri Kodlayan Genlerin Belirlenmesi

Bu çalışmada, *Aeromonas* izolatlarında ekstrasellüler enzimleri kodlayan genlerin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) metodu ile tespit edilmiştir. Hareketli *Aeromonas* izolatlarının bazı ekstrasellüler enzim genlerinin varlığını araştırmak için daha önce tanımlanan primer çiftleri kullanılmıştır [41, 44, 50]. Çizelge

1’de ekstrasellüler enzim gen amplikasyonu için kullanılan ve daha önce tanımlanmış primer dizileri ile beklenen PZR ürünlerinin büyüklükleri belirtilmiştir.

Çizelge 1. Ekstrasellüler enzimleri kodlayan genlerin araştırılmasında kullanılan primerler

Gen	Primer	Oligonükleotid dizileri (5'-3')	Ürün uzunluğu (baz çifti)	Kaynaklar
<i>eprCAI</i>	eprCAI F eprCAI R	GCTCGACGCCAGCTCACC GGCTCACCGCATTGGATTCC	387	[49]
<i>ser</i>	Ser-F Ser-R	ACGGAGTGC GTTCTTCCTACTCCAG CCGTTTCATCACACCGTTGTAGTCG	211	[41]
<i>ela</i>	Ela-F Ela-R	ACACGGTCAAGGAGATCAAC CGCTGGTGTGGCCAGCAGG	513	[44]
<i>lip</i>	Lip-F Lip-R	ATCTTCTCCGACTGGTTCGG CCGTGCCAGGACTGGGTCTT	382	[44]

Bu çalışmada her bir enzim genine ilişkin PZR reaksiyon bileşenleri *Çizelge 2*'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. Kullanılan PZR reaksiyon bileşen konsantrasyonu ve miktarı

PZR bileşenleri	Ekstrasellüler enzim genleri			
	<i>eprCAI</i> (Sıcaklık-duyarlı proteaz)	<i>ser</i> (Serin proteaz)	<i>ela</i> (Elastaz)	<i>lip</i> (Lipaz)
PZR tamponu	10X (500mM KCl, 100mM Tris-HCl pH 9,1, 0,1%, Triton X-100)			
MgCl ₂ (mM)	4	4	4	4
dNTP (mM)	0,2	0,2	0,2	0,2
Primers (pmol)	1,5 µM	1 µM	1 µM	1 µM
Taq DNA polimeraz (U)	1,5	1,5	1,5	1,5
Kalıp DNA (µL)	5	3	3	3
PZR grade su (µL)	31,7	34,7	34,7	34,7
Toplam (µL)	50	50	50	50

Sıcaklık-duyarlı proteaz (*eprCAI*) geninin amplikasyonu 94°C’de 5 dakika başlangıç denatürasyonu takiben 30 döngü olmak üzere, 94°C’de 30 saniye denatürasyon, 60°C’de 30 saniye primer bağlanması ve 72°C’de 1 dakika uzama ve en son 72°C’de 10 dakika son uzama olacak şekilde yapılmıştır.

Serin proteaz (*ser*) geni için reaksiyon koşulları 94°C’de 5 dakika başlangıç denatürasyonu takiben 30 döngü olmak üzere, denatürasyon 94°C’de 1 dakika, primer yapışması 64°C’de 30 saniye, uzama 72°C’de 30 saniye ve son uzama 72°C’de 5 dakika olacak şekilde yapılmıştır.

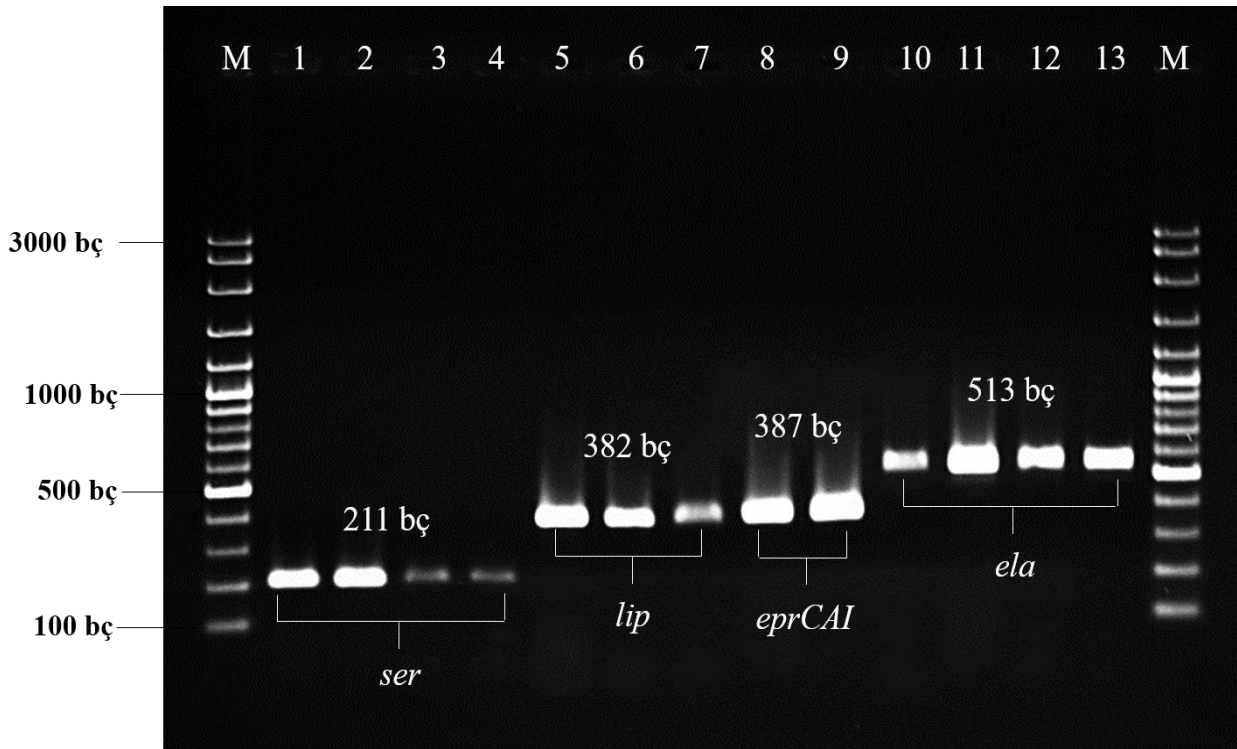
Elastaz (*ela*) ve lipaz (*lip*) genleri için reaksiyon koşulları 95°C’de 5 dakika ilk denatürasyonu takiben 25 döngü 95°C’de 25 saniye denatürasyon, 55°C’de 30 saniye primer yapışması, 72°C’de 1 dakika uzama ve 72°C’de 5 dakika son uzama olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

PZR reaksiyonları sonucunda elde edilen ürünler %1,5 agaroz jelde 80 volt’da 45 dakika boyunca elektroforez cihazında yürütüldükten sonra UV jel dökümantasyon sistemi (DNR Minilumi Bio-imaging

Systems, Jerusalem, Israel) kullanılarak görüntülenmiştir. Moleküler büyüklük belirteci olarak 100 bç DNA ladder (Vivantis) kullanılmıştır. Bu çalışmada, *A. hydrophila* ATCC 7966 suşu ekstrasellüler enzim genlerinin saptanması için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada, hareketli *Aeromonas* türlerinde sıcaklık-duyarlı proteaz (*eprCAI*), serin proteaz (*ser*), elastaz (*ela*) ve lipaz (*lip*) gibi ekstrasellüler enzimleri kodlayan genlerin varlığı tespit edilmiştir. Ekstrasellüler enzimlere ait gen bölgeleri PZR ile çoğaltılmıştır. PZR reaksiyonu sonrası ekstrasellüler enzimleri kodlayan genleri taşıyan *Aeromonas* türleri arasından temsilen seçilen izolatların jel resmi Şekil 1’de gösterilmiştir.



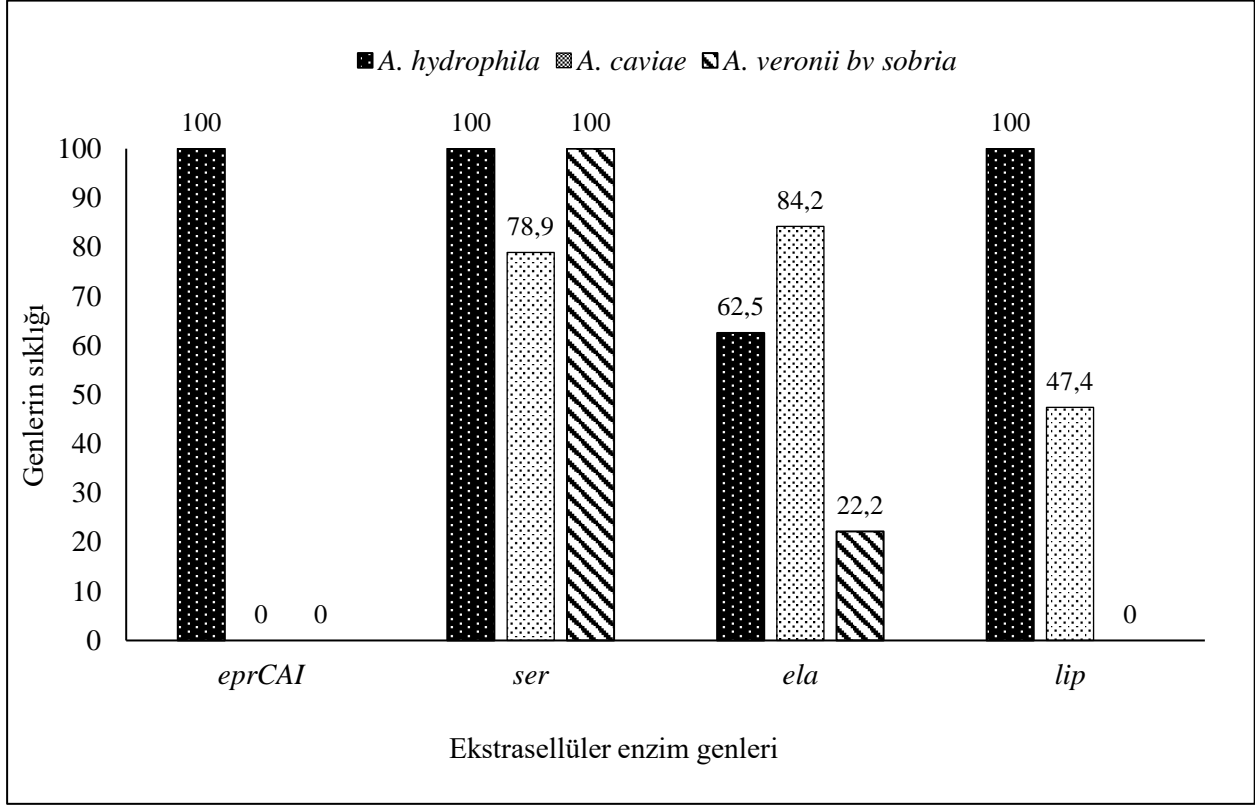
Şekil 1. Ekstrasellüler enzim geni taşıyan *Aeromonas* izolatlarına ait agaroz jel görüntüsü. Hat M; Moleküler ağırlık standardı (100 bç, Vivantis), Hat 1, 5, 8, 10; Pozitif kontrol (*A. hydrophila* ATCC 7966), Hat 2, 3, 4; *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii* *bv sobria*, Hat 6, 7; *A. hydrophila* ve *A. caviae*, Hat 9; *A. hydrophila*, Hat 11, 12, 13; *A. hydrophila*, *A. caviae*, ve *A. veronii* *bv sobria* izolatları

Bu çalışma sonucunda, 36 hareketli *Aeromonas* izolatı arasında *eprCAI*, *ser*, *ela* ve *lip* ekstrasellüler enzim gen varlığının dağılımı Çizelge 3’te gösterilmiştir.

Çizelge 3. Alabalık örneklerinden tanımlanan 36 hareketli *Aeromonas* izolatında ekstrasellüler enzim genlerinin varlığı

Genler	Pozitif izolat sayısı	Gen sıklığı (%)
Sıcaklık-duyarlı proteaz (<i>eprCAI</i>)	8	22,2
Serin proteaz (<i>ser</i>)	32	88,9
Elastaz (<i>ela</i>)	23	63,9
Lipaz (<i>lip</i>)	17	47,2

Aeromonas izolatlarının en fazla *ser* genine (%88,9), en az ise *eprCAI* genine sahip olduğu (%22,2) bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda, hareketli *Aeromonas* türlerinde tespit edilen *eprCAI*, *ser*, *ela* ve *lip* ekstrasellüler enzim genlerinin dağılımı Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Alabalıktan izole edilen hareketli *Aeromonas* türleri arasında ekstrasellüler enzim genlerinin dağılımı

Alabalık örneklerinden elde edilen 8 *A. hydrophila* izolatın hepsinde (%100) *eprCAI*, *ser* ve *lip* genlerin varlığı saptanmıştır. Ancak 5 *A. hydrophila* izolatı (%62,5) *ela* geni için pozitif bulunmuştur. *A. caviae* izolatlarında %78,9, %84,2 ve %47,4 oranında sırasıyla *ser*, *ela* ve *lip* genleri belirlenmiştir. Toplam 9 *A. veronii bv sobria* izolatının hepsi (%100) *ser* genini taşıdığı belirlenmiştir. Ancak *A. veronii bv sobria* izolatların hiçbirinin *eprCAI* ve *lip* genlerini taşımadığı saptanmıştır. Bu çalışmada, hareketli *Aeromonas* türlerinin hepsi en az bir veya daha fazla virulans ile ilişkili olduğu bilinen ekstrasellüler enzim genleri için pozitif bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen enzim gen profillerinin *Aeromonas* türleri arasında dağılımı Çizelge 4’de verilmiştir.

Çizelge 4. Alabalıktan izole edilen hareketli *Aeromonas* türlerinde ekstrasellüler enzim gen profilleri

Hareketli <i>Aeromonas</i> türleri	Gen kombinasyonu	Profil tipi	Pozitif izolat sayısı (%)
<i>A. hydrophila</i> (n=8)	<i>eprCAI, ser, ela, lip</i>	I	5 (13,9)
	<i>eprCAI, ser, lip</i>	II	3 (8,3)
<i>A. caviae</i> (n=19)	<i>ser, ela, lip</i>	III	6 (16,7)
	<i>ser, ela</i>	IV	6 (16,7)
	<i>ela, lip</i>	V	3 (8,3)
	<i>ser</i>	VI	3 (8,3)
	<i>ela</i>	VII	1 (2,8)
<i>A. veronii</i> bv <i>sobria</i> (n=9)	<i>ser, ela</i>	IV	2 (5,6)
	<i>ser</i>	VI	7 (19,4)
Toplam			36 (100)

Hareketli *Aeromonas* türleri arasında 7 farklı enzim gen profili tespit edilmiştir. Bu türler arasında 5 farklı enzim profili taşıyan *A. caviae* izolatları en fazla gen kombinasyonuna sahip bulunmuştur. *A. hydrophila* izolatlarının %62,5'i profil I tipinde olup, tüm ekstrasellüler enzim genleri için pozitif bulunmuştur. *A. caviae* izolatlarının %21,1'i (profil VI ve profil VII) tek bir geni taşımıştır. Bunun yanı sıra, *A. veronii* bv *sobria* izolatlarının %77,8'inde (profil VI) tek bir enzim geni bulunmuştur.

4. TARTIŞMA

Aeromonas cinsi bakteriler en çok deniz ve tatlı su ortamlarında bulunurlar. Bundan dolayı balıkların ve diğer hayvanların bu cinsin üyeleri ile temas etmesi kaçınılmaz olmaktadır [2, 7]. *Aeromonas* cinsi bakterilerin virulansını etkileyen birçok faktör vardır. Enzim ve sitokinlerden oluşan ekstrasellüler proteinler bakterinin patojenitesi ile ilişkili olup, hastalık oluşturma sürecinde farklı rol oynarlar [17, 47]. *Aeromonas* türleri tarafından üretilen proteaz ve lipaz gibi ısıya dayanıklı ekstrasellüler enzimler gıdaların bozulmasını ve enfeksiyonların oluşumunu kolaylaştırmaktadır [16, 47].

Bu çalışmada, alabalık örneklerinden elde edilen *A. hydrophila* izolatlarının hepsinin sıcaklık-duyarlı proteaz (*eprCAI*) genine sahip olduğu, *A. caviae* ve *A. veronii* bv *sobria* izolatlarının ise bu gene sahip olmadığı saptanmıştır. Bizim sonuçlarımızın aksine Mısır'da yapılan bir çalışma, balık çiftliklerindeki *A. hydrophila* izolatlarının *eprCAI* genini taşımadığını bildirmiştir [51]. Nil tilapia balıklarında hareketli *Aeromonas* türleri üzerine yapılan bir çalışmada, *A. hydrophila* izolatlarının %46'sı ve *A. veronii* bv *sobria* izolatlarının ise %75'i *eprCAI* geni için pozitif bulunmuştur [52]. Çin'de hasta ve sağlıklı balıklar ile su ortamından izole edilen *Aeromonas* izolatlarında sıcaklığa duyarlı proteaz (*eprCAI*) ve serin proteaz (*ahp*) genlerinin varlığı araştırılmış, sağlıklı balıklardan elde edilen *A. hydrophila* ve *A. veronii* suşlarında her iki proteaz geni bulunmuştur [7]. İsrail sazani olarak bilinen *Carassius gibelio* türünden elde edilen iki *A. veronii* suşundan biri *eprCAI* geni pozitif olarak saptanmıştır [53].

Serin proteazlar, sitotoksik özellikler sergileyen termostabil enzimlerdir [30]. Khor ve arkadaşları [54] tarafından yapılan bir çalışmada hareketli *Aeromonas* izolatlarının %90,7'sinde serin proteaz (*ser*) geni saptanmış olup, bizim sonuçlarımızla uyumludur (%88,9). Benzer olarak, Chacon ve arkadaşları [55] klinik ve çevre örneklerinden elde edilen tüm beta hemolitik *Aeromonas* suşlarında *ser* geninin varlığını bildirmiştir. Bununla birlikte, farklı balık türlerinden elde edilen hareketli *Aeromonas* izolatlarında *ser* geninin varlığının %45,8-55 arasında değiştiği tespit edilmiştir [46, 47, 52, 56]. *A. hydrophila* izolatlarında %100 oranında *ser* geninin varlığı ile ilgili birçok çalışma bildirilmiştir [54, 57], bu sonuçlar bizim

bulgularımızla da uyumludur. Li ve arkadaşları [58], *A. hydrophila* izolatlarının %76,9'unda serin proteaz genini saptamıştır. *A. veronii* izolatlarımızın hepsi (%100) *ser* geni için pozitif bulunmuş olup, Nawaz ve arkadaşlarının [43] yaptığı çalışmada *A. veronii* izolatlarının %82'sinde *ser* geni saptanmıştır. Abu-Elala ve arkadaşları [52] tarafından yapılan bir çalışmada, Nil tilapia balıklarından izole edilmiş *A. veronii* bv *sobria* izolatlarında *ser* geni tespit edilmemiştir. Benzer şekilde, kabuklu deniz ürünlerinden elde edilen *A. veronii* suşlarının hiçbirinde *ser* geni saptanmamıştır [59].

Aeromonas'ın patogeneğinde önemli bir virulans faktör olan elastaz, bir metallo proteazdır. Bu çalışmanın sonucunda, *A. hydrophila* izolatlarının %62,5'unda elastaz geni saptanmıştır. Mzula ve arkadaşları [46] ve Oliveira ve arkadaşları [45] çalışmalarında elastaz geninin bulunma sıklığını sırasıyla %45,8 ve %46,5 olarak saptamışlardır. Bu sonuçlar bizim bulgularımızdan daha düşüktür. Ancak, Ruhil Hayati ve arkadaşlarının [57] yaptığı bir çalışmada, hastalık taşıyan tatlı su balıklarından izole edilen hiçbir *A. hydrophila* izolatının *ela* genini taşımadığı rapor edilmiştir. Malezya'da Khor ve arkadaşları [54] tarafından yapılan bir çalışmada, tatlı su göllerinden elde edilen hareketli *Aeromonas* türlerine (*A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii*) ait izolatların %38,9'unun elastaz (*ela*) gen bölgesine sahip olduğu ve bu sonucun bizim bulgularımızdan (%63,9) daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, *A. veronii* izolatlarının %22,2'si *ela* geni taşıyorken başka bir çalışmada kedi balığından (catfish) izole edilen *A. veronii* izolatlarının hiçbirinde *ela* geni tespit edilmemiştir [43]. Zhou ve arkadaşları [60], *A. veronii* izolatlarının %16,7 oranında *ela* gen bölgesi için pozitif bulunduğunu bildirmiştir. Xu ve arkadaşlarının 2021 yılında yaptığı bir çalışmada [59], kabuklu deniz ürünlerinden elde edilen *A. veronii* suşlarında elastaz geninin varlığı %12,7 olarak bildirilmiştir. Sonuçlarımızın aksine, Mzula ve arkadaşlarının [46] çalışmasında balıklardan izole edilmiş olan *A. veronii* izolatlarında elastaz geni daha yüksek oranda (%87,1) saptanmıştır.

Lipaz üreten mikroorganizmalar doğada çok geniş bir yayılım gösterir [2, 16, 30]. Lipaz aktivitesi hem klinik hem çevre kökenli *Aeromonas* suşlarında bildirilmiş olup [4, 44, 43, 47, 55, 60, 61], tüm *A. hydrophila* izolatlarının lipaz (*lip*) genini taşıdığını gösteren çalışma sonuçlarının [57, 60-62] bizim bulgularımızla benzerlik gösterdiği görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda *A. caviae* izolatlarının tamamında (%100) lipaz geni bulunduğu bildirilmiştir [47, 54, 60]. Bu sonuçların aksine, çalışmamızda *A. caviae* izolatlarında lipaz geni daha düşük oranda (%47,4) bulunmuştur. Ayrıca, çalışmamız *A. veronii* bv *sobria* izolatlarının hiçbirinin *lip* geni taşımadığını ortaya koymuştur. Daha önce yapılan çalışma sonuçları *A. veronii* izolatlarında *lip* geninin varlığının %8,3 ile %85 arasında değiştiğini rapor etmiştir [43, 47, 59, 60].

Ülkemizde, balık ve et ürünlerinde [63], deniz ve tatlı su balıklarında [64] ve deniz ürünlerinde [65] hareketli *Aeromonas* varlığı üzerine birçok çalışma rapor edilmiştir. Ancak, balık kökenli *Aeromonas* izolatlarında ekstrasellüler enzimleri kodlayan virulans genleri ile ilgili sınırlı çalışma vardır. Onuk ve arkadaşları [66] yaptıkları bir çalışmada, kıyı bölgelerindeki (Karadeniz, Ege ve Akdeniz) gökkuşuğu alabalık ve balık çiftliğindeki su örneklerinden *Aeromonas* türlerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu *Aeromonas* türleri arasında *A. hydrophila* izolatlarının %71,4'ü ve %85,7'si sırasıyla *ser* ve *lip* genleri için pozitif bulunmuş olup, bizim bulgularımızdan daha düşüktür. Bununla birlikte, Onuk ve arkadaşlarının çalışmasında [66], *A. veronii* izolatlarında %16,7 oranında *ser* geni bulunmuş ancak hiçbir izolatta *lip* geni tanımlanmamıştır. Bu sonuçlar, lipaz geni sonuçlarımıza benzerlik göstermektedir, ancak serin proteaz sonuçlarımızdan oldukça düşüktür (%100).

Yukarıda bahsedildiği gibi dünyada ve ülkemizde *Aeromonas* türlerinde ekstrasellüler enzim genlerinin varlığı üzerine yapılan çalışmalarda genlerin saptanma oranlarında farklılıklar olduğu görülmüştür. Coğrafik farklılıklar, bakterilerin türü, büyüme şartları, bakterilerin davranış biçimleri ve izolasyon kaynağı bu farklılıkların sebebi olarak gösterilebilir [23, 47, 48, 59, 66].

Sonuç olarak, bu çalışmada alabalık örneklerinden elde edilen hareketli *Aeromonas* türlerine ait izolatların patojenitesinde ve balıkların bozulmasında önemli rol oynayan proteaz ve lipaz gibi ekstrasellüler enzimlerin varlığı araştırılmıştır. Hareketli *Aeromonas* türleri arasında yer alan *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii* bv *sobria* insanlarda ve balıklarda hastalık yapan fırsatçı patojenlerdir. Genel olarak, *Aeromonas* izolatları en az bir veya daha fazla ekstrasellüler enzim genleri için pozitif bulunmuştur. Bu nedenle,

hareketli *Aeromonas* türleri ile balıkların kontaminasyonu ve bu kontamine olmuş balıkların tüketilmesi gıda kalitesi, gıda güvenliği ve tüketici sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturabilmektedir. Bu muhtemel riski önlemek için balığın satın alım, taşıma, saklama, hazırlık ve pişirme gibi tüm aşamalarında hijyen kurallarına dikkat edilmesi önem taşımaktadır. Ayrıca, bu patojenlerin balıklarda sebep olacağı hastalıklar kalite ve ekonomik kayıplara neden olabilecektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Krovacek, K. and Faris, A. (2003). *Aeromonas* species. In: Miliotis, M.D. and Bier J.W., editors. International Handbook of Foodborne Pathogens, Marcel Dekker, Inc. USA.
- [2] Farmer III, J.J., Arduinonii, M.J., and Hickman-Brenner, F.W. (2006). The genera *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, and E. Stackebrandt, editors. The Prokaryotes. New York: Springer, 564–596.
- [3] Radu, S., Ahmad, N., Ling, F.H., and Reezal, A. (2003). Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 261-266.
- [4] Castro-Escarpulli, G., Figueras, M.J., Aguilera-Arreola, G., Soler, L., Fernández-Rendón, E., Aparicio, G.O., Guarro, J., and Chacon, M.R. (2003). Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human 439 consumption in Mexico. *International Journal of Food Microbiology*, 84(1), 41-49.
- [5] Da Silva, M., Matte, G., Germano, P., and Matte, M. (2010). Occurrence of pathogenic microorganisms in fish sold in Sao Paulo, Brazil. *Journal of Food Safety*, 30, 94-110.
- [6] Sharma, I. and Kumar, A. (2011). Occurrence of enterotoxigenic *Aeromonas* species in foods of animal origin in North East India. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15, 883-887.
- [7] Hu, M., Wang, N., Pan, Z.H., Lu, C.P., and Liu, Y.J. (2012). Identity and virulence properties of *Aeromonas* isolates from diseased fish, healthy controls and water environment in China. *Letters in Applied Microbiology*, 55, 224-233.
- [8] Bhat, S.B., Khan, A.M., Bashir, S.M., and Roy, S.S. (2013). Isolation and antibiogram profile of *Aeromonas* species from common carp (fish) of Kashmir Valley. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 7, 1165-1169.
- [9] Arslan, S. and Küçüksarı, R. (2015). Phenotypic and genotypic virulence factors and antimicrobial resistance of motile *Aeromonas* spp. from fish and ground beef. *Journal of Food Safety*, 35, 551-559.
- [10] Isonhood, J.H. and Drake, M. (2002). *Aeromonas* species in foods. *Journal of Food Protection*, 65, 575-582.
- [11] Kingombe, C.I., Huys, G., Howald, D., Luthi, E., Swings, J., and Jemmi, T. (2004). The usefulness of molecular techniques to assess the presence of *Aeromonas* spp. harboring virulence markers in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 94(2), 113-121.
- [12] Igbinosa, O.E., Odjardare, E.E., Akpor, O.B., Aiyegoro, O.A., and Ogunmwonyi, I.H. (2006). Incidence and prevalence of *Aeromonas* species from retail food: public health implications. *Science Focus*, 12 (2), 19-22.
- [13] Ottaviani, D., Parlani, C., Citterio, B., Masini, L., Leoni, F., Canonico, C., Sabatini, L., Bruscolini, F., and Pianetti, A. (2011). Putative virulence properties of *Aeromonas* strains isolated from food, environmental and clinical sources in Italy: A comparative study. *International Journal of Food Microbiology*, 144(3), 538-545.
- [14] Zhang Q, Shi, G.Q., Tang, G.P., Zou, Z.T., Yao, G.H., and Zeng, G. (2012). A foodborne outbreak of *Aeromonas hydrophila* in a college, Xingyi City, Guizhou, China, 2012. *Western Pacific Surveillance and Response*, 3(4).
- [15] Martin-Carnahan, A. and Joseph, S.W. (2005). Genus I. *Aeromonas*. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R. and Staley, J.T., editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Springer, New York, 557-578.
- [16] Ray, B. (2004). *Fundamental Food Microbiology*. 3rd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- [17] Fernandez-Bravo A. and Figueras M.J. (2020). An Update on the Genus *Aeromonas*: Epidemiology, and Pathogenicity. *Microorganisms*, 8, 129.
- [18] Janda, J.M. and Abbott, S.L. (2010). The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 23, 35-73.
- [19] Kirov, S.M. (2003). Bacteria that express lateral flagella enable dissection of the multifunctional roles of flagella in pathogenesis. *FEMS Microbiology Letters*, 224, 151-159.
- [20] Janda, J.M. and Abbott, S.L. (1998). Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. *Clinical Infectious Diseases* 27, 332-344.
- [21] İşleyici, Ö. ve Sancak, Y. C. (2009). Gıdalarda Hareketli *Aeromonas*'lardan Kaynaklanan Sağlık Riskleri. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2), 69-74.
- [22] Camus, A.C., Durborow, R.M., Hemstreet, W.G., Thune, R.L., and Hawke, J.P. (1998). *Aeromonas* Bacterial Infections-Motile Aeromonad Septicemia. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC), 478.

- [23] Şık, Z., Altındaş, Ö., ve Atıcı, E.G. (2020). Balıklardan izole edilen bakteriyel etkenler: Beş yıllık değerlendirme. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 31(1), 29-33.
- [24] Singh, V., Rathore, G., Kapoor, D., Mishra, B.N., and Lakra, W.S. (2008). Detection of aerolysin gene in *Aeromonas hydrophila* isolated from fish and pond water. *Indian Journal of Microbiology*, 48, 453-458.
- [25] Cascon, A., Fregenda, J., Allen, M., Yugueros, J., Temprano, A., and Hernanz, C. (2000). Cloning, characterization and insertional inactivation of a major extracellular serine protease gene with elastolytic activity from *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Fish Diseases*, 23, 49-59.
- [26] Rabaan, A.A., Gryllos, I., Tomas, J.M., and Shaw, J.G. (2001). Motility and the polar flagellum are required for *Aeromonas caviae* adherence to HEp-2 cells. *Infection and Immunity*, 69, 4257-4267.
- [27] Merino, S., Aguilar, A., Noguerras, M.M., Regue, M., Swift, S., and Tomas, J.M. (1999). Cloning, sequencing, and role in virulence of two phospholipases (A1 and C) from mesophilic *Aeromonas* sp. serogroup O:34. *Infection and Immunity*, 67, 4008-4013.
- [28] Pemberton, J.M., Kidd, S.P., and Schmidt, R. (1997). Secreted enzymes of *Aeromonas*. *FEMS Microbiology Letters*, 152, 1-10.
- [29] Thomas, J.M. (2012). The main *Aeromonas* pathogenic factors. International Scholarly Research Network, 256261.
- [30] Rasmussen-Ivey, C., Figueras, M.J., McGarey, D., and Liles, M.R. (2016). Virulence Factors of *Aeromonas hydrophila*: In the Wake of Reclassification. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1337.
- [31] Rivero, O., Anguita, J., Paniagua, C., and Naharro, G. (1990). Molecular cloning and characterization of an extracellular protease gene from *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Bacteriology*, 172, 3905-3908.
- [32] Leung, K.Y. and Stevenson, R.M. (1988). Characteristics and distribution of extracellular protease from *Aeromonas hydrophila*. *Journal of General Microbiology*, 134, 151-160.
- [33] Esteve, C. and Birkbeck, T.H. (2004). Secretion of haemolysins and proteases by *Aeromonas hydrophila* EO63: separation and characterization of the serine protease (caseinase) and the metalloprotease (elastase). *Journal of Applied Microbiology*, 96, 994-1001.
- [34] Zacaria, J., Delamare, A.P.L., Costa, S.O.P., and Echeverrigaray, S. (2010). Diversity of extracellular proteases among *Aeromonas* determined by zymogram analysis. *Journal of Applied Microbiology*, 109, 212-219.
- [35] Loewy, A.G., Santer, U.V., Wiczorek, M., Blodgett, J.K., Jones, S.W., and Cheronis, J.C. (1993). Purification and characterization of a novel zinc-proteinase of *Aeromonas hydrophila*. *Journal Biological Chemistry*, 268, 9071-9078.
- [36] Nakasone, N., Toma, C., Song, T., and Iwanaga, M. (2004). Purification and characterization of a novel metalloprotease isolated from *Aeromonas caviae*. *FEMS Microbiology Letters*, 237, 127-132.
- [37] Rivero, O., Anguita, J., Mateos, D., Paniagua, C., and Naharro, G. (1991). Cloning and characterization of an extracellular temperature-labile serine protease gene from *Aeromonas hydrophila*. *FEMS Microbiology Letters*, 81, 1-7.
- [38] Toma, C., Ichinose, Y., and Iwanaga, M. (1999). Purification and characterization of an *Aeromonas caviae* metalloprotease that is related to the *Vibrio cholera* hemagglutinin/protease. *FEMS Microbiology Letters*, 170, 237-242.
- [39] Okamoto, K., Nomura, T., Hamada, M., Fukuda, T., Noguchi, Y., and Fujii, Y. (2000). Production of serine protease of *Aeromonas sobria* is controlled by the protein encoded by the gene lying adjacent to 3' end of the protease gene. *Microbiology and Immunology*, 9, 787-798.
- [40] Cho, S., Park, J., Park, S.J., Lim, J., Kim, E.H., Cho, Y., and Shin, K. (2003). Purification and characterization of extracellular temperature-stable serine protease from *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Microbiology*, 41, 207-211.
- [41] Nam, I. and Joh, K. (2007). Rapid detection of virulence factors of *Aeromonas* isolated from a trout farm by hexaplex-PCR. *Journal of Microbiology*, 45, 297-304.
- [42] Rao, M.B., Tanksale, A.M., Ghatge, M.S., and Deshpande, V.V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62, 597-635.
- [43] Nawaz, M., Khan, S.A., Khan, A.A., Sung, K., Tran, Q., Kerdahi, K., and Steele, R. (2010). Detection and characterization of virulence genes and integrons in *Aeromonas veronii* isolated from catfish. *Food Microbiology*, 27, 327-331.
- [44] Sen, K. and Rogers, M. (2004). Distribution of six virulence factors in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification. *Journal of Applied Microbiology*, 97, 1077-1086.
- [45] Oliveira, S.T.L., Veneroni-Gouveia, G., and Costa, M.M. (2012). Molecular characterization of virulence factors in *Aeromonas hydrophila* obtained from fish. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 32(8), 701-706.
- [46] Mzula, A., Wambura, P.N., Mdegela, R.H., and Shirima, G.M. (2020). Virulence pattern of circulating aeromonads isolated from farmed Nile tilapia in Tanzania and novel antibiotic free attenuation of *Aeromonas hydrophila* strain TZR7-2018. *Aquaculture Reports*, 17, 100300.

- [47] Pessoa, R.B.G., Marques, D.S.C., Lima, R.O.H.A. Oliveira, M.B.M., Lima, G.M.S., Maciel de Carvalho, E.V.M., and Coelho, L.C.B.B. (2020). Molecular characterization and evaluation of virulence traits of *Aeromonas* spp. isolated from the tambaqui fish (*Colossoma macropomum*). *Microbial Pathogenesis*, 147, 104273.
- [48] Arslan, S., ve Küçüksarı, R. (2015). Phenotypic and genotypic virulence factors and antimicrobial resistance of motile *Aeromonas* spp. from fish and ground beef. *Journal of Food Safety*, 35, 551-559.
- [49] Ausubel, F.M., Kingston, R.E., Brent, R., Moore, D.D., Seidman, J., Smith J.A., and Struhl, K. (1991). Current protocols in molecular biology, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, New York.
- [50] Ren, Y., Lu, C.P., and Yao, H.C. (2006). Cloning, sequence analysis and detection of an extracellular temperature labile protease encoding gene (*eprJ*) from *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Fishery Sciences China*, 6, 924-927.
- [51] Mansour, A., Mahfouz, N.B., Husien, M.M., and El-Magd, M.A. (2019). Molecular identification of *Aeromonas hydrophila* strains recovered from Kafrelsheikh fish farms. *Slovenian Veterinary Research*, 22, 201-208.
- [52] Abu-Elala, N., Abdelsalam, M., Marouf, Sh., and Setta, A. (2015). Comparative analysis of virulence genes, antibiotic resistance and *gyrB*-based phylogeny of motile *Aeromonas* species isolates from Nile tilapia and domestic fowl. *Letters in Applied Microbiology*, 61, 429-436.
- [53] Sun, J., Zhang, X., Gao, X., Jiang, Q., Wen, Y., and Lin, L. (2016). Characterization of Virulence Properties of *Aeromonas veronii* isolated from diseased Gibel Carp (*Carassius gibelio*). *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 496.
- [54] Khor, W.C., Puah, S.M., Tan, J.A.M.A., Puthuchery, S., and Chua, K.H. (2015). Phenotypic and Genetic Diversity of *Aeromonas* species isolated from freshwater lakes in Malaysia. *PLOS ONE*, 10 (12).
- [55] Chacon, M.R., Figuras M.J., Castro-Escarpullí G., Soler L., and Guarro J. (2003). Distribution of virulence genes in clinical and environmental isolates of *Aeromonas* spp. *Antonie van Leeuwenhoek* 84, 269-278.
- [56] Fong, J.J., Cho, H.J., Park, M.S., and Lim, Y.W. (2016). Evaluating seasonality and pathogenicity of *Aeromonas* in Korea using environmental DNA. *Asian Journal of Microbiology Biotechnology and Environmental Sciences*, 18, 605-613.
- [57] Ruhil, Hayati H, Hassan, M.D., Ong, B.L., Abdelhadi, Y.M., Nur Hidayahanum, H., Sharifah, R.M., Nora Faten, A.M., Kuttichantran, S., and Alsaïd, M. (2015). Virulence genes detection of *Aeromonas hydrophila* originated from diseased freshwater fishes. *Advances in Environmental Biology*, 9 (22), 22-26.
- [58] Li, J., Ni, X.D., Liu, Y.J., and Lu, C.P. (2011). Detection of three virulence genes *alt*, *ahp* and *aerA* in *Aeromonas hydrophila* and their relationship with actual virulence to zebrafish. *Journal of Applied Microbiology*, 110, 823-830.
- [59] Xu, Y.X., Zhan, H.P., Xu, G.Y., Muhamamda, I., Dong, W.I., Wang, Y.M., Kong, L.C., Ma, H.X. (2021). Virulence and drug resistance of *Aeromonas veronii* isolated from shellfish. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 51(1), 21-27.
- [60] Zhou, Y., Yu, L., Nan, Z., Zhang, P., Kan, B., Yan, D., and Su, J. (2019). Taxonomy, virulence genes and antimicrobial resistance of *Aeromonas* isolated from extra-intestinal and intestinal infections. *BMC Infectious Diseases*, 19, 158.
- [61] Shuang, M., Lu, W.Y., Geng, L.C., Jing, Y., Min, Y., Ning, B.X., Dong, J., Rong, L.J., Gang, C.Z., and Juan L. (2020). Genetic Diversity, Antimicrobial Resistance, and Virulence Genes of *Aeromonas* Isolates from Clinical Patients, Tap Water Systems, and Food. *Biomedical and Environmental Sciences*, 33(6), 385-395.
- [62] Swaminathan, T.R., Rathore, G., Abidi, A., and Kapoor, D. (2004). Detection of *Aeromonas hydrophila* by polymerase chain reaction. *Indian Journal of Fisheries*, 51(2), 251-254.
- [63] Erdem, B., Karıptaş, E., Çil, E., ve Işık, K. (2011). Biochemical identification and numerical taxonomy of *Aeromonas* spp. isolated from food samples in Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 35, 463-472.
- [64] Yücel, N. ve Balcı, Ş. (2010). Prevalence of *Listeria*, *Aeromonas*, and *Vibrio* Species in Fish Used for Human Consumption in Turkey. *Journal of Food Protection*, 73 (2), 380-384.
- [65] Kahraman, B.B., Dumen, E., Issa, G., Kahraman, T., ve İkiz, S. (2017). Incidence of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides* in Seafoods. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17, 1309-1312.
- [66] Onuk, E.E., Fındık, A., Turk, N., Altun, S., Korun, J., Ozer, S., Avsever, M.L., ve Çiftçi, A. (2013). Molecular identification and determination of some virulence genes of *Aeromonas* spp. in fish and water from Turkish coastal regions. *Revue de Medecine Veterinaire*, 164, 4, 200-206.

MoO₃ Arayüzey Tabakalı Metal/Yarıiletken Yapısının Düşük Frekans Değerleri için Dielektrik Özelliklerinin İncelenmesi

Yunus Özen^{1,2*}, Halil İbrahim Efkeri², Tarık Asar^{1,2}, Süleyman Özçelik^{2,3}

¹Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, 06500, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi, Fotonik Uygulama ve Araştırma Merkezi, 06500, Ankara, Türkiye

³Gazi Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Fotonik Bölümü, 06500, Ankara, Türkiye

Öne Çıkanlar

- MoO₃ ince filmin elde edilerek dielektrik davranışının ortaya konması
- Düşük frekans değerleri için analiz yapılması
- Au/MoO₃/n-GaAs yapısının bir MOS kapasitör gibi davranması

Makale Bilgileri

Geliş: 14.04.2021
Kabul: 27.04.2021

Anahtar Kelimeler

Au/MoO₃/n-GaAs yapısı,
C-V ve G/ω-V ölçümleri,
Düşük frekans analizi,
Dielektrik parametreler

Özet

Bu çalışmada, Molibden trioksit (MoO₃) ara tabakalı Au/n-GaAs yapısının dielektrik özellikleri 0-4 V aralığında 0.25 V adımlarla düşük frekanslar için incelendi. MoO₃ ince filmi radyo frekansı (RF) magnetron püskürtme yöntemi kullanılarak n-tipi GaAs alttaş üzerine biriktirildi. Au/MoO₃/n-GaAs yapısının oda sıcaklığında 10, 20, 30, 50, 70 ve 100 kHz frekanslarında, kapasitans-voltaj (C-V) ve kondüktans-voltaj (G/ω-V) ölçümleri yapıldı. Bu ölçüm sonucunda C ve G dataları kullanılarak Au/MoO₃/n-GaAs yapısının dielektrik parametreleri belirlendi. Dielektrik sabiti (ε'), dielektrik kayıp (ε''), dielektrik kayıp tanjantı (tanδ), elektriksel modülüsün (M) gerçel kısmı (M'), sanal kısmı (M'') ve elektrik iletkenliği (σ_{ac}) gibi dielektrik parametreler frekansa bağlı olarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlara göre, MoO₃ arayüzey tabakasının kapasitör uygulamaları için uygun olduğu görüldü.

Investigation of Dielectric Properties of Metal/Semiconductor Structure with MoO₃ Interface Layer for Low Frequency Values

Highlights

- Determination of the dielectric behavior by obtaining the MoO₃ thin film
- Analysis for low frequency values
- Au/MoO₃/n-GaAs structure behaves like a MOS capacitor

Article Info

Received: 14.04.2021
Accepted: 27.04.2021

Keywords

Au/MoO₃/n-GaAs structure,
C-V and G/ω-V measurements,
Low frequency analysis,
Dielectric parameters

Abstract

In this study, the dielectric properties of Au / n-GaAs structure with Molybdenum trioxide (MoO₃) interlayer were investigated for low frequencies in the temperature range of 0-4 V by 0.25 V steps. MoO₃ thin films were deposited on n-type GaAs substrate using radio frequency (RF) magnetron sputtering method. 10, 20, 30, 50, 70 and 100 kHz frequencies capacitance-voltage (C - V) and conductance - voltage (G/ω - V) measurements of the Au/ MoO₃/n-GaAs structure were made at room temperature. As a result of this measurement, dielectric parameters of Au/MoO₃/n-GaAs structure were determined by using C and G data. Dielectric parameters such as dielectric constant (ε'), dielectric loss (ε''), dielectric loss tangent (tanδ) real modulus (M'), imaginary modulus (M'') and electrical conductivity (σ_{ac}) were calculated depending on the frequency. According to the results, it has been seen that the MoO₃ interface layer is suitable for capacitor applications.



1. GİRİŞ

Molibden trioksit (MoO_3), vanadyum pentoksit (V_2O_5) veya tungsten trioksit (WO_3) gibi geleneksel geçiş metal oksit (TMO) bazlı ince filmler optoelektronik ve elektronik cihazlarda oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Bu filmler organik, inorganik ve hibrit yapıların cihaz performansını iyileştirmek için bir arayüz katmanı oluştururlar [1–3]. Yeni nesil teknoloji için tasarlanmış yapılara entegre olabilmek, yüksek şeffaflık değerleri, çeşitli yapılarda elektrot olarak bulunabilmeleri ve şarj üretimi / rekombinasyon olarak kullanılabilmesi nedeniyle TMO ince filmlere olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır [4, 5]. Özellikle, TMO ince filmlerinin arayüz özelliklerini kontrol etme ayrıcalığı, onları yeni nesil optoelektronik cihazların geliştirilmesi için umut verici bir malzeme haline getirmiştir [6]. TMO malzemeleri arasında MoO_3 , organik ve perovskite güneş hücreleri, organik ışık yayan cihazlar, gaz ve kimyasal sensörler, depolama cihazları gibi elektronik ve optoelektronik teknoloji için en yaygın kullanılan malzemelerden biridir [7–12]. MoO_3 ince filmlerin yaygın olarak kullanılmasının nedeni sadece gösterdikleri üstün elektronik özellikler değil, aynı zamanda kolay üretim ve depolama süreçleri ile üretilebilmesidir.

MoO_3 oluşturmak için termal buharlaşma [13], püskürtme [14], darbeli lazer biriktirme [15], kimyasal buhar biriktirme [16] atomik katman biriktirme [17], elektrodepozisyon [18] ve sprey piroliz [19] teknikleri gibi literatürde çok sayıda biriktirme tekniği bildirilmiştir. Bu biriktirme teknikleri arasında, homojen, yoğun ve tam stokiometrik ince filmler elde etme kabiliyeti nedeniyle püskürtme sistemi yaygın olarak tercih edilmektedir [20–22].

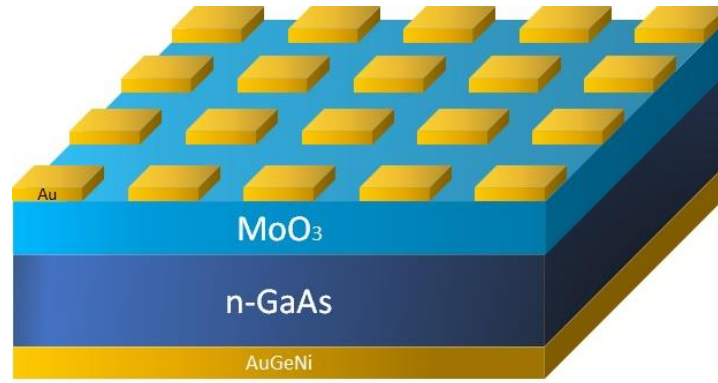
Son zamanlarda, MoO_3 tabanlı cihazlar üzerinde yapılan araştırma ve geliştirme çalışmaları artarak devam etmektedir. Alttaş olarak, teknolojik açıdan önemli olan yarı iletkenler Si ve GaAs yaygın kullanılmaktadır, çünkü bunlar entegre devrelerle hala oldukça uyumludurlar. Özellikle MoO_3 , arayüz katmanı olarak metal-oksit-yarı iletken (MOS) çoklu eklem tabanlı Schottky cihaz uygulamaları için benzersiz bir malzeme sistemi haline gelmiştir; burada arayüz kontrolünün, benzersiz elektriksel, optik ve yapısal özelliklerinden dolayı metal-yarı iletken temasında büyük önem taşımaktadır. Yeni nesil elektronik ve optoelektronik cihazları tasarlamak için, GaAs ve TMO malzemelerden oluşturulan hibrit yapıların fiziğini anlamak oldukça önemlidir. GaAs, taşıyıcılarının düşük etkili kütlesi nedeniyle yüksek hızlı ve radyo frekansı cihazları için gerekli olan mükemmel elektronik özellikleri sergiler.

Metal-yalıtkan-yarı iletken (MIS) ve metal-oksit-yarı iletken (MOS) yapıları, MS yapıları arasına bir arayüz katmanı eklenerek elde edilir. Arayüzey tabakalı MS yapısı, frekansa bağlı veya sıcaklığa bağlı admittans spektroskopisi ölçümlerindeki bazı değişiklikler gösterebilir. MIS / MOS yapılarının dielektrik özelliklerini etkileyen bazı parametreler vardır. Bunlardan bazıları malzeme hazırlama yöntemi, arayüzey tabakasının oluşumu ve homojenliği, arayüz durum yoğunluğu, metal ve yarı iletkenler arasındaki bariyer yüksekliğidir [23]. MIS / MOS yapılarının hem elektrik hem de dielektrik özelliklerini analiz etmenin en iyi yöntemlerinden biri frekansa bağlı analizdir. Arayüz durumlarının etkisini daha iyi anlamak için frekansa bağlı C-V-f ve G/ ω -V-f ölçümleri yapılır. Bu ölçümler sonucunda çeşitli fiziksel davranışlar belirlenebilir. Ek olarak, dielektrik davranışın frekansa bağlı olarak analizi, bir yapının gevşeme sürecini ve moleküler hareketini incelemeyi mümkün kılar [24, 25]. Dielektrik karakterizasyon, dielektrik sabiti ile yakından ilgili olan arayüz, elektronik, dipolar ve iyonik polarizasyonlardan etkilenen iletim mekanizmaları hakkında bilgi sağlar. Uygulanan bir elektrik alanının etkisi altındaki dielektrik malzemenin polarizasyon kapasitesi, karmaşık dielektrik sabitinin gerçek kısmı ile elde edilebilir [24, 25].

Bu çalışmada Au/ MoO_3 /n-GaAs yapısının dielektrik özellikleri 10–100 kHz frekans ve 0–4 V voltaj aralığında araştırıldı. Yapının ϵ' , ϵ'' , M' , M'' , ve σ_{ac} değerleri kapasitans-voltaj (C-V) ve kondüktans-voltaj (G/ ω -V) ölçüm değerleri kullanılarak hesaplandı.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

MoO₃ ince film yapısı RF magnetron püskürtme yöntemi kullanılarak (100) yönlendirmeli n-tipi GaAs alttaş üzerine biriktirildi. Biriktirme işleminden önce, GaAs alttaşın yüzey kirlilikleri gidermek için kimyasal bir temizleme işlemine tabi tutuldu. Temizleme işleminden sonra, GaAs alttaş ve MoO₃ hedefi püskürtme sistemine yüklendi. GaAs alttaş üzerine 30 nm'lik ince bir MoO₃ tabakası 0.2 Å/s lik biriktirme hızı ile 10⁻⁶ mbar'lık basınç altında biriktirildi. Yapının elektriksel karakterizasyonu için, başlangıçta 350 °C'de 200 nm kalınlığında AuGeNi biriktirilerek bir omik arka kontak oluşturuldu. Daha sonra, iyi omik kontak davranışı elde etmek için 350 °C'de son tavlama işlemi gerçekleştirildi. Son olarak, MoO₃/n-GaAs/AuGeNi yapısının fabrikasyonu, MoO₃ filmin ön yüzeyine kare şekilli doğrultucu kontaklar (2 mm x 2 mm, 200 nm kalınlık) yüksek saflıkta Au (% 99,999) kullanılarak biriktirmesi ile tamamlandı. C-V ve G/ω-V ölçümleri 10-100 kHz frekans aralığında HP 4192A LF empedans analizör yardımıyla oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Hazırlanan Au/MoO₃/n-GaAs/AuGeNi yapısının şematik diyagramı Şekil 1'de verildi.



Şekil 1. Au/MoO₃/n-GaAs/AuGeNi yapısının şematik gösterimi

3. BULGULAR

Hazırlanan Au/MoO₃/n-GaAs yapısının frekansa ve voltaja bağlı dielektrik özelliklerini incelemek için C-V ve G/ω-V ölçümleri 10, 20, 30, 50,70 ve 100 kHz için 0-4 V aralığında 0.25 V adımlar ile incelendi. Metal ile yarıiletken arasında sandviçlenen bir ince filmin veya tabakanın kompleks dielektrik sabiti $\epsilon^* = \epsilon' - j\epsilon''$ şeklinde ifade edilir ve burada ϵ' kompleks dielektrik sabitinin gerçel kısmı, ϵ'' ise sanal kısmı olup sırasıyla ölçülen sığa C ve G/ω değerlerinden voltaja bağlı olarak elde edilebilir. Hazırlanan yapının düşük frekanslarda ölçülen C-V ve G/ω-V ölçüm değerleri kullanılarak kompleks dielektrik sabiti (ϵ^*) aşağıdaki denklemle elde edilir [26–29].

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon' - j\epsilon'' = \frac{C}{C_0} - j \frac{G}{\omega C_0} \quad (1)$$

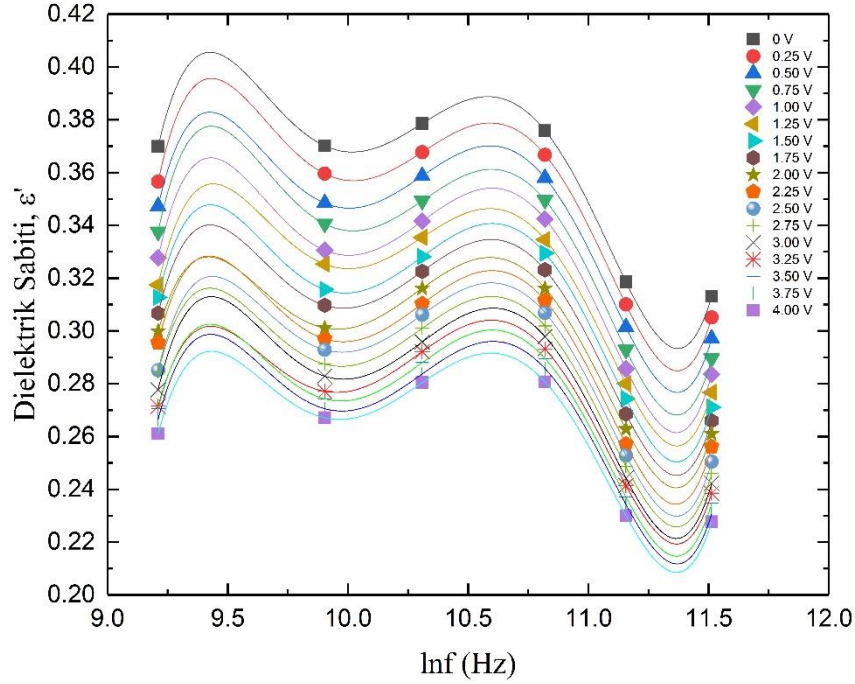
Elektriksel ve dielektrik davranıştan hesaplanan ϵ' ve ϵ'' değerleri, malzemenin fiziksel özellikleri hakkında bilgi sağlar. ϵ' olan gerçel kısım, malzemenin yük depolama ölçüsü ya da malzemenin kutuplaşabilmesidir. Sanal kısım ϵ'' ise kayıp faktörü olarak isimlendirilir, malzeme içerisinde ısı şeklinde yayılan enerjinin bir ölçüsü yani iyonik iletimden ya da malzemenin kutuplanmasının neden olduğu enerji kaybını ifade eder. Burada malzemenin dielektrikte oluşan enerji kaybı oranı kayıp tanjantı olarak adlandırılır [30]. ϵ' değerleri, ölçülen kapasitans değerleri kullanılarak aşağıdaki ifadede elde edilebilir

$$\epsilon' = \frac{C}{C_0} . \quad (2)$$

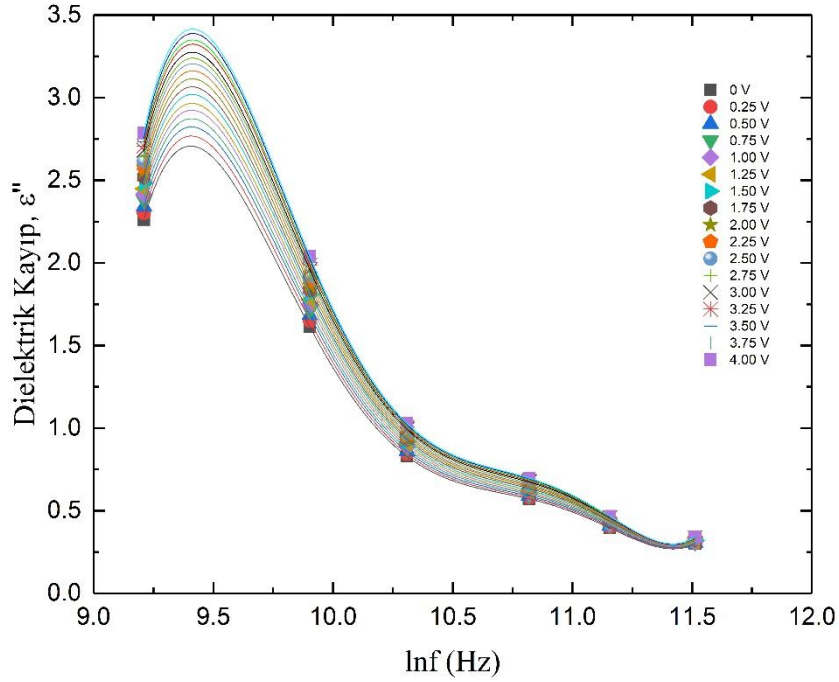
ϵ'' değerleri aşağıdaki denklemden ölçülen iletkenlik değerleri kullanılarak elde edilebilir

$$\epsilon'' = \frac{G}{\omega C_0} . \quad (3)$$

İdeal durumda, MIS veya MOS tipi bir aygıtın veya kapasitörün C ve G/ ω değerlerinin frekanstan bağımsız olması ve artan voltaj ile artması beklenir. Bu durum, ϵ' ve ϵ'' değerleri için de geçerlidir. Ancak uygulamalarda bu durum ideal durumunda olduğunda oldukça farklıdır. Çünkü bu aygıtlarda hem seri direnci (R_s) hem de arayüzey durumları/tuzakları (N_{ss}) sıfıra götürmek oldukça zordur. C-V ve G/ ω -V ölçümlerinden ϵ' ve ϵ'' grafikleri 10 – 100 kHz aralığında voltaja bağlı olarak sırasıyla Şekil 2 ve 3'de verildi.



Şekil 2. Oda sıcaklığında Au/MoO₃/n-GaAs yapısı için voltaja bağlı ϵ' –lnf grafiği



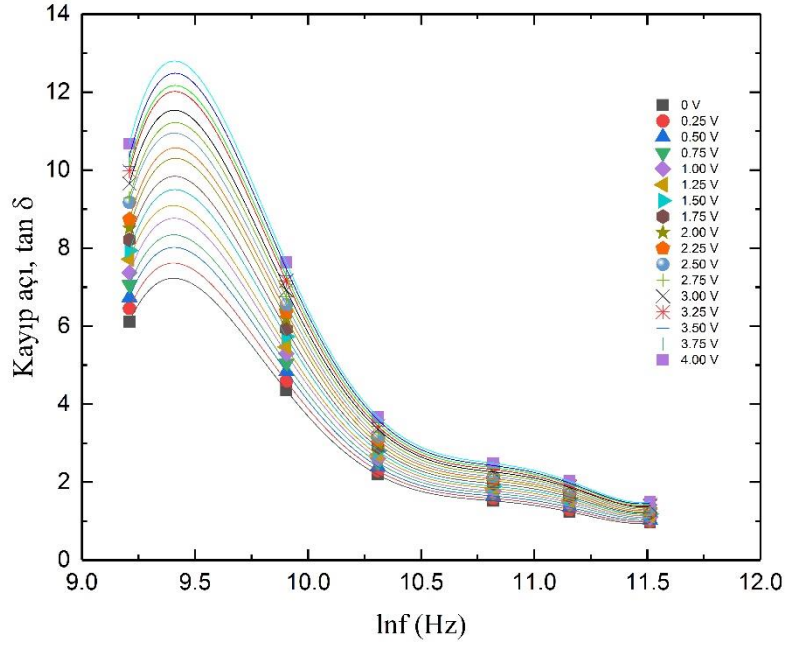
Şekil 3. Oda sıcaklığında Au/MoO₃/n-GaAs yapısı için voltaja bağlı ε'' – lnf grafiği

Şekil 2 ve 3'de görüldüğü gibi ε' ve ε'' değerleri hem frekansa hem de voltaja oldukça bağlıdır. Şekil 2'de görüldüğü gibi, ε'-lnf eğrisi tüm voltaj değerleri için aynı davranışı sergilemektedir. 10, 20, 30 ve 50 kHz değerleri için voltaja bağlı değerler neredeyse sabit bir davranış sergilerken, 70 ve 100 kHz değerleri için azalma eğilimi gösterdiler. Şekil 3'de görüldüğü gibi, ε'' değerleri artan frekansla azaldı. Artan frekans değeri ile birlikte ε'' değerleri her bir voltaj değeri için birbirine yaklaştı ve 100 kHz değerinde sabit bir değer aldı.

Diğer önemli bir dielektrik parametresi olan dielektrik kayıp tanjantı (tanδ) değeri, elde edilen ε' ve ε'' değerleri kullanılarak aşağıdaki eşitlikten her bir frekans değeri için hesaplandı ve 0-4 V aralığında 0.25 V adımlar ile Şekil 4' de verildi.

$$\tan\delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'} \quad (4)$$

Şekil 4' den görüldüğü gibi, tanδ-lnf eğrisi ε''-lnf eğrisi ile benzer davranış sergiledi. Artan frekans değerine bağlı olarak her bir voltaj değeri için birbirlerine yaklaştığı görüldü.

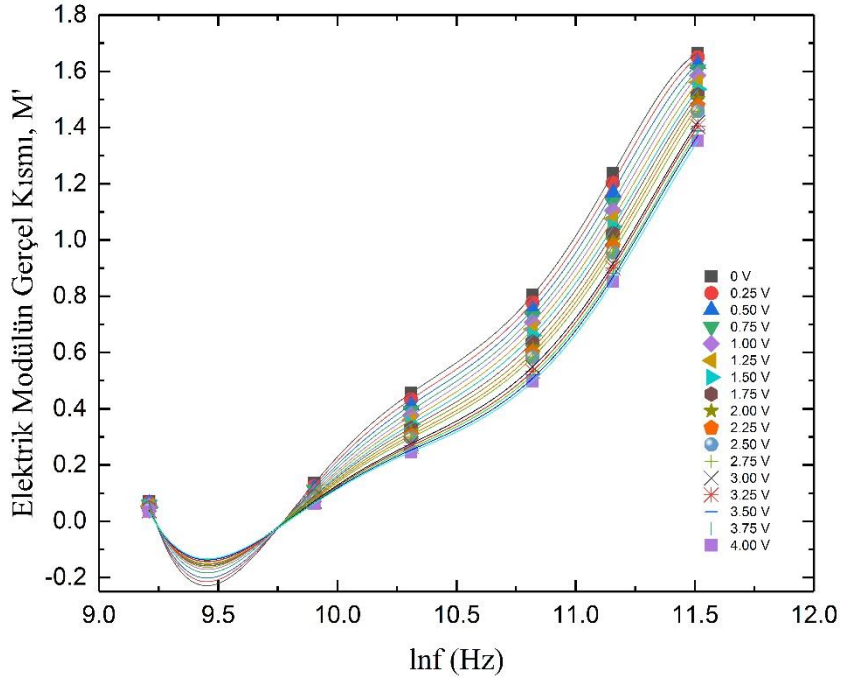


Şekil 4. Oda sıcaklığında Au/MoO₃/n-GaAs yapısı için voltaja bağlı tanδ – ln f grafiği

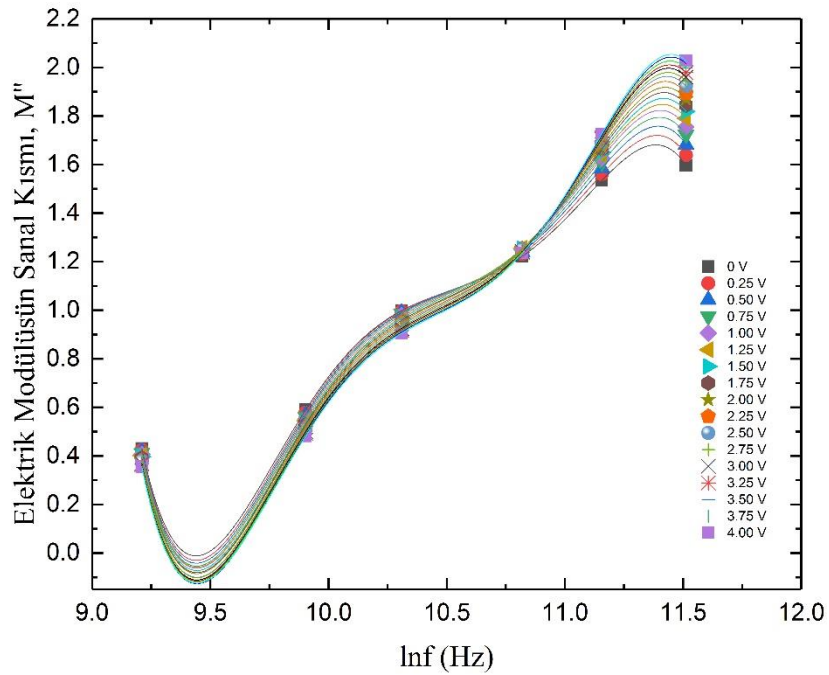
Aşağıdaki denklem, karmaşık geçirgenliği M^* formalizmine dönüştürmek için kullanılır. M' ve M'' değerleri, farklı frekans değerleri için 0-4 aralığında 0.25 V artışlarla ϵ' ve ϵ'' değerlerinden elde edilir

$$M^* = \frac{1}{\epsilon^*} = M' + jM'' = \frac{\epsilon'}{\epsilon'^2 + \epsilon''^2} + j \frac{\epsilon''}{\epsilon'^2 + \epsilon''^2} \quad (5)$$

$M' - \ln f$ ve $M'' - \ln f$ eğrileri sırasıyla Şekil 5 ve 6'da verildi. Şekil 5'de görüldüğü gibi M' değerleri frekansa bağlı olarak frekans arttıkça her bir voltaj değeri için arttı. 10 kHz için her bir voltaj değeri için sabit bir değer alırken artan frekans ile artış sergiledi. Şekil 6'da görüldüğü gibi her bir voltaj değeri için 50 kHz değerine kadar artan frekans ile artmakta iken 50 kHz'de M'' değerleri bir çakışma noktasına sahip olduğu görülmüş olup sabit bir değere yaklaştı. 50 kHz'den yani çakışma noktasından sonra terslenime sahip olduğu görülmüş olup 4V için en yüksek değeri aldı.



Şekil 5. Oda sıcaklığında Au/MoO₃/n-GaAs yapısı için voltaja bağlı M' – $\ln f$ grafiği

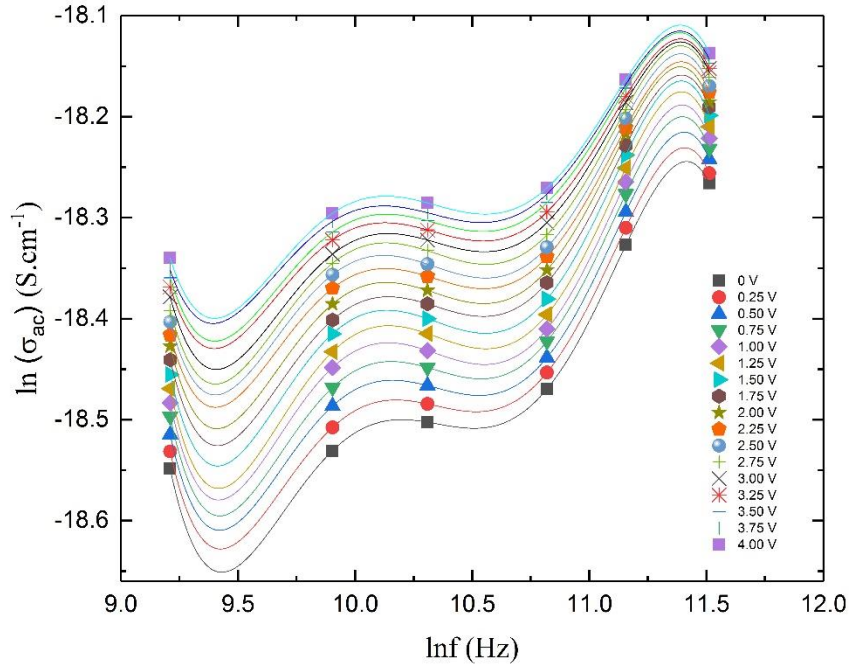


Şekil 6. Oda sıcaklığında Au/MoO₃/n-GaAs yapısı için voltaja bağlı M'' – $\ln f$ grafiği

σ_{ac} değerleri aşağıdaki denklemden elde edildi. σ_{ac} – $\ln f$ eğrisi 0-4 V aralığında 0.25 V adımlarla Şekil 7'de verildi. Şekil 7'den de görüldüğü gibi, σ_{ac} değerleri her bir voltaj değeri için 50 kHz'e kadar yaklaşık sabit bir değer alırken 50 kHz'den sonra hafif bir artış sergiledi.

$$\sigma_{ac} = \varepsilon'' \omega \varepsilon_0$$

(6)



Şekil 7. Oda sıcaklığında Au/MoO₃/n-GaAs yapısı için voltaja bağlı $\sigma_{ac} - \ln f$ grafiği

4. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, Au/MoO₃/n-GaAs yapısının dielektrik özelliklerini analiz etmektir. n-tipi GaAs alttaş üzerine biriktirilen MoO₃ ince filmi RF magnetron püskürtme yöntemi kullanılarak elde edildi. Au/MoO₃/n-GaAs yapısının 10, 20, 30, 50, 70 ve 100 kHz frekanslarında, C-V ve G/ω-V ölçümleri oda sıcaklığında yapıldı. Bu yapının dielektrik özellikleri, oda sıcaklığında 0-4 V aralığında 0.25 V aralıklarla frekansa bağlı olarak incelendi. ε' , ε'' , M' , M'' , ve σ_{ac} değerleri C ve G ölçüm verileri kullanılarak hesaplandı ve bu parametrelerin frekans ve voltaj ile önemli ölçüde değiştiği görüldü. Ayrıca, ε'' değerinin düşük olarak elde edilmesi yapının iyi bir dielektrik malzeme olduğunu gösterdi. Elde edilen deneysel sonuçlara göre, kullanılan MoO₃ tabakasının MIS/MOS gibi yapılarda arayüzey tabakası olarak kullanılabileceği görüldü.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı tarafından desteklenmiştir (Project No: 2019K12-92587)

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Giroto C., Voroshazi E., Cheyns D., Heremans P., and Rand B. P., (2011). Solution-Processed MoO₃ Thin Films As a Hole-Injection Layer for Organic Solar Cells, *ACS Applied Materials Interfaces*, 3, 3244.
- [2] Cauduro A. L. F., Reis R. D., Chen G., Schmid A. K., Méthivier C., Rubahn H. G., Bossard-Giannesini L., Cruguel H., Witkowski N., and Madsen M., (2017). Crystalline Molybdenum Oxide Thin-Films for Application as Interfacial Layers in Optoelectronic Devices, *ACS Applied Materials Interfaces*, 9, 7717.
- [3] Simchi H., McCandless B. E., Meng T., and Shafarman W. N., (2014). Structural, optical, and surface properties of WO₃ thin films for solar cells, *Journal of Alloys and Compounds*, 617, 609-615.
- [4] Meyer J., Hamwi S., Kröger M., Kowalsky W., Riedl T., and Kahn A., (2012). Transition Metal Oxides for Organic Electronics: Energetics, Device Physics and Applications, *Advanced Materials*, 24, 5408.
- [5] Kumar G. S., Illyaskutty N., Suresh S., Sreedharan R. S., Nayar V. U., and Pillai V. P. M., (2017). Terbium oxide doped MoO₃ nanostructures: Morphology engineering and enhanced photoluminescence, *Journal of Alloys and Compounds*, 698, 215-227.
- [6] Mahato S., Biswas D., Gerling L. G., Voz C., and Puigdollers J., (2017). Analysis of temperature dependent current-voltage and capacitance-voltage characteristics of an Au/V₂O₅/n-Si Schottky diode, *AIP Advances*, 7, 8.
- [7] Elumalai N. K., Saha A., Vijila C., Jose R., Jie Z., and Ramakrishna S., (2013). Enhancing the stability of polymer solar cells by improving the conductivity of the nanostructured MoO₃ hole-transport layer, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15, 6831.
- [8] Sanehira E. M., Tremolet de Villers B. J., Schulz P., Reese M. O., Ferrere S., Zhu K., Lin Y. L., Berry J. J., and Luther J. M., (2016). Influence of Electrode Interfaces on the Stability of Perovskite Solar Cells: Reduced Degradation Using MoO_x/Al for Hole Collection, *ACS Energy Letters*, 1, 38.
- [9] Wang C., Irfan I., Liu X., and Gao Y., (2014). Role of molybdenum oxide for organic electronics: Surface analytical studies, *Journal Vacuum Science & Technology B*, 32, 040801.
- [10] Rahmani M. B., Keshmiri S. H., Yu J., Sadek A. Z., Al-Mashat L., Moafi A., Latham K., Li Y. X., Wlodarski W., Kalantar-zadeh K., (2010). Gas sensing properties of thermally evaporated lamellar MoO₃, *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 145, 13 – 19.
- [11] Bessonov A. A., Kirikova M. N., Petukhov D. I., M., T. Ryhänen, and Bailey M. J. A., (2015). Layered memristive and memcapacitive switches for printable electronics, *Nature Materials*, 14, 199
- [12] Zhu K., Wang X., Liu J., Li S., Wang H., Yang L., Liu S., and Xie T., (2017). Novel Amorphous MoS₂/MoO₃/Nitrogen-Doped Carbon Composite with Excellent Electrochemical Performance for Lithium Ion Batteries and Sodium Ion Batteries, *ACS Sustainable Chemical Engineer*, 5, 8025
- [13] Koike K., Wada R., Yagi S., Harada Y., Sasa S., and Yano M., (2014). Characteristics of MoO₃ films grown by molecular beam epitaxy, *Japanese Journal of Applied Physics*, 53, 5.
- [14] Okumu J., Koerfer F., Salinga C., and Wuttig M., (2004). In situ measurements of thickness changes and mechanical stress upon gasochromic switching of thin MoO₃ films, *Journal of Applied Physics*, 95, 7632.
- [15] Torres J., Alfonso J. E., and López-Carreño L. D., (2005). XPS and X-ray diffraction characterization of MoO₃ thin films prepared by laser evaporation, *Physica Status Solidi C*, 2, 3726.
- [16] Hosono K., Matsubara I., Murayama N., Woosuck S., and Izu N., (2005). Synthesis of polypyrrole/MoO₃ hybrid thin films and their volatile organic compound gas-sensing properties, *Chemistry of Materials*, 17, 349
- [17] Liu X., Yi S., Wang C., Wang C., and Gao Y., (2014). Electronic structure evolution and energy level alignment at C₆₀/4,4'-cyclohexylidenebis[N,N-bis(4-methylphenyl) benzenamine]/MoO_x/indium tin oxide interfaces, *Journal of applied Physics*, 115, 163708.
- [18] McEvoy T. M., Stevenson K. J., Hupp J. T., and Dang X., (2003). Electrochemical Preparation of Molybdenum Trioxide Thin Films: Effect of Sintering on Electrochromic and Electroinsertion Properties, *Langmuir*, 19, 4316.
- [19] Patil P. R. and Patil P. S., (2001). Preparation of mixed oxide MoO₃-WO₃ thin films by spray pyrolysis technique and their characterisation, *Thin Solid Films* 382, 13.
- [20] Kınacı B., Çetinkaya Ç., Çokduygular E., Efker H. İ., Sönmez N. A., and Özçelik S., (2020). Negative capacitance phenomena in Au/SrTiO₃/p-Si heterojunction structure, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 31(11), 8718-8726.
- [21] Çokduygular E., Çetinkaya Ç., Yalçın Y., and Kınacı B. (2020)., A comprehensive study on Cu-doped ZnO (CZO) interlayered MOS structure, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 31, 13646- 13656.
- [22] Güzelçimen F., Tanören B., Çetinkaya Ç., Kaya M. D., Efker H. İ., Özen Y., Bingöl D., Sirkeci M., Kınacı B., Ünlü M. B., and Özçelik S., (2020). The effect of thickness on surface structure of rf sputtered TiO₂ thin films by XPS, SEM/EDS, AFM and SAM, *Vacuum* 182, 109766.
- [23] Al-Dharob M. H., Kökce A., D. Aldemir A., Özdemir A. F., and Altındal Ş., (2020). The origin of anomalous peak and negative capacitance on dielectric behavior in the accumulation region in Au/(0.07 Zn-doped polyvinyl alcohol)/n-4H-SiC metal-polymer-semiconductor structures/diodes studied by temperature-dependent impedance measurements, *J. Phys. Chem. Solids* 144, 109523.

- [24] Taşçıoğlu İ., Sevgili O., Azizian-Kalandaragh Y., Altındal S., (2020). Frequency-Dependent Admittance Analysis of Au/n-Si Structure with CoSO₄-PVP Interfacial Layer, *J Electron Mater* 49(6): 3720–3727.
- [25] Kınacı B. (2021), Dielectric Properties of Au/SrTiO₃/p-Si Structure Obtained by RF Magnetron Sputtering in a Wide Frequency Range, *Silicon* doi.org/10.1007/s12633-021-01067-7.
- [26] Buyukbas-Ulusan A., Taşçıoğlu İ., Tataroğlu A., Yakuphanoglu F., and Altındal S., (2019). A comparative study on the electrical and dielectric properties of Al/Cd-doped ZnO/p-Si structures, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 30, 12122–12129.
- [27] Demirezen S., Tanrikulu E. E., and Altındal Ş., (2019). The study on negative dielectric properties of Al/PVA (Zn-doped)/p-Si (MPS) capacitors, *Indian J. Phys.* 93, 739–747.
- [28] Tecimer H., (2019). On the frequency–voltage dependent electrical and dielectric profiles of the Al/(Zn-PVA)/p-Si structures, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 29, 20141–20145.
- [29] Kınacı B., (2021). The temperature dependent negative dielectric constant phenomena of Au/n–GaAs structure with CZO interfacial layer, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 32, 5928–5935.
- [30] Lvovich V. F., (2012). “Impedance Spectroscopy Applications to Electrochemical and Dielectric Phenomena”, *New Jersey: Wiley*, 368 sayfa.

Türkiye'nin Asker Böcekleri (Cantharidae) Faunistik Çalışması

Neslihan Bal* , Hüseyin Özdikmen 

Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06500, Ankara, Türkiye

ÖneÇıkanlar

- Çalışma Türkiye Cantharidae faunasına katkı sağlamıştır.
- Türkiye illerinden Cantharinae ve Malthininae alt familyaları için yeni kayıtlar sağlandı.
- Bulunan bazı türlerin erkek genital yapıları (Aedeagus) stereo mikroskop ile gösterildi.

MakaleBilgileri

Geliş: 11.03.2021
Kabul: 02.05.2021

AnahtarKelimeler

Coleoptera,
Cantharidae,
Malthininae,
Cantharinae,
Türkiye

Özet

Bu çalışma, 2001-2008 yılları arasında Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanan ve Gazi Üniversitesi Zooloji Müzesi'nde saklanan 1481 cantharid örneğine dayanmaktadır. Örneklerin değerlendirilmesinden sonra, Cantharinae alt familyasına ait 7 cins, 22 tür ve Malthininae alt familyasına ait 1 cins, 1 tür belirlendi. Bu çalışma sonucunda, türlerin Dünya ve Türkiye'de yayılışları, araştırma alanları ile erkek cinsel organlarının ve genel görünümlerinin fotoğrafları verildi.

Faunistic Study Of The Soldier Beetles (Cantharidae) Of Turkey

Highlights

- The study has provided contributions to Turkey Cantharidae fauna.
- New records are provided for Cantharinae and Malthininae subfamily from Turkey provinces
- The male genital structures (Aedeagus) of some of the species found were illustrated with a stereo microscope.

Article Info

Received: 11.03.2021
Accepted: 02.05.2021

Keywords

Coleoptera,
Cantharidae,
Malthininae,
Cantharinae,
Turkey

Abstract

This study based on 1481 cantharid specimens which were collected from different parts of Turkey between 2001—2008 and deposited in Zoological Museum of Gazi University. After the evaluation of the specimens, 7 genera, 22 species belonging to the subfamily Cantharinae and 1 genera, 1 species belonging to the Malthininae were identified. In addition, this study gives Turkey and the world distributions of male sexual organs and general appearance of their external morphology.



1. GİRİŞ

Cantharidae familya isminin kökü Yunanca olup, bir tür Coleopter anlamına gelen *Cantharis* kelimesinden oluşturulmuştur. İngilizce leather-winged beetle veya soldier beetle, Almanca ise Weichkäfer ya da Schusterkäfer gibi isimlerle anılırlar. Türkçe'de yumuşak vücutlu böcekler olarak tanınırlar [1].

Cantharidae, Cantharoidea üst familyasının en gelişmiş ve çok fazla tür çeşitliliğine sahip familyasıdır. Cantharidae türleri kutup bölgeleri hariç dünyanın hemen hemen her yerinde yayılmasına rağmen, tropikal ve subtropikal bölgelerde baskın olarak bulunurlar. Cantharidae familyası günümüzde Dünya'da 130 cinsin 5100 türünü içermektedir. Batı Paleartik Bölgesi'ndeki tür sayısı yaklaşık 870 olup, bunların 206'sı endemik olarak Türkiye'de bulunmaktadır. *Malthinus* cinsi Paleartik bölgede 307, Türkiye'de 51 türe sahiptir [1-3].

Brancucci'ye (1980) göre, Cantharidae ailesi beş alt familyaya ayrılmıştır: (i) Malthininae, (ii) Cantharinae, (iii) Silinae, (iv) Chauliognathinae, (v) Dismorphocerinae. Cantharinae türleri esas olarak Holoartik ve Oriyental bölgesinde bulunur. Malthininae türleri Avusturalya kıtasında bulunmazlar. Bunların sadece 3 altfamilyaya ait türleri Batı Paleartik bölgede bulunur [2, 4, 5].

Türkiye'de yapılan çalışmalar az sayıda ve çok dar kapsamdadır. Bilinen tür sayısının büyük çoğunluğu yabancı araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir. Bu çalışmalar genellikle bilimsel araştırma amacı olan geziler sırasında toplanmış örneklerle dayanmaktadır [6-15].

Türkiye'nin Asker Böceği faunası kısmen bilinmektedir. Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalardan bu familyaya ait 22 tür bilinmektedir: [6-8, 10, 13]. Bu çalışmanın amacı, asker böcekleri faunasına katkı sağlamaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, 2001-2008 yılları arasında Prof. Dr. Abdullah Hasbenli tarafından Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanan ve Gazi Üniversitesi Zooloji Müzesi'nde saklanan 1481 cantharid örneğine dayanmaktadır. Bu çalışma sonucunda, türlerin Dünya ve Türkiye'deki dağılımı, araştırma alanı, erkek genital organları ve her türün genel görünüm resimleri verilmiştir.

Her bir lokaliteden yakalanan örnekler alkol içerisinde öldürüldükten sonra aynı gün akşamı standart müze metotlarına uygun örneklerin preparasyonu yapılmıştır. Genital preparatları hazırlanırken öncelikle kuru örneklerin yumuşatma kapları içerisinde 1-2 gün bekletilerek yumuşaması sağlanmıştır. Yumuşatma işlemi gerçekleştirildikten sonra genital preparatı yapılacak örneğin abdomeni stereomikroskop altında bisturi yardımıyla dikkatle kesilmiştir. Kesilen abdomen %10'luk KOH (potasyum hidroksit) çözeltisine alınıp oda sıcaklığında yaklaşık 24 saat bekletilmiştir. KOH'da bekletilen abdomen iç organlardan temizlendikten sonra su ile yıkanmıştır. Yıkanan genital suyunun alınabilmesi için %70'lik etil alkol içerisine alınarak birkaç saat bekletilmiştir. Daha sonra çukur lam içinde gliserin ortamında geçici preparat haline getirilerek, üzerinde Olympus marka dijital fotoğraf makinesi bulunan stereomikroskop altında farklı büyütme oranlarında resimleri çekilmiştir. Bu parçalar incelendikten sonra örneğin lokalite numarası ve buna ek olarak genital numarası da verilerek küçük plastik tüplerde (bim kapsülü) gliserin içinde, ait olduğu örneğin yanına iğnelenerek muhafaza edilmiştir. Materyaller Gazi Üniversitesi Zooloji Müzesi (=ZMGU), (Ankara, Türkiye'de) depolanmıştır.

Her tür için materyaller başlığı kapsamında sırayla yakalanan örnek adedi, örneklerin cinsiyet bilgisi, yakalandığı lokaliteye ait il, ilçe, köy isimleri, coğrafik koordinatları ve yüksekliği ile yakalama tarihi verilmiştir. *Tablo 1* ve *Tablo 2'* de bu türlerin genel görünümlerine ve erkek eşey organlarına ait fotoğraflar verilmiştir. Türlerin dünya yayılışlarına ait bilgiler aşağıdaki kısaltmalar kullanılarak verilmiştir.

E -Avrupa: AB Azerbaycan, AL Arnavutluk, AR Ermenistan, AU Avusturya, BE Belçika, BH Bosna Hersek, BU Bulgaristan, BY Beyaz Rusya, CR Hırvatistan, DE Danimarka, EN Estonya, FI Finlandiya, FR Fransa, GB İngiltere, GE Almanya, GG Gürcistan, GR Yunanistan, HU Macaristan, IR İrlanda, IT İtalya, KZ Kazakistan, LA Letonya, LS Lihteyayn, LT Litvanya, LU Luksemburg, MC Makedonya, MD Moldova, NL Hollanda, NR Norveç, PL Polonya, PO Portekiz, RO Romanya, RU Rusya (CT Orta Avrupa Bölgesi, NT Kuzey Avrupa Bölgesi, ST Güney Avrupa Bölgesi), SK Slovakya, SL Slovenya, SP İspanya, SV İsveç, SZ İsviçre, TR Türkiye, UK Ukrayna, YU Yugoslavya.

N –Kuzey Afrika: AG Cezayir, EG Mısır (Sina hariç)

A -Asya: AF Afganistan, CH Çin [Kuzeydoğu Bölgesi], NW Kuzeybatı Toprakları, WP Batı yaylası, CY Kıbrıs, IN İran, IQ Irak, IS İsrail, JO Lübnan, KI Kırgızistan, KZ Kazakistan, LE Lübnan, MG Mogalistan, NC Kuzey Kore, PA Pakistan, RU Rusya (ES Batı Sibirya, FE Uzak Doğu, WS Batı Sibirya), SC Güney Kore, SI Sina (Mısır Kısmı), SY Suriye, TD Tacikistan, TM Türkmenistan, TR Türkiye, UZ Özbekistan.

AFR Afrikatropikal bölge

NAR Nearktik bölge

Family Cantharidae Imhoff, 1856
Subfamily Cantharinae Thomson, 1864
Tribus Cantharini, Imhoff, 1856
***Ancistronycha erichsonii* Bach, 1852**

Materyaller: 1 ♂, Mersin, Erdemli, Üzümlü Köyü, 36°51' N, 34°20' E, 610m, 17.06.2005; 8 ♀♀, Konya, Taşkent, Beyreli Köyü, Gevne vadisi, 36°51' N, 32°21' E, 1570m, 01.07.2001; 1 ♂, Adana, Saimbeyli, Gürleşen Köyü, 37°56' N, 36°4' E, 810m, 24.06.2002; 1 ♂, Adana, Pozantı, Çamlıbel Köyü, 37°28' N, 35°4' E, 882m, 11.07.2002; 1 ♂, Kayseri, Yahyalı, Dikme Köyü, 37°59' N, 35°35' E, 1445m, 13.07.2002; 1 ♂, Kayseri, Yahyalı, Kaleköy Köyü, 38°6' N, 35°43' E, 1633m, 13.07.2002; 1 ♀, Artvin, Yusufeli, Barhal yolu, 71°19' N, 45°31' E, 805m, 12.07.2004; 1 ♂, Mersin, Gülnar, Delikkaya Köyü, Karabük mahallesi dere kenarı, 36°16' N, 33°31' E, 234m, 17.05.2006; 7 ♂♂, 9 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1083m, 04.07.2006; 3 ♂♂, Konya, Taşkent, Beyreli Köyü, Gevne vadisi, 36°51' N, 32°21' E, 1577m, 06.07.2006; 1 ♂, 4 ♀♀, Konya, Halkapınar, Körlü Köyü, 37°25' N, 34°17' E, 1339m, 22.07.2006; 1 ♂, Konya, Halkapınar, Körlü Köyü, 37°24' N, 34°16' E, 1296m, 22.07.2006; 1 ♂, Mersin, Mut, Kürkçü Köyü, 36°42' N, 33°42' E, 1034m, 26.07.2006; 10 ♂♂, 5 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1045m, 13.06.2007; 5 ♂♂, 3 ♀♀, Adana, Pozantı, Akçatekir, Karboğazı, Çamçukuru, 37°20' N, 34°43' E, 1611m, 27.06.2007; 2 ♂♂, Mersin, Tarsus, Çamalan, Oyukayağı-Çamlıyayla arası, Kadıncık deresi, 37°12' N, 34°41' E, 541m, 27.06.2007; 4 ♂♂, 8 ♀♀, Mersin, Mut, 45 Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1050m, 29.06.2007; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Madenköy, 37°27' N, 34°38' E, 1668m, 10.07.2007; 1 ♂, 2 ♀♀, Adana, Pozantı, Akçatekir, Karboğazı, Çamçukuru, 37°20' N, 34°43' E, 1609m, 11.07.2007; 1 ♂, 3 ♀♀, Adana, Pozantı, Akçatekir, Karboğazı, Çam çukuru (Şelale), 37°20' N, 34°43' E, 1678m, 29.07.2007.

Türkiye Yayılışı: Antalya (Akdağ) [16].

Dünya Yayılışı: E: AU CZ FR GE HU IT PL RO SK SL SZ UK A: TR [3, 4, 16- 18].

***Boveycanthis rufimana* Menetries, 1832**

Materyal:1 ♂, Gümüşhane, Kelkit, Günyurdu köyü, 39°55' N, 39°33' E, 1867m, 02.07.2003.

Türkiye Yayılışı: Ardahan, Artvin (Yusufeli), Erzurum, Rize, Artvin (Hopa), Tokat (Almus) [6,13,17].

Dünya Yayılışı: E: AB AR GG RU (NT) A: TR [3, 6, 13, 18].

***Boveycanthis tokatensis* Pic, 1898**

Materyal:1 ♂, Isparta, Yalvaç, Sultan Dağları, 38°15' N, 31°20' E, 1660m, 29.05.2001.

Türkiye Yayılışı: Bayburt, Bolu Abant, Erzurum, Tokat Sultan Dağı, Uludağ [6].

Dünya Yayılışı: E: TR A: TR [6].

***Cantharis annularis* Menetriez, 1836**

Materyaller:3 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1400m, 21.05.2005; 1 ♂, 1 ♀, Kayseri, Yahyalı, Ulupınar yaylası, 37°53' N, 35°33' E, 1500m, 18.05.2002; 1 ♂, 3 ♀♀, Yozgat, Akdağmadeni, Yukarı Çulhalı Köyü, 39°38' N, 35°58' E, 1420m, 22.06.2003; 1 ♀, Isparta, Eğirdir, Akbelenli Köyü, 37°36' N, 30°51' E, 1030m, 19.05.2000; 4 ♀♀, Mersin, Tarsus, Kurbanlı Köyü yol ayırımı, Tarsus'a 15 km., 37°1' N, 34°56' E, 157m, 22.04.2006; 1 ♀, Mersin, Merkez, Gözne yolu 10. km., Işık tepe, 36°52' N, 34°33' E, 281m, 22.04.2006; 9 ♂♂, 3 ♀♀, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1403m, 18.05.2006; 5 ♀♀, Mersin, Merkez, Gözne yolu, Çukurkeşli Köyü, 36°52' N, 34°33' E, 277m, 19.05.2006; 1 ♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1450m, 08.06.2006; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Darboğazı Köyü, 37°30' N, 34°34' E, 1275m, 08.06.2007.

Türkiye Yayılışı: Ankara, Bayburt, Erzincan, Erzurum, Kızılcahamam, Adana (Bey Dağı, Küçükgezbeyli, Fındıklı, Pozantı), Konya, Beyşehir [13, 17].

Dünya Yayılışı: E: AL BUCRRUCZ DE FR GE GG GRHU MC RO SF SK SP SZ UKA: IN IS KZ MG TR RU (WS) [3, 13, 18].

***Cantharis flavilabris* Fallen, 1807**

Materyaller:1 ♀, Mersin, Merkez, Fındıkpinarı, Soğukpınar Köyü, 36°57' N, 34°23' E, 1267 m, 17.06.2005; 1 ♀, Niğde, Çiftlik, 38°8' N, 34°27' E, 1667m, 29.06.2005; 1 ♂, Uşak, Esmе, Kışladağı, 01.06.2002; 1 ♀, Adana, Tufanbeyli, Pınarlar Köyü, 38°14' N, 36°13' E, 1374m, 24.06.2002; 1 ♀, Adana, Tufanbeyli, Çatalcam Köyü, 38°12' N, 36°2' E, 1623m, 26.06.2002; 1 ♀, Kayseri, Yahyalı, Karaköy, 38°2' N, 35°33' E, 1256m, 13.07.2002; 1 ♀, Kayseri, Sarız, Sarlak Köyü, 38°39' N, 36°40' E, 1899m, 16.07.2002; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Gözne-Fatih belediyesi, 37°1' N, 34°34' E, 1131m, 19.05.2006; 2 ♂♂, 4 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°28' E, 1422m, 08.06.2006; 41 ♂♂, 21 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1450m, 08.06.2006; 1 ♂ Mersin, Merkez, Fındıkpinarı, Soğukpınar Köyü, 36°57' N, 34°23' E, 1226m, 09.06.2006; 2 ♂♂, 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü yaylası, 37°5' N, 34°25' E, 1464m, 02.07.2006; 2 ♂♂, Mersin, Gülnar, Gülnar yolu, Dayıcık yol ayırımı, 36°22' N, 33°12' E, 1251m, 21.05.2007; 14 ♂♂, 4 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1452m, 11.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Gülnar, Gülnar-Ermenek yolu, Dayıcık yol ayırımı, 36°22' N, 33°12' E, 1251m, 12.06.2007; 1 ♂, 4 ♀♀, Mersin, Merkez, Alanyalı-Atlılar Köyü yolu, 37°5' N, 34°25' E, 1457m, 14.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1454m, 28.06.2007.

Türkiye Yayılışı: Türkiye.

Dünya Yayılışı: E: AR AU BE BY CZEN FI FR GB GE GR HU IT İskoçya LT NT PL RO RU (CT NT ST) SK SL UK A: TR [3, 4, 18-20].

Cantharis lateralis Linnaeus, 1758

Materyaller: 1 ♀, Konya, Taşkent, Beyreli köyü, 36°50' N, 32°22' E, 1550m, 25.05.2001; 1 ♀, Kayseri, Sarız, Sarlak köyü, 38°39' N, 36°40' E, 1899m, 16.07.2002; 5 ♀♀, Yozgat, Akdağmadeni, Yukarı Çulhalı köyü, 39°38' N, 35°58' E, 1420m, 22.06.2003; 1 ♀, Sivas, İmranlı, Çukuryurt, Köyü, 39°52' N, 38°10' E, 1640m, 01.07.2003; 6 ♂♂, 18 ♀♀, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1403m, 18.05.2006; 1 ♀, Mersin, Merkez, Güzelyayla, Atlılar köyü, 37°6' N, 34°25' E, 1452m, 08.07.2005; 7 ♂♂, 26 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1450m, 08.06.2006; 11 ♂♂, 17 ♀♀, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1398m, 10.06.2006; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar köyü yaylası, 37°5' N, 34°25' E, 1464m, 02.07.2006; 2 ♂♂, 2 ♀♀, Mersin, Erdemli, Güzeloluk belediyesi, Avgadı-Sorgun yolu, 36°49' N, 34°6' E, 1542m, 03.07.2006; 1 ♂, 1 ♀, Konya, Halkapınar, Halkapınar girişi, 37°27' N, 34°8' E, 1127m, 22.07.2006; 1 ♀, Karaman, Ayrancı, Küçükçoraç-Erdemli yolu, 37°4' N, 33°50' E, 1851m, 23.07.2006; 5 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Darboğazi köyü, 37°30' N, 34°34' E, 1275m, 08.06.2007; 2 ♂♂, 4 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1452m, 11.06.2007; 11 ♂♂, 14 ♀♀, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1399m, 13.06.2007; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1454m, 28.06.2007; 2 ♂♂, 4 ♀♀, Karaman, Ermenek, Tekeçatı, 36°42' N, 32°57' E, 1469m, 30.06.2007; 1 ♂, 3 ♀♀, Karaman, Ermenek, Karaman bey geçidi, 36°50' N, 32°55' E, 1843m, 30.06.2007; 1 ♂, 5 ♀♀, Karaman, Ayrancı, Ayrancı barajı, 37°19' N, 33°44' E, 1213m, 01.07.2007; 4 ♂♂, 3 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Madenköy, Meydan yaylası, 37°25' N, 34°33' E, 2311m, 10.07.2007; 1 ♂, Mersin, Aydıncık, 36°12' N, 33°21' E, 239m, 13.07.2007; 1 ♂, Adana, Pozantı, Akçatekir, Karboğazi, Çamçukuru, 37°20' N, 34°43' E, 1606m, 29.07.2007.

Türkiye Yayılışı: Ankara, Antalya (Sinekçibeli), Bayburt, Bolu (Aladağ, Yeniçağa), Erzurum, Köroğlu Dağları, Kızılcahamam, Konya (Obruk yaylası, Sarayönü) [13, 17].

Dünya Yayılışı: E: AU BE BH CR CZ DE EN FI FR GB GE GG GR HU IR IT LA LT LU MC PL RO RU (CT NT ST) SF SK SL SP SZ UK N: MO A: AF KI KZ MG TR [3, 4, 13, 18, 20, 21].

Cantharis livida Linnaeus, 1758

Materyaller: 1 ♂, Mersin, Merkez, Arslanköy yolu, Kavaklıpınar köyü, 37°0'N, 34°20' E, 1203m, 20.05.2005; 2 ♂♂, 1 ♀, Karaman, Merkez, Ermenek-Karaman yolu, Bucakkışla, Narlıdere köyü, Avgan yaylası, 37°1'N, 33°3' E, 1340m, 22.05.2005; 2 ♂♂, Ankara, Ayaş, Yağmurdede köyü, 40°7' N, 32°20' E, 931m, 03.06.2005; 1 ♀, Ankara, Ayaş, Yağmurdede köyü, Asartepe barajı, 40°8' N, 32°23' E, 934m, 03.06.2005; 1 ♂, Aksaray, Güzelyurt, İhlara-Yenipınar arası, 38°13' N, 34°17' E, 1364m, 14.06.2005; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Darboğazi köyü girişi, 37°28' N, 34°34' E, 1610m, 15.06.2005; 1 ♀, Karaman, Ayrancı, Çatköy-Akpınar köyleri yol ayrımı, Akpınar yolu, 37°12' N, 33°51' E, 1486m, 15.06.2005; 1 ♀, Ankara, Bala, Beynam, 39°40' N, 32°54' E, 1290m, 07.04.2001; 2 ♀♀, Konya, Taşkent, Beyreli köyü, Gevne vadisi, 36°51' N, 32°21' E, 1597m, 25.05.2001; 2 ♂♂, 3 ♀♀, Konya, Taşkent, Beyreli köyü, 36°50' N, 32°22' E, 1550m, 25.05.2001; 1 ♀, Antalya, Kaş, Gömbe, Sinekçibeli geçidi, Sinekçi köyü, 36°26' N, 29°39' E, 1500m, 28.05.2001; 1 ♀, Isparta, Yalvaç, Yalvaç, 38°12' N, 31°13' E, 1180m, 29.05.2001; 4 ♂♂, Isparta, Yalvaç, Sultan Dağları, 38°15' N, 31°20' E, 1660m, 29.05.2001; 1 ♀, Adana, Feke, Değirmenciusağı köyü, 37°51' N, 36°9' E, 950m, 19.05.2002; 1 ♀, Niğde, Çamardı, Kızılören, 38°0' N, 35°1' E, 1581m, 20.06.2002; 2 ♀♀, Niğde, Çamardı, Kızılören köyü, 38°0' N, 35°1' E, 1585m, 11.07.2002; 1 ♀, Niğde, Çamardı, Yelatan köyü, 37°39' N, 34°59' E, 1245m, 11.07.2002; 1 ♀, Kayseri, Yahyalı, Burhaniye köyü, 37°49' N, 35°35' E, 1414m, 13.07.2002; 1 ♂, 1 ♀, Yozgat, Akdağmadeni, Oluközü, 39°40' N, 35°47' E, 1371m, 21.06.2003; 1 ♀, Yozgat, Akdağmadeni, Akçakışla yolu, 7. km., Yukarı Çulhalı köyüne 2 km. kala, 39°39' N, 35°58' E, 1442m, 22.06.2003; 3 ♀♀, Yozgat, Akdağmadeni, Yukarı Çulhalı köyü, 39°38' N, 35°58' E, 1420m, 22.06.2003; 1 ♀, Çorum, Alaca, Kicilli,

40°10' N, 35°43' E, 995m, 23.06.2003; 1 ♀, Yozgat, Akdağmadeni, Yukarı Çulhalı köyü, 39°36' N, 35°56' E, 1436m, 05.08.2003; 1 ♂, Artvin, Yusufeli, Irmakyanı mahallesi, 40°48' N, 41°36' E, 560m, 16.05.2004; 1 ♂, Artvin, Yusufeli, Ishan köyü, 40°47' N, 41°45' E, 1183m, 17.05.2004; 1 ♂, İzmit, Bahçecik, Kademağa mahallesi, Beşkayalar milli parkı, 26.05.2004; 2 ♂♂, 2 ♀♀, Kocaeli, Gebze, Ballıkayalar Milli Parkı, Demirciler köyü, 15.06.2004; 1 ♀, Aksaray, Ortaköy, Ozancık, Sariagil Köyü, Keleş Dağı eteği, 38°36' N, 34°10' E, 1487m, 22.07.2004; 1 ♀, Niğde, Çamardı, Eynelli köyü, Çamardı-Derinkuyu yolu, 37°53' N, 35°3' E, 1532m, 24.07.2004; 1 ♂, 1 ♀, Erzurum, Aşkale, Yeniköy-Kandilli arası, 07.06.2003; 2 ♀♀, Erzincan, Çayırılı, Yeşilkaya köyü, 39°50' N, 40°0' E, 1530m, 03.07.2003; 2 ♀♀, Erzurum, Merkez, Artvin yolu, 39°57' N, 41°23' E, 1900m, 04.07.2003; 1 ♂, Ankara, Yenimahalle, Çayyolu Doğa sitesi, 14.05.2006; 1 ♂, Mersin, Merkez, Gözne-Fatih belediyesi, 37°1' N, 34°34' E, 1131m, 19.05.2006; 1 ♂, Mersin, Merkez, Yüksekoluk köyü, 36°59' N, 34°26' E, 1210m, 19.05.2006; 1 ♂, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, 36°57' N, 34°23' E, 1268m, 19.05.2006; 1 ♀, Aksaray, Merkez, Kayseri çıkışı, Hatıra ormanı, 38°24' N, 34°1' E, 1084m, 25.05.2006; 4 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Darboğaz köyü, 37°28' N, 34°34' E, 1662m, 05.06.2006; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Darboğaz köyü, 37°28' N, 34°35' E, 1721m, 06.06.2006; 1 ♂, 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Maden köyü, 37°26' N, 34°37' E, 1712m, 06.06.2006; 1 ♀, Mersin, Merkez, Alanyalı köyü, 37°6' N, 34°30' E, 1211, 08.06.2006; 1 ♂, Mersin, Merkez, Atlılar köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1450m, 08.06.2006; 1 ♂, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1398m, 10.06.2006; 1 ♀, Mersin, Mut, Çömelek köyü, Sason vadisi, 36°43' N, 33°40' E, 1113m, 10.06.2006; 1 ♀, Mersin, Merkez, Aslanköy- Çatak arası, 36°59' N, 34°16' E, 1440m, 02.07.2006; 1 ♀, Konya, Taşkent, Beyreli köyü, Gevne vadisi, 36°51' N, 32°21' E, 1577m, 06.07.2006; 1 ♂, Ankara, Kazan, Güvenç köyü, 40°10' N, 32°41' E, 916m, 17.05.2007; 2 ♀♀, Mersin, Erdemli, Çamlı köyü, 36°44' N, 34°11' E, 723m, 20.05.2007; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Çanakçı köyü, 37°32' N, 34°40' E, 1237m, 08.06.2007; 2 ♂♂, 2 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Darboğaz köyü, 37°30' N, 34°34' E, 1275m, 08.06.2007; 1 ♀, Mersin, Merkez, Atlılar köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1452m, 11.06.2007; 1 ♀, Mersin, Mut, Çömelek köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1045m, 13.06.2007; 1 ♀, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1399m, 13.06.2007; 6 ♂♂, 12 ♀♀, Mersin, Silifke, Kırobası, Sarıaydın köyü, Limonlu çayı, 36°45' N, 33°55' E, 1350m, 13.06.2007; 1 ♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, Soğukpınar, 36°56' N, 34°22' E, 1266m, 14.06.2007; 4 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Madenköy, 37°27' N, 34°38' E, 1637, 26.06.2007; 1 ♂, 2 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Emirler köyü çıkışı, 37°28' N, 34°32' E, 1556m, 26.06.2007; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Darboğaz-Pozantı yol ayrımı, 37°30' N, 34°34' E, 1281m, 26.06.2007; 1 ♂, 2 ♀♀, Mersin, Silifke, Kırobası, Sarıaydınlı köyü, Limonlu çayı vadisi, 36°45' N, 33°55' E, 1357m, 29.06.2007; 2 ♀♀, Karaman, Ermenek, Tekeçatı, 36°42' N, 32°57' E, 1469m, 30.06.2007; 2 ♀, Karaman, Ermenek, Karaman bey geçidi, 36°50' N, 32°55' E, 1843m, 30.06.2007; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Emirler köyü çıkışı, 37°28' N, 34°32' E, 1557m, 10.07.2007; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Madenköy, 37°27' N, 34°38' E, 1668m, 10.07.2007; 1 ♀, Adana, Pozantı, Akçatekir, Karboğazı, Çamçukuru, 37°20' N, 34°43' E, 1609m, 11.07.2007; 1 ♀, Antalya, Alanya, Gökbal yaylası, 36°43' N, 10°40' E, 1645m, 18.05.2008; 1 ♀, Ankara, Beşevler, Gazi Üniversitesi kampüsü, 12.03.2008; 1 ♀, Ankara, Beşevler, Gazi Üniversitesi kampüsü, 30.05.07.

Türkiye Yayılışı: Amasya, Ardahan, Artvin, Bayburt, Bitlis, Diyarbakır, Çanakkale, Çorum, Erzincan, Erzurum, Hatay, Iğdır, Kars, Konya, Malatya, Rize, Tokat, Tunceli, (Gelibol) [13, 17].

Dünya Yayılışı: E: AB AL AR AU BE BH BU BY CR CZ DE EN FI FR GB GE GG GR HU IT LA LS LT LU MCPL PO RO RU (CT NT ST) SF SL SK SP SV SZ UK N: MO A:IS TR RU WS NAR Neartik Bölge [3, 4, 13, 18, 19].

***Cantharis longicollis* Kiesenwetter, 1852**

Materyaller: 2 ♂♂, 5 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1045m, 13.06.2007.

Türkiye Yayılışı: Türkiye.

Dünya Yayılışı: E: AL AU CR GR HU IT MC PL RO SK SL TR UK YU [4, 13, 19].

***Cantharis nigra* DeGeer, 1774**

Materyaller: 1 ♂, Antalya, Manavgat, Manavgat şelalesi civarı, 36°49' N, 31°26' E, 25m, 21.04.2001; 1 ♂, Yozgat, Saraykent, Arpalık köyü, 39°41' N, 35°37' E, 1268m, 21.06.2003; 1 ♀, İzmit, Gebze, Köselers köyü, Ballıkayalar milli parkı, 24.05.2004; 1 ♂, İzmit, Gebze, Mollafeneri, Karatepe, Ballıkayalar milli parkı, 40°52' N, 29°30' E, 210m, 24.05.2004; 3 ♀♀, Sivas, Merkez, Yavu, Tahtıkement, 39°39' N, 37°16' E, 1466m, 19.05.2003; 1 ♀, Erzurum, Nenehatun, 05.06.2003; 2 ♀♀, Erzurum, Merkez, Artvin yolu, 39°57' N, 41°23' E, 1900m, 04.07.2003.

Türkiye Yayılışı: Fethiye [13].

Dünya Yayılışı: AR AU BE BY CR CZ EN FI FR GB GE GR HU IR IT SK Kafkasya PL RO RU (CT NT) SP SV SZ UK **A:** RU (WS) TR [3, 4, 13, 18, 20].

***Cantharis pulicaria* Fabricius, 1781**

Materyaller: 1 ♂, Konya, Taşkent, Gevne vadisi, 36°50' N, 32°21' E, 1585m, 20.04.2001; 1 ♂, 2 ♀♀, Antalya, Alanya, Çayarası mevkii, 36°40' N, 32°28' E, 1205m, 20.04.2001.

Türkiye Yayılışı: Tokat (Barla Dağı), Ilgaz, Çorum (Metitözü), Antalya (Gündoğmuş, Yarpuz), İzmir, Denizli, Burdur, Akşehir [13].

Dünya Yayılışı: AL AU BU CR CZ FR GE GR HU IT LA LU NR MC PL SK SP SV SZ UK **A:** TR [3, 13, 18].

***Cantharis rufa* Linnaeus, 1758**

Materyaller: 1 ♀, Mersin, Silifke, Kirobaşı, 36°43' N, 33°51' E, 1400m, 21.05.2005; 1 ♀, Isparta, Yalvaç, Sultan Dağları, 38°15' N, 31°20' E, 1660, 29.05.2001; 1 ♀, Mersin, Silifke, Kirobaşı, 36°43' N, 33°51' E, 1398m, 10.06.2006, 6 ♂♂, 2 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Darboğazı Köyü, 37°30' N, 34°34' E, 1275m, 08.06.2007; 4 ♀♀, Mersin, Silifke, Kirobaşı, 36°43' N, 33°51' E, 1399m, 13.06.2007; 2 ♂♂, 5 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Darboğaz, Pozantı yol ayrımı, 37° 30' N, 34°34' E, 1281m, 26.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Konya, Halkapınar, 37°27' N, 34°8' E, 1106m, 01.07.2007.

Türkiye Yayılışı: Türkiye.

Dünya Yayılışı: E: AU BE BU BY CZ DE EN FI FR GB GE GR HU IR IT LS LT LU PL RO RU (CT NT ST) SF SK SP SV SZ UK **A:** AF CH [NE (HEI) NW (XIN) WP (QIN)] KI KZ MG NC RU (ES WS) SC TD UZ [3, 4, 19-22].

***Cantharis rustica* Fallen, 1807**

Materyaller: 1 ♂, Çankırı, Çerkeş, Karamustafa köyü köprüsü, 12.05.2007.

Türkiye Yayılışı: Bolu Abant, Zonguldak, Safranbolu, Gümüşhane, Trabzon, Kütahya [13].

Dünya Yayılışı: E: AL AU BE BH BU BY DE EN FR GB GE GR HU IT LS LT LU PL RO RU (CT NT ST) SF SK SL SP SV SZ UK **N:** EG **A:** RU (WS) SY TR [3, 4, 13, 18-20].

***Cantharis symrnensis* Marseul, 1864**

Materyaller: 1 ♂, Karaman, Ermenek, Ermenek-Gülнар arası, Olukpınarı köyü, 36°28' N, 33°0' E, 1115m, 16.05.2006; 2 ♂♂, Niğde, Ulukışla, Darboğaz köyü, 37°28' N, 34°34' E, 1662m, 05.06.2006, 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Maden köyü, 37°26' N, 34°37' E, 1712m, 06.06.2006; 1 ♀, Mersin, Çamlıyayla, Sebil-Alanyalı köyü arası, 37°7' N, 34°31' E, 665m, 07.06.2006; 1 ♀, Mersin, Silifke, Kırobası, Sarıaydın köyü, Limonlu çayı, 36°45' N, 33°55' E, 1350m, 13.06.2007; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Maden köy, 37°27' N, 34°38' E, 1637m, 26.06.2007; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Emirler köyü göleti üzeri, 37°27' N, 34°29' E, 1627m, 26.06.2007.

Türkiye Yayılışı: Isparta (Eğirdir), Kızılcahamam, Bolu, Antalya, Çankırı, Tokat [13].

Dünya Yayılışı: E: AL BU GR A: IS LE SY TR [3, 13].

***Cordicantharis iliaca* Marseul, 1864**

Materyaller: 1 ♂, Antalya, Alanya, Çayarası mevkii, 36°40' N, 32°28' E, 1205, 20.04.2001; 2 ♂♂, Isparta, Yalvaç, Bağkonak, Sultan Dağları, 38°15' N, 31°20' E, 1745m, 24.04.2001; 1 ♂, İzmit, Beşkayalar, Servetiye cami mahallesi, Beşkayalar mevkii, 40°38' N, 29°55' E, 450m, 23.04.2004.

Türkiye Yayılışı: Türkiye.

Dünya Yayılışı: A: TR [3].

***Metacantharis araxicola* Reitter, 1891**

Materyal: 1 ♂, Konya, Taşkent, Beyreli köyü, 36°50' N, 32°22' E, 1550m, 25.05.2001.

Türkiye Yayılışı: Antalya, Erzurum, İçel, Niğde [13, 17].

Dünya Yayılışı: E: AR A: IN TR

***Metacantharis clypeata* Illiger, 1798**

Materyaller: 1 ♂, Ankara, Kazan, Güvenç köyü, 40°10' N, 32°41' E 10.05.2007; 10 ♂♂, 1 ♀, Ankara, Kazan, Güvenç köyü, 40°10' N, 32°41' E, 916m, 17.05.2007.

Türkiye Yayılışı: Bayburt, Erzurum [17].

Dünya Yayılışı: E: AL AR AU BU CR CZ FR GB GE GG GR HU IT LT MC PL RO RU SF SK SL SP SZ TR UK N: AG A: IN [3, 4, 18- 20].

***Metacantharis taurigrada* Bourgeois, 1900**

Materyaller: 2 ♀♀, Isparta, Yalvaç, Sultan Dağları, 38°15' N, 31°22' E, 1560m, 29.05.2001; 1 ♂, Adana, Tufanbeyli, Hanyeri köyü, 38°12' N, 36°0' E, 1775m, 20.05.2002; 1 ♂, Adana, Pozantı, Hamidiye köyü, 37°31' N, 35°2' E, 1045m, 21.06.2002; 1 ♀, Hatay, Samandağı, Çevlik, Kaya mezarlıkları, 36°8' N, 35°55' E, 41m, 08.05.2004; 1 ♂, 4 ♀♀, Mersin, Erdemli, Avgadı, 36°44' N, 34°7' E, 1359m, 18.05.2006.

Türkiye Yayılışı: Çankırı (İlgaz Dağı), Tunceli [13, 17].

Dünya Yayılışı: A: SY TR [3, 13].

***Occathemus tarsalis* Svihla, 1999**

Materyaller : 1 ♂, Antalya, Alanya, Çayarası mevkii, 36°40' N, 32°28' E, 1205, 20.04.2001; 2 ♂♂, Isparta, Yalvaç, Bağkonak, Sultan Dağları, 38°15' N, 31°20' E, 1745m, 24.04.2001; 1 ♂, İzmit, Beşkayalar, Servetiye cami mahallesi, Beşkayalar mevkii, 40°38' N, 29°55' E, 450m, 23.04.2004

Türkiye Yayılışı: Türkiye.

Dünya Yayılışı: E: TR A: TR [3].

***Rhagonycha duplicata* Dahlgren, 1968**

Materyaller: 1 ♀, Konya, Taşkent, Beyreli Köyü, Gevne vadisi, 36°51' N, 32°21' E, 1597m, ;25.05.2001; 1 ♀, Antalya, Alanya, Kuşkayası mevkii, 36°32' N, 32°15' E, 1052m, 26.05.2001; 1 ♀, Isparta, Sarkikaraağac, Çakırsaraylar, Pınarbası mevkii, Sultan Dağları, 38°9' N, 31°27' E, 1398m, 25.07.2001; 1 ♀, Adana, Tufanbeyli, Sansa Köyü, 38°11' N, 36°3' E, 1700m, 19.05.2002; 1 ♀, 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Alihoca Köyü, 37°30' N, 34°44' E, 1020m, 22.04.2006; 2 ♂♂, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, Kocayer, Zeybekler-Tepeköy ayırımı, 36°52' N, 34°21' E, 1298m, 23.04.2006; 1 ♂, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°43' N, 33°39' E, 1128m, 24.04.2006; 1 ♂, 1 ♀, Karaman, Ermenek, Ermenek-Gülнар arası, Olukpınarı Köyü, 36°28' N, 33°0' E, 1115m, 16.05.2006; 2 ♂♂, 3 ♀♀, Mersin, Silifke, Kırobaşı, 36°43' N, 33°51' E, 1403m, 18.05.2006; 2 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Erdemli, Avgadı, 36°44' N, 34°7' E, 1359m, 18.05.2006; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Yüksekoluk Köyü, 36°59' N, 34°26' E, 1210m, 19.05.2006; 2 ♂♂, Niğde, Ulukışla, Darboğaz Köyü, 37°28' N, 34°34' E, 1662m, 05.06.2006; 1 ♂, Mersin, Gülнар, Gülнар yolu, Dayıcık yol ayırımı, 36°22' N, 33°12' E, 1251m, 21.05.2007; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Çanakçı Köyü, 37°32' N, 34°40' E, 1237m, 08.06.2007; 1 ♂, Mersin, Tarsus, Çamalan, Ayvalı odun deposu, 37°12' N, 34°47' E, 773m, 10.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Tarsus, Kurtçukuru (Çamalan-Çamlıyayla yolu), 37°9' N, 34°45' E, 626m, 10.06.2007; 3 ♀♀, Mersin, Çamlıyayla, Tarsus orman deposu, 37°10' N, 34°39' E, 1180m, 10.06.2007.

Türkiye Yayılışı: Türkiye.

Dünya Yayılışı: E: TR A: TR [3].

***Rhagonycha fulva* Scopoli, 1763**

Materyaller: 1 ♂, İzmit, Mollafeneri, Karatepe, 40°52' N, 29°30' E, 201m, 09.06.2005; 1 ♀, Niğde, Çamardı, Kızılören Köyü, 38°0' N, 35°1' E, 1585m, 11.07.2002; 7 ♂♂, 1 ♀, Niğde, Çamardı, Yelatan Köyü, 37°39' N, 34°59' E, 1245m, 11.07.2002; 2 ♀♀, Kayseri, Yahyalı, Burhaniye Köyü, 37°49' N, 35°35' E, 1414m, 13.07.2002; 1 ♀, 99 Kayseri, Yahyalı, Karakoy Köyü, 38°2' N, 35°33' E, 1256m, 13.07.2002; 2 ♂♂, 2 ♀♀, Kayseri, Yahyalı, Derebağ, Derebağ şelalesi, 38°3' N, 35°17' E, 1250m, 14.07.2002; 1 ♂, Adana, Saimbeyli, Avapınarı Köyü, 38°3' N, 36°9' E, 1486m, 16.07.2002; 1 ♂, Yozgat, Sorgun, Çiğdemli, Gökiniş Köyü, 39°56' N, 35°18' E, 1233m, 23.06.2003; 1 ♂, 3 ♀♀ Çorum, Alaca, Kıcılı, 40°10' N, 35°43' E, 995m, 23.06.2003; 1 ♀, Yozgat, Akdağmadeni, Yukarı Çulhalı Köyü, 39°36' N, 35°56' E, 1436m, 05.08.2003; 1 ♂, 1 ♀, İzmit, Gebze, Düzmeşe mevkii, Ballıkayalar Milli Parkı, 40°53' N, 29°30' E, 166m, 24.05.2004; 1 ♂, İzmit, Gebze, Mollafeneri, Karatepe, Ballıkayalar Milli Parkı, 40°52' N, 29°30' E, 210m, 24.05.2004; 1 ♂, 1 ♀, Kocaeli, Gebze, Ballıkayalar Tabiat Parkı, Üçdereagzı mevkii kenarı, Demirciler Köyü, 15.06.2004; 1 ♂, 2 ♀♀, Kocaeli, Gebze, Ballıkayalar Tabiat Parkı, Ayvalık deresi, 15.06.2004; 1 ♀, Kocaeli, Gebze, Ballıkayalar Tabiat Parkı, 15.06.2004; 1 ♀, Osmaniye, Merkez, Yarpuz'a giderken, Horaz Yaylası, 37°4' N, 36°21' E, 758m, 20.06.2004; 1 ♀, Kahramanmaraş, Andırın, Sumaklı Köyü, 37°23' N, 36°26' E, 700m, 21.06.2004; 1 ♀, Osmaniye, Bahçe, Yaylalı Köyü, 37°11' N, 36°38' E, 1121m, 22.06.2004; 4 ♀♀, Gaziantep, Nurdağı, Kazdere Köyü

yaylası, 37°8' N, 36°38' E, 862m, 23.06.2004; 1 ♀, Gaziantep, Kuşçubeli geçidi, 37°6' N, 36°36' E, 1200m, 23.06.2004; 1 ♂, 2 ♀♀, Hatay, Hassa, Akbez belediyesi, Gazeluşağı Köyü, 36°51' N, 36°29' E, 803m, 24.06.2004; 3 ♀♀, Hatay, Hassa, Zeytinoba Köyü, Aktepe belediyesi, 36°43' N, 36°26' E, 742 m, 24.06.2004; 1 ♀, Hatay, Belen, Müftüler Köyü, 36°30' N, 36°8' E, 597m, 25.06.2004; 1 ♂, Hatay, Dört Yol, Yahyalı yaylası, 36°49' N, 36°17' E, 850m, 26.06.2004; 5 ♂♂, 4 ♀♀, Kocaeli, Gebze, Ayvalık deresi, Ballıkayalar Tabiat Parkı, 07.07.2004; 2 ♂♂, 5 ♀♀, İzmit, Bahçecik, Beşkayalar Tabiat Parkı, 40°39' N, 29°59' E, 595m 07.07.2004; 1 ♀, İzmit, Bahçecik, Hasbahçe mevkii, Beşkayalar Tabiat Parkı, 07.07.2004; 2 ♂♂, İzmit, Yuvacık, Soğukpınar, Beşkayalar Tabiat Parkı, 07.07.2004; 2 ♀♀, İzmit, Yuvacık, Ayı Tepe mevkii, Beşkayalar Tabiat Parkı, 08.07.2004; 1 ♀, Aksaray, Sarıyahşi, Sipahiler Köyü, 38°53' N, 33°49' E, 1295m, 22.07.2004; 2 ♀♀, Aksaray, Sarıyahşi, Boğazköy Kasabası, 38°58' N, 33°52' E, 990m, 22.07.2004; 1 ♀, Aksaray, Gülağaç, Kızılkaya Köyü, 38°10' N, 34°13' E, 1140m, 23.07.2004; 1 ♂, 3 ♀♀, Aksaray, Güzelyurt, Yaprakhisar, İhlara vadisi, 38°17' N, 34°15' E, 1130m, 23.07.2004; 1 ♀, Aksaray, Merkez, Yenipınar, İhlara Vadisi, 38°13' N, 34°17' E, 1364m, 23.07.2004; 1 ♂, 1 ♀, Niğde, Çiftlik, Azatlı barajı üstü, 38°9' N, 34°33' E, 1763m, 23.07.2004; 3 ♀♀, Niğde, Bor, Kızılkapı Köyü, 37°45' N, 34°49' E, 1579m, 24.07.2004; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Elmalı Köyü yolu 7. km., 37°32' N, 34°46' E, 1227m, 24.07.2004; 1 ♂, 3 ♀♀, Niğde, Çamardı, Mahmatlı Köyü, 37°45' N, 35°0' E, 1365m, 24.07.2004, 1 ♂, Niğde, Ulukışla, 100. yıl Köyü, 37°29' N, 34°45' E, 1230m, 05.07.2005; 1 ♀, Mersin, Merkez, Güzelyayla, Atlılar Köyü, 37°6' N, 34°25' E, 1452m, 08.07.2005; 1 ♂, 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Gözne yolu, Çukurkeşli Köyü, 36°52' N, 34°33' E, 277m, 19.05.2006; 17 ♂♂, 37 ♀♀, Mersin, Silifke, Mut yolu, Hisar ve Gedikdağ Av Yaban Hayatı Koruma Bölgesi, 36°23' N, 33°50' E, 42m, 20.05.2006; 1 ♀, Mersin, Tarsus, Ayvalı Köyü, 37°12' N, 34°46' E, 883m, 07.06.2006; 2 ♀♀, Mersin, Çamlıyayla, Olukayağı Köyü, 37°12' N, 34°42' E, 687, 07.06.2006; 2 ♀♀, Mersin, Çamlıyayla, Sebil, 37°7' N, 34°32' E, 1095m, 07.06.2006; 3 ♂♂, Mersin, Çamlıyayla, Sebil, Alanyalı, Köyü arası, 37°7' N, 34°31' E, 665m, 07.06.2006; 2 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Çamlıyayla, Sebil, Alanyalı Köyü Arası, 37°7' N, 34°31' E, 781m, 08.06.2006; 3 ♂♂, 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Alanyalı Köyü, 37°6' N, 34°30' E, 1211m, 08.06.2006; 2 ♂♂, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°28' E, 1422m, 08.06.2006; 2 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1450m, 08.06.2006; 2 ♂♂, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, Çağlarca, 36°59' N, 34°26' E, 1194m, 08.06.2006; 3 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Erdemli, Nohutharmanı girişi, 36°50' N, 34°19' E, 1162m, 09.06.2006; 1 ♀, Mersin, Erdemli, Üzümlü Köyü, 36°51' N, 34°20' E, 624m, 09.06.2006; 10 ♂♂, 25 ♀♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, Kocayer, Zeybekler Köyleri yol ayrımı, 36°52' N, 34°20' E, 1121m, 09.06.2006; 7 ♂♂, 5 ♀♀, Mersin, Erdemli, Küçükfindik İçme Köyü, 36°49' N, 34°16' E, 1343m, 09.06.2006; 2 ♂♂, 5 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°43' N, 33°40' E, 1113m, 10.06.2006; 2 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Mut, Çukurbağ, 36°41' N, 33°36' E, 1101m, 10.06.2006; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Ermenek, Gökçeseki Köyü, 36°37' N, 33°1' E, 1021m, 11.06.2006; 6 ♀♀, Mersin, Çamlıyayla, Cehennemdere, Sebil, 37°7' N, 34°31' E, 739m, 01.07.2006; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Alanyalı Köyü, 37°6' N, 34°30' E, 1197m, 02.07.2006; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Alanyalı, Atlılar Köyü arası, 37°5' N, 34°28' E, 1409m, 02.07.2006; 9 ♂♂, 30 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü yaylası, 37°5' N, 34°25' E, 1464m, 02.07.2006; 1 ♀, Mersin, Merkez, Aslanköy yolu, Yavca, 37°1' N, 34°23' E, 1097m, 02.07.2006; 1 ♂, 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, 36°57' N, 34°23' E, 1265m, 02.07.2006; 1 ♀, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1083m, 04.07.2006; 1 ♂, 9 ♀♀, Karaman, Ermenek, Gökçeseki Köyü, 36°37' N, 33°1' E, 1029m, 05.07.2006; 1 ♀, Karaman, Ermenek, Güneyyurt, 36°38' N, 32°51' E, 1300m, 05.07.2006; 2 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Darboğaz Köyü, 37°28' N, 34°32' E, 1543m, 21.07.2006; 3 ♂♂, 3 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Emirler Köyü göleti, 37°27' N, 34°29' E, 1633m, 22.07.2006, 14 ♂♂, 21 ♀♀, Konya, Halkapınar, Körlü Köyü, 37°24' N, 34°16' E, 1296m, 22.07.2006; 1 ♀, Karaman, Ayrancı, Kayaönü Köyü, 37°7' N, 33°48' E, 1565m, 23.07.2006; 1 ♀, Mersin, Erdemli, Sorgun, Hacıalanı yaylası arası, 36°50' N, 34°9' E, 1227m, 23.07.2006; 1 ♀, Mersin, Erdemli, Hacıalan yaylası, 36°50' N, 34°10' E, 422m,

23.07.2006; 16 ♂♂, 25 ♀♀, Mersin, Erdemli, Hacıalan yaylası göleti, 36°51' N, 34°13' E, 1538m, 23.07.2006; 1 ♀, Mersin, Erdemli, Hacıalanı İçme arası, 36°49' N, 34°14' E, 1546m, 23.07.2006; 8 ♂♂, 33 ♀♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, 36°56' N, 34°20' E, 1528m, 24.07.2006; 1 ♂, Mersin, Erdemli, Fındıkpınarı-Çağlarca arası, 36°59' N, 34°26' E, 1195m, 24.07.2006; 2 ♂♂, 5 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1448m, 24 .07.2006; 1 ♀, Mersin, Çamlıyayla, Cehennemdere, Sebil, 37°7' N, 34°31' E, 773m, 24.07.2006; 1 ♂, 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Doğusandal Köyü girişi, 36°45' N, 34°23' E, 166m, 19.05.2007; 1 ♀, Aksaray, Nevşehir-Kayseri yol ayırımı, 34°2' N, 38°24' E, 1103m, 08.06.2007; 1 ♀, Mersin, Tarsus, Kurtçukuru (Çamalan-Çamlıyayla yolu), 37°9' N, 34°45' E, 626m, 10.06.2007; 1 ♂, Mersin, Çamlıyayla, Tarsus orman deposu, 37°10' N, 34°39' E, 1180m, 10.06.2007; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Cehennemdere-Alanyalı yolu arası, 37°6' N, 34°30' E, 1197m, 11.06.2007; 1 ♂, 3 ♀♀, Mersin, Merkez, Cehennemdere, Atlılar Köyüne 3 km, 37°5' N, 34°28' E, 1423m, 11.06.2007; 6 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1452m, 11.06.2007; 2 ♂♂, 3 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar, Aslanköy yol ayırımına 2 km., 37°3' N, 34°25' E, 1388m, 11.06.2007; 1 ♀, Mersin, Merkez, Yeniköy, Kızılbağ orman deposu, 37°0' N, 34°28' E, 1085m, 11.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Gülnar, Gülnar-Ermenek yolu, Dayıcık yol ayırımı, 36°22' N, 33°12' E, 1251m, 12.06.2007; 4 ♂♂, 9 ♀♀, Mersin, Mut, Mut-Ermenek yolu, Gezende, 36°31' N, 33°10' E, 353m, 12.06.2007; 4 ♂♂, 18 ♀♀, Mersin, Mut, Sarıkavak-Hacıahmetli Köyü yol ayırımı, 36°39' N, 33°38' E, 625m, 13.06.2007; 5 ♂♂, 17 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek deresi köprüsü, 36°43' N, 33°40' E, 1114m, 13.06.2007; 3 ♂♂, 6 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1045m, 13.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, Soğukpınar, 36°56' N, 34°22' E, 1266m, 14.06.2007; 2 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, Çağlarca yolu, Çağlarca Köyü, 36°59' N, 34°26' E, 1200m, 14.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Alanyalı, Atlılar Köyü yolu, 37°5' N, 34°25' E, 1457m, 14.06.2007; 3 ♂♂, 8 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Maden Köy, 37°27' N, 34°38' E, 1637m, 26.06.2007; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Emirler Köyü çıkışı, 37°28' N, 34°32' E, 1556m, 26.06.2007; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Darboğaz-Pozantı yol ayırımı, 37°30' N, 4°34' E, 1281m, 26.06.2007; 1 ♂, Mersin, Tarsus, Gülek, Kenzin Köyü, 37°15' N, 34°46' E, 1024m, 27.06.2007; 1 ♀, Mersin, Tarsus, Çamalan, Oyukayağı-Çamlıyayla arası, Kadıncık deresi, 37°12' N, 34°41' E, 541m, 27.06.2007; 2 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Alanyalı Köyü, Cehennemderesi üstü, 37°6' N, 34°30' E, 1158m, 28.06.2007; 1 ♀, Mersin, Merkez, Alanyalı Köyü, 37°6' N, 34°30' E, 1215m, 28.06.2007; 2 ♂♂, 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Alanyalı Köyü, Kuyualanı, 37°5' N, 34°28' E, 1427m, 28.06.2007; 1 ♂, 3 ♀♀, Mersin, Merkez, Atlılar Köyü, 37°5' N, 34°25' E, 1454m, 28.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Aslanköy, Çatak, 36°59' N, 34°16' E, 1419m, 28.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Erdemli, Fındıkpınarı üstü, 36°56' N, 34°20' E, 1525m, 28.06.2007; 1 ♂, Mersin, Silifke, Uzuncaburç, Kızılsaki, Limonlu çayı vadisi, 36°39' N, 34°0' E, 965m, 29.06.2007; 6 ♂♂, 1 ♀, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1050m, 29.06.2007; 1 ♂, Konya, Halkapınar, 37°27' N, 34°8' E, 1106m, 01.07.2007; 2 ♂♂, 3 ♀♀, Konya, Halkapınar, Küsere Köyü, 37°24' N, 34°16' E, 1286m, 01.07.2007; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Niğde, Kayseri yolu, 37°35' N, 34°32' E, 1581m, 01.07.2007; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Gümüşler, Özyurt Köyleri arası, 37°59' N, 34°51' E, 1625m, 01.07.2007; 7 ♂♂, 4 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Emirler Köyü çıkışı, 37°28' N, 34°32' E, 1557m, 10.07.2007; 3 ♂♂, 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Emirler Köyü göleti üzeri, 37°27' N, 34°28' E, 1638m, 10.07.2007; 16 ♂♂, 11 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Madenköy, 37°27' N, 34°38' E, 1668m, 10.06.2007; 1 ♀, Adana, Pozantı, Akçatekir, Karboğazı, Çamçukuru, 37°20' N, 34°43' E, 1609m, 11.07.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Çamlıyayla, Sebil, Cehennemdere üstü, 37°6' N, 34°30' E, 1162m, 12.07.2007; 6 ♂♂, 13 ♀♀, Mersin, Çamlıyayla, Sebil, 37°8' N, 34°34' E, 1165m, 05.07.2007; 1 ♀, Karaman, Ayrancı, Kayaönü Köyü, 37°7' N, 33°48' E, 1575m, 28.07.2007; 1 ♂, Gümüşhane, Kelkit, Günyurdu-Güllüce arası, 39°55' N, 39°35' E, 1763m, 02.07.2003; 2 ♂♂, 2 ♀♀, Kırklareli, İğneada, Saka gölü-Deniz gölü arası, 41°48' N, 27°59' E, 10m, 27.07.2003, 1 ♂, 1 ♀, Kırklareli, İğneada, Pedina Gölü, 41°49' N, 27°55' E, 19m, 29.07.2003.

Türkiye Yayılışı: Adana, Aksaray, Çorum, Erzurum, Eskişehir, Gaziantep, Gümüşhane, Hatay, Isparta, İzmit, Karaman, Kahramanmaraş, Kayseri, Kırklareli, Kocaeli, Konya, Mersin, Nevşehir, Niğde, Osmaniye, Trabzon, Yozgat. [1, 17, 23].

Dünya Yayılışı: E: AB AL AR AU BE BH BU BY CR CZ DE EN FR GE GG GB GR HU IR IT KZ LA LS LT LU MC NL PL PO RO RU SK SL SP SV SZ TR UK N: MO A: IN SY TM [3, 4, 18-21, 24, 25].

Rhagoxycha kiesentwetteri Marseul, 1864

Materyaller: 1 ♀, Mersin, Erdemli, Üzümlü Köyü, 36°51' N, 34°20' E, 610m, 17.06.2005; 2 ♀♀, Antalya, Finike, Alakır Barajı, 36°27' N, 30°13' E, 142m, 27.05.2001; 1 ♀, Konya, Taşkent, Beyreli Köyü, Gevne vadisi, 36°51' N, 32°21' E, 1570m, 01.07.2001; 1 ♀, Mersin, Çamlıyayla, Sebil, 37°7' N, 34°32' E, 627m, 06.07.2005; 1 ♀, Mersin, Gülnar, Belkiran, Dedeler Köyü, 36°19' N, 33°29' E, 866m 17.05.2006; 2 ♀♀, Mersin, Gülnar, Delikkaya Köyü, Karabük mahallesi, 36°17' N, 33°29' E, 396m 17.05.2006; 1 ♂, Mersin, Silifke, Ulupınar Köyü, 36°16' N, 33°34' E, 712m, 17.05.2006; 1 ♂, Mersin, Silifke, Mut yolu, Hisar ve Gedikdağ Av Yaban Hayatı Koruma Bölgesi, 36°23' N, 33°50' E, 42m, 20.05.2006; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Tarsus, Çamalan-Ayvalı odun deposu, 37°12' N, 34°47' E, 769m, 06.06.2006; 1 ♀, Mersin, Tarsus, Ardıçlı Köyü, 37°13' N, 34°44' E, 1057m, 07.06.2006; 1 ♀, Mersin, Çamlıyayla, Sebil- Alanyalı Köyü arası, 37°7' N, 34°31' E, 665m, 07.06.2006; 1 ♂, Mersin, Çamlıyayla, Sebil- Alanyalı Köyü arası, 37°7' N, 34°31' E, 781m, 08.06.2006; 5 ♂♂, 4 ♀♀, Mersin, Erdemli, Nohutharmanı girişi, 36°50' N, 34°19' E, 1162m, 09.06.2006; 1 ♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, Kocayer-Zeybekler Köyleri yol ayırımı, 36°52' N, 34°20' E, 1121m, 09.06.2006; 3 ♂♂, 5 ♀♀, Mersin, Silifke, Uzuncaburç-Ura arası, 36°34' N, 33°56' E, 1090m, 10.06.2006; 1 ♂, Mersin, Erdemli, Güzeloluk, Harfilli Köyü, 36°44' N, 33°58' E, 1320m, 10.06.2006; 1 ♀, Mersin, Çamlıyayla, Cehennemdere, Sebil, 37°7' N, 34°31' E, 739m, 01.07.2006; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Erdemli, Hacıalanı-İçme arası, 36°49' N, 34°14' E, 1546m, 23.07.2006; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Mersin, Fındıkpınarı yolu, Çevrik Köyü, 36°46' N, 34°26' E, 533m, 19.05.2007; 3 ♂♂, Mersin, Merkez, Doğusandal Köyü girişi, 36°45' N, 34°23' E, 166m, 19.05.2007; 2 ♂♂, 3 ♀♀, Mersin, Erdemli, Fakıllı Köyü, 36°44' N, 34°11' E, 630m, 19.05.2007; 4 ♂♂, 6 ♀♀, Mersin, Erdemli, Çamlı Köyü, 36°44' N, 34°11' E, 723m, 20.05.2007; 2 ♂♂, 2 ♀♀, Mersin, Silifke, Silike-Mut yolu, kayısı bahçesi, 36°23' N, 33°47' E, 335m, 20.05.2007; 3 ♂♂, 5 ♀♀, Mersin, Gülnar, Gülnar yolu, Dayıcık yol ayırımı, 36°22' N, 33°12' E, 1251m, 21.05.2007; 1 ♂, Mersin, Tarsus, Kurtçukuru (Çamalan-Çamlıyayla yolu), 37°9' N, 34°45' E, 626m, 10.06.2007; 1 ♂, Mersin, Çamlıyayla, Sebil-Cehennemdere arası, 37°12' N, 34°34' E, 1741m, 10.06.2007; 1 ♂, Mersin, Gülnar, Gülnar-Ermenek yolu, Örenköy-Dayıcık yol ayırımı, 36°21' N, 33°19' E, 1036m, 12.06.2007; 1 ♂, 3 ♀♀, Mersin, Gülnar, Gülnar-Ermenek yolu, 36°25' N, 33°9' E, 1320m, 12.06.2007; 1 ♀, Mersin, Mut, Mut-Ermenek yolu, 36°35' N, 33°14' E, 610m, 12.06.2007; 2 ♀♀, Mersin, Silifke, Silifke-Mut yolu, Gedikdağ yaban hayatı koruma alanı, 36°23' N, 33°47' E, 352m, 12.06.2007; 3 ♂♂, 3 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek deresi köprüsü, 36°43' N, 33°40' E, 1114m, 13.06.2007; 3 ♂♂, 2 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1045m, 13.06.2007; 1 ♂, Mersin, Tarsus, Gülek, Kenzin Köyü, 37°15' N, 34°46' E, 1024, 27.06.2007; 2 ♀♀, Mersin, Tarsus, Çamalan, Oyukayağı-Çamlıyayla arası, Kadıncık deresi, 37°12' N, 34°41' E, 541m, 27.06.2007; 1 ♂, Mersin, Merkez, Aslanköy-Hangediği arası, Kurudere, 37°1' N, 34°24' E, 1140m, 28.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Silifke, Kırabaşı, Sarıaydınlı Köyü, Limonlu çayı vadisi, 36°45' N, 33°55' E, 1357m, 29.06.2007; 1 ♂, Mersin, Mut, Çömelek Köyü, Sason vadisi, 36°42' N, 33°42' E, 1050m, 29.06.2007; 1 ♂, Karaman, Merkez, İhsaniye Köyü, 36°56' N, 32°56' E, 965m, 30.06.2007; 15 ♂♂, 2 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Madenköy, 37°27' N, 34°38' E, 1668m, 10.07.2007; 1 ♂, 1 ♀, Adana, Pozantı, Akçatekir, Karboğazı, Çamçukuru, 37°20' N, 34°43' E, 1609m, 11.07.2007; 1 ♂, Mersin, Erdemli, Hacıalanı yaylası, 36°49' N, 34°14' E,

1496m, 27.07.2007; 1 ♀, Adana, Pozantı, Akçatekir, Karboğazı, Çamçukuru, 37°19' N, 34°42' E, 1622m, 29.07.2007; 3 ♀♀, Mersin, Çamlıyayla, Sebil, Av koruma sahası, Bağdat Manastırı, Suçatı, 37°12' N, 34°28' E, 1504m, 30.07.2007.

Türkiye Yayılışı: Türkiye.

Dünya Yayılışı: E: GR A: CY TR [3, 13].




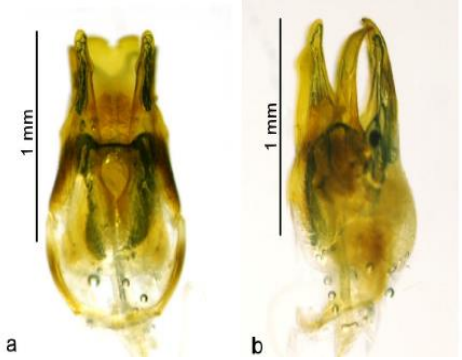
***Rhagonycha lutea* O. F. Müller, 1764**


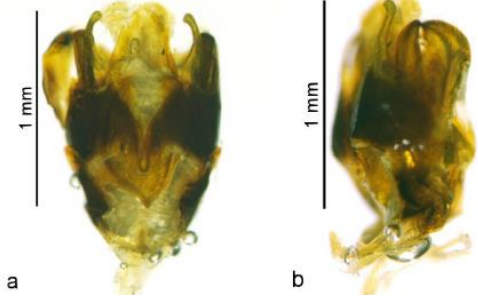



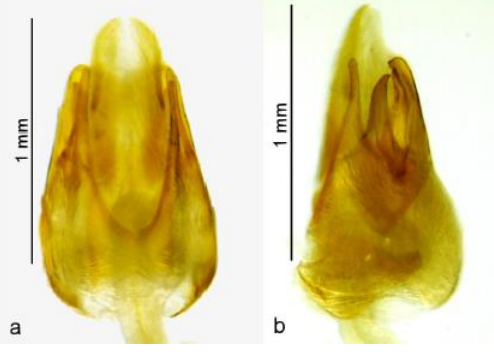
Materyal: 1 ♂, Adana, Saimbeyli, Gürleşen köyü, 37°56' N, 36°4' E, 820m, 19.05.2002.


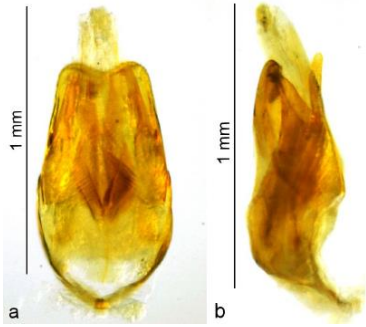

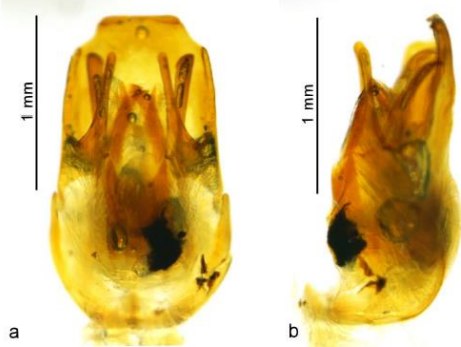

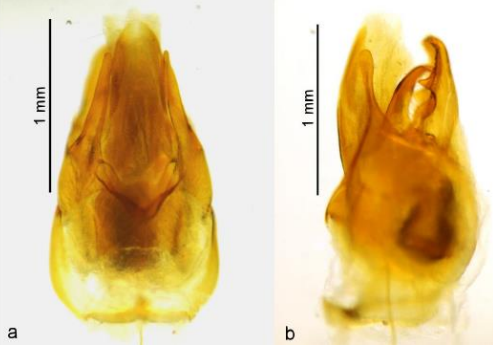
Türkiye Yayılışı: Türkiye.


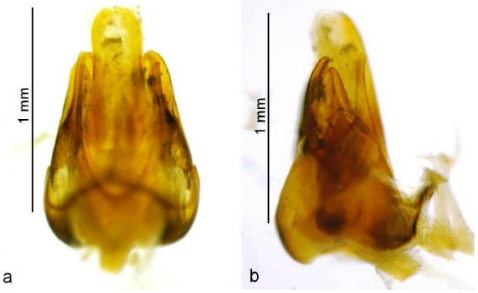

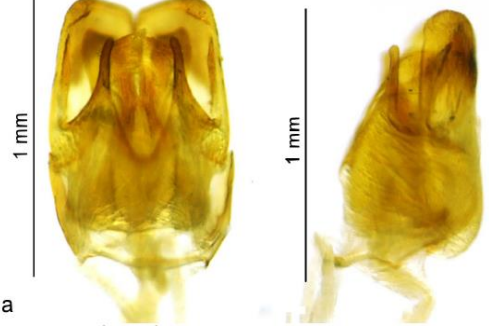

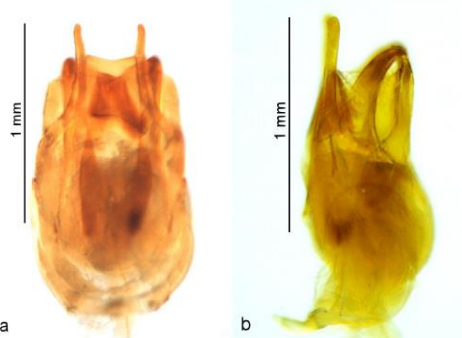
Dünya Yayılışı: E:AL AU BE BH BU CR CZ DE GB GE GR FR HU IR IT LU NR PL RO SF SK SL SP SV SZ TR UK [3, 4, 18-20].





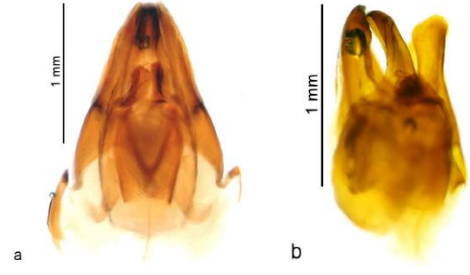
Tablo 1. *Cantharinae* alt familyasına ait türlerin genel görünümü ve erkek genital fotoğrafları



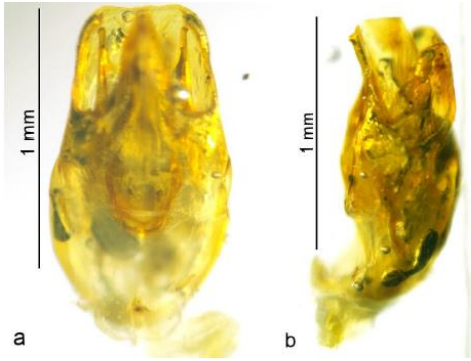

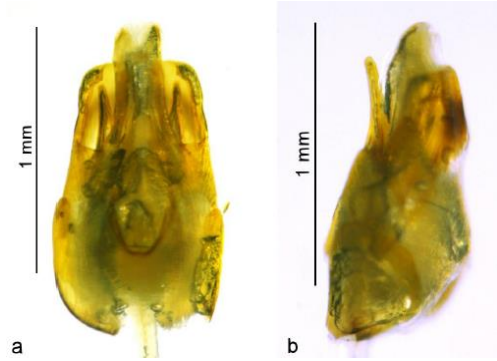
Türün adı	Türün Genel görünümü	Erkek genitalinin dorsalden ve lateralden görünümü
<i>Ancistronycha erichsonii</i> Bach, 1852		
<i>Boveycantharis rufimana</i> Menetries, 1832		


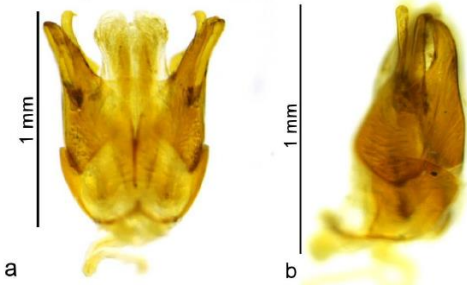

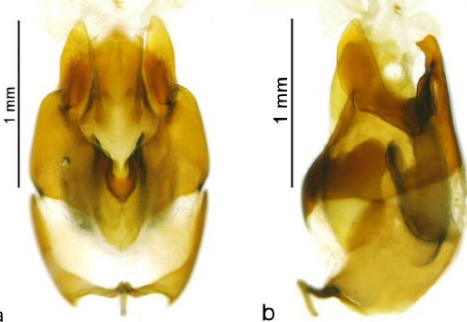


Türün adı	Türün Genel görünümü	Erkek genitalinin dorsalden ve lateralden görünümü
<p><i>Boveycantharis tokatensis</i> Pic, 1898</p>		
<p><i>Cantharis annularis</i> Menetriez, 1836</p>		
<p><i>Cantharis flavilabris</i> Fallen, 1807</p>		


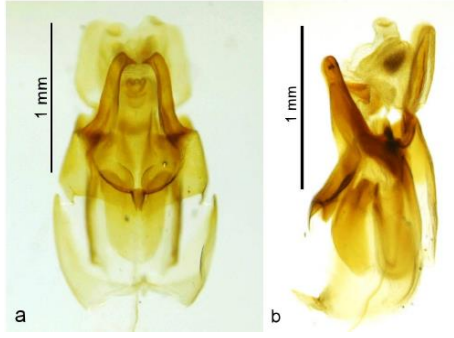

Türün adı	Türün Genel görünümü	Erkek genitalinin dorsalden ve lateralden görünümü
<p><i>Cantharis lateralis</i> Linnaeus, 1758</p>		
<p><i>Cantharis livida</i> Linnaeus, 1758</p>		
<p><i>Cantharis longicollis</i> Kiesenwetter, 1852</p>		

Türün adı	Türün Genel görünümü	Erkek genitalinin dorsalden ve lateralden görünümü
<p><i>Cantharis nigra</i> DeGeer, 1774</p>		
<p><i>Cantharis pulicaria</i> Fabricius, 1781</p>		
<p><i>Cantharis rufa</i> Linnaeus, 1758</p>		

Türün adı	Türün Genel görünümü	Erkek genitalinin dorsalden ve lateralden görünümü
<p><i>Cantharis rustica</i> Fallen, 1807</p>		
<p><i>Cantharis symrnensis</i> Marseul, 1864</p>		
<p><i>Cordicantharis iliaca</i> Marseul, 1864</p>		

Türün adı	Türün Genel görünümü	Erkek genitalinin dorsalden ve lateralden görünümü
<p><i>Metacantharis araxicola</i> Reitter, 1891</p>		
<p><i>Metacantharis clypeata</i> Illiger, 1798</p>		
<p><i>Metacantharis taurigrada</i> Bourgeois, 1900</p>		

Türün adı	Türün Genel görünümü	Erkek genitalinin dorsalden ve lateralden görünümü
<p data-bbox="236 528 485 600"><i>Occathemus tarsalis</i> Svihla, 1999</p>		
<p data-bbox="220 1093 501 1164"><i>Rhagonycha duplicata</i> Dahlgren, 1968</p>		
<p data-bbox="245 1626 475 1697"><i>Rhagonycha fulva</i> Scopoli, 1763</p>		

Türün adı	Türün Genel görünümü	Erkek genitalinin dorsalden ve lateralden görünümü
<p><i>Rhagonycha kiesentwetteri</i> Marseul, 1864</p>		
<p><i>Rhagonycha lutea</i> O. F. Müller, 1764</p>		

Family Cantharidae Imhoff, 1856
Subfamily Malthininae Kiesenwetter, 1852
Tribus Malthinini Kiesenwetter, 1852
***Malthinus conspicuus* Kiesenwetter, 1852**


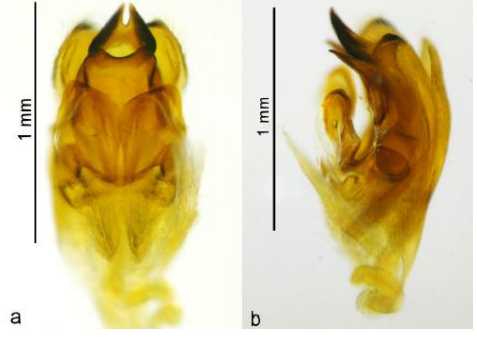
Materyaller: 1 ♀, Mersin, Merkez, Gözne yolu 10. km., 36°52' N, 34°33' E, 273m, 19.05.2005; 1 ♂, 1 ♀, Manisa, Turgutlu, Çaldağı, 38°36' N, 29°46' E, 600m, 04.06.2006; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Darboğaz köyü girişi, 37°28' N, 34°34' E, 1610m, 15.06.2005; 1 ♀, Uşak, Esmе, Kışladağı, 01.06.2002; 1 ♂, Kayseri, Yahyalı, Yahyalı-Dikme köyü arası, 38°2' N, 35°23' E, 1404m, 14.07.2002; 1 ♂, Karaman, Ermenek, Başyayla-Sarıveliler yol ayrımı, Pamuklu köyü girişi, 36°40' N, 32°45' E, 971m, 16.05.2006; 1 ♀, Karaman, Ermenek, Ermenek-Gülнар arası, Olukpınarı köyü, 36°28' N, 33°0' E, 1115m, 16.05.2006; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Gülнар, Delikkaya köyü, Karabük mahallesi dere kenarı, 36°16' N, 33°31' E, 234m, 17.05.2006; 1 ♂, Mersin, Silifke, Ulupınar köyü, 36°16' N, 33°35' E, 754m, 17.05.2006; 1 ♂, Mersin, Silifke, Yeşilovacı-Dedeler köyleri, 36°13' N, 33°36' E, 499m, 17.05.2006; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Gözne yolu, Çukurkeşli köyü, 36°52' N, 34°33' E, 277m, 19.05.2006; 1 ♂, 3 ♀♀, 112 Mersin, Merkez, Gözne-Fatih belediyesi, 37°1' N, 34°34' E, 1131m, 19.05.2006; 1 ♀, Mersin, Merkez, Gözne-Fatih belediyesi, Böğrüeğri yol ayrımı, 37°2' N, 34°32' E, 838m, 19.05.2006; 2 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Darboğaz köyü, 37°28' N, 34°35' E, 1721m, 06.06.2006; 1 ♂, 2 ♀♀, Adana, Pozantı, Akçatekir, 37°22' N, 34°49' E, 938m, 06.06.2006; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı, Çağlarca, 36°59' N, 34°26' E,

1194m, 08.06.2006; 4 ♀♀, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1398m, 10.06.2006; 1 ♂, Karaman, Ermenek, Ermenek-Güneyyurt köyü arası, 36°38' N, 32°51' E, 1300m, 11.06.2006; 1 ♂, Mersin, Silifke, İmambekirli-Nar köyleri arası, 36°26' N, 33°35' E, 505m, 20.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Gülnar, Gülnar yolu, Dayıcık yol ayrımı, 36°22' N, 33°12' E, 1251m, 21.06.2007; 1 ♂, 2 ♀♀, Niğde, Ulukışla, Niğde-Kayseri yolu, 37°35' N, 34°32' E, 1611m, 08.06.2007; 1 ♂, Niğde, Ulukışla, Maden köy, 37°30' N, 34°35' E, 1280m, 09.06.2007; 1 ♀, Mersin, Merkez, Yeniköy, Kızılbağ orman deposu, 37°0' N, 34°28' E, 1085m, 11.06.2007; 1 ♂, Mersin, Gülnar, Gülnar-Ermenek yolu, Akova, 36°25' N, 33°9' E, 1376m, 12.06.2007; 1 ♂, 1 ♀, Mersin, Gülnar, Gülnar-Ermenek yolu, Dayıcık yol ayrımı, 36°22' N, 33°12' E, 1251m, 12.06.2007; 1 ♀, Mersin, Mut, Çömelek deresi köprüsü, 36°43' N, 33°40' E, 1114m, 13.06.2007; 4 ♀♀, Mersin, Mut, Çömelek köyü, mermer ocağı, 36°42' N, 33°41' E, 1105m, 13.06.2007; 1 ♀, Mersin, Silifke, Kırobası, 36°43' N, 33°51' E, 1399m, 13.06.2007; 2 ♀♀, Mersin, Merkez, Fındıkpınarı-Çağlarca yolu, Çağlarca köyü, 36°59' N, 34°26' E, 1200m, 14.06.2007; 1 ♀, Niğde, Ulukışla, Emirler köyü çıkışı, 37°28' N, 34°32' E, 1556m, 26.06.2007.

Türkiye Yayılışı: Türkiye.

Dünya Yayılışı: A: IN, IQ, IS, JO, SY, TR [3,7].

Tablo 2. *Malthinus conspicuus* Kiesenwetter, 1852 türünün Genel görünümü ve erkek genital fotoğrafı

Tür	Genel görünüm	Erkek genitalinin dorsalden ve yandan görünümü
<i>Malthinus conspicuus</i> Kiesenwetter, 1852		

3. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışma, 2001-2008 yılları arasında Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanan ve Gazi Üniversitesi Zooloji Müzesi'nde saklanan 1481 cantharid örneğine dayanmaktadır. Örneklerin değerlendirilmesinden sonra, Cantharinae alt familyasına ait 7 cins, 22 tür ve Malthininae alt familyasına ait 1 cins, 1 tür belirlendi. Bu türler; *Ancistronycha erichsonii* Bach, 1852, *Boveycanthis rufimana* Menetries, 1832, *Boveycanthis tokatensis* Pic, 1898, *Cantharis annularis* Menetries, 1836, *Cantharis flavilabris* Fallen, 1807, *Cantharis lateralis* Linnaeus, 1758, *Cantharis livida* Linnaeus 1758, *Cantharis longicollis* Kiesenwetter, 1852, *Cantharis nigra* Degeer, 1774, *Cantharis pulicaria* Fabricius, 1781, *Cantharis rufa* Linnaeus, 1758, *Cantharis rustica* Fallen, 1807, *Cantharis symmensis* Marseul, 1864, *Cordicanthis iliaca* Marseul, 1864, *Metacantharis araxicola* Reitter, 1891, *Metacantharis clypeata* Illiger, 1798, *Metacantharis taurigrada* Bourgeois, 1900, *Occathemus tarsalis* Svihla, 1999, *Rhagonycha duplicata* Dahlgren, 1968, *Rhagonycha fulva*, Scopoli, 1763, *Rhagonycha kiesentwetteri* Marseul, 1864, *Rhagonycha lutea* O.F. Müller, 1764 ve *Malthinus conspicuus* Kiesenwetter, 1852 olup Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanmıştır.

Ancistronycha erichsonii Bach, 1852, Türkiye'de ilk kez Adana, Artvin, Kayseri, Konya, Mersin ve Niğde'den; *Boveycantharis rufimana* Menetries, 1832, Türkiye'de ilk kez Gümüşhane'den; *Boveycantharis tokatensis* Pic, 1898 Türkiye'de ilk kez Isparta'dan; *Cantharis annularis* Menetriez, 1836, Türkiye'de ilk kez Isparta, Kayseri, Mersin, Niğde ve Yozgat'tan; *Cantharis flavilabris* Fallen, 1807 Türkiye'de ilk kez Adana, Kayseri, Mersin ve Niğde'den; *Cantharis lateralis* Linnaeus, 1758, Türkiye'de ilk kez Adana, Karaman, Kayseri, Mersin, Niğde, Sivas ve Yozgat'tan; *Cantharis livida* Linnaeus 1758 Türkiye'de ilk kez Adana, Ankara, Antalya, Aksaray, Isparta, İzmit, Karaman, Kocaeli, Kayseri, Mersin, Niğde ve Yozgat'tan; *Cantharis longicollis* Kiesenwetter, 1852 Türkiye'de ilk defa Mersin'den; *Cantharis nigra* Degeer, 1774 Erzurum, İzmit, Sivas ve Yozgat'tan; *Cantharis pulicaria* Fabricius, 1781 Türkiye'de ilk kez Konya'dan; *Cantharis rufa* Linnaeus, 1758 Türkiye'de ilk kez Isparta, Konya, Mersin ve Niğde'den; *Cantharis rustica* Fallen, 1807 Türkiye'de ilk defa Çankırı'dan; *Cantharis symnensis* Marseul, 1864, Türkiye'de ilk kez Karaman, Mersin ve Niğde'den; *Cordicantharis iliaca* Marseul, 1864, Türkiye'de ilk kez Antalya, Isparta ve İzmit'ten; *Metacantharis araxicola* Reitter, 1891 Türkiye'de ilk kez Konya'dan; *Metacantharis clypeata* Illiger, 1798 Türkiye'de ilk kez Ankara'dan; *Metacantharis taurigrada* Bourgeois, 1900, Türkiye'de ilk kez Adana, Hatay, Isparta ve Mersin'den; *Occathemus tarsalis* Svihla, 1999 Türkiye'de ilk kez Antalya, Isparta ve İzmit'ten; *Rhagonycha duplicata* Dahlgren, 1968 Türkiye'de ilk kez Adana, Antalya, Isparta, Konya, Karaman, Mersin ve Niğde'den; *Rhagonycha kiesentwetteri* Marseul, 1864, Türkiye'de ilk kez Adana, Antalya, Konya, Karaman, Mersin ve Niğde'den; *Rhagonycha lutea* O.F. Müller, 1764, Türkiye'de ilk kez Adana'dan; *Malthinus conspicuus* türü Türkiye'de Adana, Karaman, Kayseri, Manisa, Mersin ve Niğde'den ilk kez kayıt edilmiştir.

Adana, Aksaray, Çorum, Erzurum, Eskişehir, Gaziantep, Gümüşhane, Hatay, Isparta, İzmit, Karaman, Kahramanmaraş, Kayseri, Kırklareli, Kocaeli, Konya, Mersin, Nevşehir, Niğde, Osmaniye, Trabzon, Yozgat. [1, 17, 23].

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında büyük ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım tez danışmanım, Değerli Merhum hocam Prof. Dr. Metin AKTAŞ'a ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Abdullah HASBENLİ'ye teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarım sırasında bana yardım eden değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Ersin DEMİREL, Dr. Öğr. Üyesi Üzeyir Çağlar, Dr. Kadir BAŞAR, Dr. Fatma AÇIKGÖZ, Dr. Neslihan ALPAY'a ve örnek teşhislerinde yardımlarından dolayı Dr. Antoni KUSKA, Dr. Sergey KAZANTSEV, Dr. Michael BRANCUCCI, Dr. Vladimir SVIHLA ve Dr. Tae Hwa KANG'a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

BİLDİRİM

Çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

KAYNAKLAR

[1] Lodos, N. (1991). Türkiye Entomolojisi, 1", Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Basımevi, Bornova- İzmir, 54-59.

[2] Brancucci M. (1980). Morphologie comparee evolution et systematique des Cantharidae (Insecta: Coleoptera), *Entomologica Basiliensia*, 5: 215- 388.

- [3] Brancucci, M. & Kazantsev, S. (2007). Elateroidea-Derodontoidea-Bostrichoidea- Lymexyloidea-Cleroidea-Cucujoidea”, Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Volume 4, Löbl I. and Smetana A., Apollo Books, Stenstrup, 234-298.
- [4] Kuska, A. (1995). Omomilki (Coleoptera, Cantharidae): Cantharidae I Silinae”, Monografie Fauny Polski, Polska Akademia Nauk Instytut systemetyki I Ewolucji Zwierzat, vol 21:1-200.
- [5] Ramsdale, A. S. (2002). 64.Cantharidae Imhoff 1856”, American beetles (Polyphaga:Scarabaeoidea through Curculionoidea), Crc Press, Newyork, 2: 202-219.
- [6] Wittmer, W. (1969). Zur Kenntnis Der Gattung *Metacantharis* Bourg. (43. Beitrag Zur Kenntnis Der Palaearktischen Cantharidae/Coleoptera), *Verhandlungen der Naturforschenden Gesellschaft in Basel*, 80: 70- 93.
- [7] Wittmer, W. (1971). 51. Beitrag zur Kenntnis der palaearktischen Cantharidae, *Entomologischen Arbeiten Aus Dem Museum G. Frey*, 226-239.
- [8] Wittmer, W. (1972). 56. Beitrag Zur Kenntnis Der Palaearktischen Cantharidae (Col.), *Mitteilungen Der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft Bulletin De La Societe Entomologique Suisse*, 45(1-3): 61-77.
- [9] Wittmer, W. (1993). Zur Kenntnis Der Palaearktischen und Indo-malaiischen Cantharidae (Coleoptera)”, *Entomologica aBasiliensia*, 16:203-253.
- [10] Svihla, V. (1993). Contribution to The Knowledge of The Genus *Rhagonycha* Eschsch. (Coleoptera, Cantharidae) From Eastern Mediterranean, *Entomologica Basiliensia*, 16: 255-277.
- [11] Svihla, V. (1994). New Taxa of Palaearctic Cantharidae (Coleoptera), *Folia Heyrovskyana*, 2(9-10): 116-123.
- [12] Svihla, V. (1998). Contribution to The Knowledge of The Subfamily Malthininae (Coleoptera: Cantharidae) of Turkey. *Klapalekiana*, 34: 227-232.
- [13] Svihla, V. (1999). “Contribution to the knowledge of the genus *Cantharis* L. and related genera from Turkey and adjacent regions (Coleoptera, Cantharidae)”, *Entomologica Basiliensia*, 21: 135-170,
- [14] Svihla, V. (2002). A Contribution to Knowledge of The Subfamily Malthininae (Coleoptera: Cantharidae) from The Western Palaearctic, *Folia Heyrovskyana*, 10(2-3): 119-154.
- [15] Svihla, V. (2009). New species of the subfamily Malthininae (Coleoptera: Cantharidae) from the western Palaearctic Region. *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*, 49(1): 191- 216.
- [16] Kazantsev, S. (2005). A Rewiew of *Ancistronycha* Markel With the Description of *Atalantya*, A New Nearctic Genus (Coleoptera: Cantharidae), *The Coleopterists Bulletin*, 59(2): 204-210.
- [17] Yıldırım, E., Kopetz, A., Bulak, Y. (2011). Contribution to the knowledge of the Cantharidae (Coleoptera) fauna of Turkey. *Linzer Biologische Beiträge*, 43(2), 1641-1646.
- [18] Kazantsev, S. (2004). A Checklist of Cantharidae (Coleoptera) of the ex-USSR, Russian *Entomological Journal*, 13(1): 23-34.
- [19] Drovenik, B. (2001). New Records of Cantharidae (Coleoptera) in Slovenia”, *Acta Entomologica Slovenica*, 9(2): 153-167.
- [20] Chobotow, J. (2002). The Soldier Beetles (Cantharidae, Coleoptera) of Central- Eastern Poland”, *Annales Universitatis Mariae Curie- Sklodowska, Lublin-Polonia*, vol: LVII, 1-21.
- [21] Svihla, V. (1992). Revision of the subfam. Cantharinae without *Podaprus* (Coleoptera, Cantharidae) from Soviet Central Asia, Afghanistan and Chinese Turkestan, *Entomologica Basiliensia*, 15: 279-332.
- [22] Kazantsev, S. (1994). The Palaearctic Species of the Genus *Silis* Charpentier, 1825 with the description of *Crudosilis* Gen. N. (Coleoptera: Cantharidae), *Elytron*, 8: 93-115.
- [23] Çağlar, Ü. & Koçak, Y. (2017). Notes on the karyology, male genitalia and distribution of *Rhagonycha fulva* (Scopoli, 1763) (Coleoptera: Cantharidae) from Turkey, *Biological Diversity and Conservation*, 10(3): 1-6.
- [24] Kazantsev S. (1995). Rewiew of the species of *Rhagonycha* (Coleoptera, Cantharidae) of Asian Russia, *Entomological Review*, 74(3): 121-153.
- [25] Dahlgren, V. G. (1975). Zur Taxonomie Der Gattungen *Rhagonycha*, *Pseudocratosilis* und *Cratosilis* (Col. Cantharidae), *Entomologische Blätter*, 71(2): 100-112.

Üç Değişkenli Fibonacci Tipli Polinomlar için Doğurucu Fonksiyonlar ve Bazı Özellikleri

Zeynep Özat* , Bayram Çekim 

Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, 06500, Ankara, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Çalışmada, Fibonacci tipli polinom ailelerini içeren yeni doğurucu fonksiyonlara yer verilmiştir.
- S_j polinom ailesinin bir genellemesi elde edilmiştir.
- Bu polinom ailelerinin çeşitli özellikleri elde edilmiştir.

Makale Bilgileri

Geliş: 12.04.2021

Kabul: 05.05.2021

Anahtar Kelimeler

Doğurucu fonksiyon,
Fibonacci polinomları,
Rekürans bağıntısı

Özet

Bu çalışmada ilk olarak iyi bilinen bazı polinom ailelerinin ve özel sayıların tanımlarına yer verilmiştir. Daha sonra Fibonacci tipli polinom ve sayı ailelerini içeren yeni doğurucu fonksiyonlar tanıtılmıştır. Bu polinom ailelerinin açık gösterimi ve doğurucu fonksiyonlarının kısmi türevleri ile bu ailelerin rekürans bağıntıları elde edilmiştir.

The Generating Functions and Some Properties of Three Variable Fibonacci Type Polynomials

Highlights

- In this work, new generating functions including Fibonacci type polynomial families are included.
- A generalization of the polynomial family S_j is given.
- The various properties of these families of polynomial are obtained.

Article Info

Received: 12.04.2021

Accepted: 05.05.2021

Keywords

Generating function,
Fibonacci polynomials,
Recurrence relation

Abstract

In this study, first of all, definitions of some well-known polynomial families and special numbers are given. Later, new generating functions including Fibonacci type polynomial and number families are introduced. Explicit representation of these polynomial families, partial derivatives of generating functions of these polynomial families and recurrence relations of these families are obtained.



1. GİRİŞ

Orta çağın en ileri gelen Avrupalı matematikçilerinden biri olan Leonardo Fibonacci, Arap sayı sistemini Avrupa'ya tanıtan ilk kişidir. Matematiğe olan katkılarıyla tanınan Fibonacci'nin en önemli eserlerinden biri ise kendi adını taşıyan "Fibonacci Sayı Dizileri" dir. Bu sayı dizisi her terimin kendisinden önce gelen iki terimin toplamı ile elde edilmektedir. Fibonacci sayılarının açık gösterimi Édouard Lucas tarafından tanımlanmıştır. Fibonacci dizisini tanımlamış ve ardından bu sayı dizisiyle ilişkili olan yeni bir sayı dizisini matematik dünyasına kazandırmıştır. Bu dizi ise Lucas dizisi olarak adlandırılmaktadır [1, 2].

Fibonacci sayı dizileri $F_0 = 0$ ve $F_1 = 1$ olmak üzere

$$F_{s+2} = F_{s+1} + F_s, s = 0, 1, 2, \dots$$

rekürans bağıntısıyla tanımlanmıştır ve bu sayı dizilerinin doğurucu fonksiyonu ise

$$\sum_{s=0}^{\infty} F_s t^s = \frac{t}{1-t-t^2}$$

olarak elde edilmiştir [1, 3]. $F_s(x)$ ile gösterilen Fibonacci polinomu olmak üzere

$$F_0(x) = 0, \quad F_1(x) = 1$$

şartları ile bu polinomlar

$$F_{s+2}(x) = xF_{s+1}(x) + F_s(x), s = 0, 1, 2, \dots$$

rekürans bağıntısı ile tanımlanmıştır [4, 5]. Fibonacci polinomlarının doğurucu fonksiyonu

$$\sum_{s=0}^{\infty} F_s(x) t^s = \frac{t}{1-xt-t^2}$$

olarak elde edilmiştir [1].

Lucas sayıları ise $L_0 = 2$, $L_1 = 1$ koşulları olmak üzere rekürans bağıntısı

$$L_{s+2} = L_{s+1} + L_s, s = 0, 1, 2, \dots$$

ile tanımlanmıştır [1]. Lucas sayılarının doğurucu fonksiyonu

$$\sum_{s=0}^{\infty} L_s t^s = \frac{2-t}{1-t-t^2}$$

şeklinde elde edilmiştir [1]. Başlangıç koşulları $L_0(x) = 2$ ve $L_1(x) = x$ olmak üzere Lucas polinomları ise

$$L_{s+1}(x) = xL_s(x) + L_{s-1}(x), s = 1, 2, \dots$$

rekürans bağıntısıyla tanımlanmıştır [6]. Burada Lucas polinomlarının doğurucu fonksiyonu

$$\sum_{s=0}^{\infty} L_s(x)t^s = \frac{2-xt}{1-xt-t^2}$$

dır [6]. Fibonacci sayılarının bir diğer genellemesi olan Tribonacci sayıları ise başlangıç şartları $T_0 = 0$, $T_1 = 1$ ve $T_2 = 1$ olmak üzere

$$T_s = T_{s-1} + T_{s-2} + T_{s-3}, \quad s = 3, 4, \dots$$

rekürans bağıntısı ile gösterilmektedir ve Tribonacci sayılarının doğurucu fonksiyonu ise

$$\sum_{s=0}^{\infty} T_s t^s = \frac{t}{1-t-t^2-t^3} \quad (1.1)$$

şeklinde tanımlanmıştır [7, 8]. Tribonacci polinomları, $t_0(x) = 0$, $t_1(x) = 1$ ve $t_2(x) = x^2$ şartları olmak üzere rekürans bağıntısı

$$t_{s+3}(x) = x^2 t_{s+2}(x) + x t_{s+1}(x) + t_s(x), \quad s = 0, 1, 2, \dots$$

olarak elde edilmiştir [9]. Tribonacci polinomlarının doğurucu fonksiyonu

$$\sum_{s=0}^{\infty} t_s(x) z^s = \frac{z}{1-x^2 z - x z^2 - z^3}$$

şeklinde elde edilmiştir [1].

Tribonacci-Lucas sayıları, $K_0 = 3$, $K_1 = 1$ ve $K_2 = 3$ koşulları olmak üzere rekürans bağıntısı

$$K_s = K_{s-1} + K_{s-2} + K_{s-3}, \quad s = 3, 4, \dots$$

olarak tanımlanmıştır ve Tribonacci-Lucas sayılarının sayılarının doğurucu fonksiyonu

$$\sum_{s=0}^{\infty} K_s t^s = \frac{3-2t-t^2}{1-t-t^2-t^3}$$

olarak elde edilmiştir [10]. Tribonacci-Lucas polinomu $k_0(x) = 3$, $k_1(x) = x^2$ ve $k_2(x) = x^4 + 2x$ koşulları olmak üzere rekürans bağıntısı

$$k_{s+3}(x) = x^2 k_{s+2}(x) + x k_{s+1}(x) + k_s(x), \quad s = 0, 1, 2, \dots$$

şeklinde tanımlanmıştır [10]. Tribonacci-Lucas polinomlarının doğurucu fonksiyonu

$$\sum_{s=0}^{\infty} k_s(x) t^s = \frac{3-2x^2 t - x t^2}{1-x^2 t - x t^2 - t^3}$$

olarak elde edilmiştir [10].

$H_0(x, y, z) = 0$, $H_1(x, y, z) = 1$ ve $H_2(x, y, z) = x$ koşulları olmak üzere $H_s(x, y, z)$, s . üç değişkenli Fibonacci polinomu için rekürans bağıntısı

$$H_s(x, y, z) = xH_{s-1}(x, y, z) + yH_{s-2}(x, y, z) + zH_{s-3}(x, y, z), s = 3, 4, \dots$$

olarak tanımlanmıştır [11]. Üç değişkenli Fibonacci polinomlarının doğurucu fonksiyonu ise

$$\sum_{s=0}^{\infty} H_s(x, y, z)t^s = \frac{1}{1 - xt - yt^2 - zt^3} \quad (1.2)$$

olarak elde edilmiştir [11].

$K_s(x, y, z)$, üç değişkenli Lucas polinomu, $K_0(x, y, z) = 3$, $K_1(x, y, z) = x$ ve $K_2(x, y, z) = x^2 + 2y$ koşulları olmak üzere rekürans bağıntısı

$$K_s(x, y, z) = xK_{s-1}(x, y, z) + yK_{s-2}(x, y, z) + zK_{s-3}(x, y, z), s = 3, 4, \dots$$

şeklinde tanımlanmıştır [11]. Üç değişkenli Lucas polinomlarının doğurucu fonksiyonu ise

$$\sum_{s=0}^{\infty} K_s(x, y, z)t^s = \frac{3 - 2xt - yt^2}{1 - xt - yt^2 - zt^3}$$

olarak elde edilmiştir [11].

Literatürde, Fibonacci tipli polinom ailelerini inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır [12-15]. Bu çalışmalarda bazı özel sayı dizileri ve polinom aileleri incelenmiş, çeşitli genellemeleri yapılarak bu polinom ailelerini içeren yeni doğurucu fonksiyonlar, doğurucu fonksiyonların kısmi türevleri ve rekürans bağıntıları elde edilmiştir.

Özdemir ve Şimşek [16, 17] iki değişkenli Fibonacci tipli polinom ailelerini kapsayan yeni bir doğurucu fonksiyon $k, m, n \in \mathbb{N}_0$ için

$$H(t; x, y; k, m, n) = \sum_{j=0}^{\infty} G_j t^j = \frac{1}{1 - x^k t - y^m t^{m+n}} \quad (1.3)$$

olarak tanımlamıştır. Daha sonra Kızılateş ve arkadaşları tarafından üç değişkenli $S_j = S_j(x, y, z; k, m, n, c)$

polinom ailesini $k, m, n, c \in \mathbb{N}_0 - \{0\}$ ve $|x^k t + y^m t^{m+n} + z^c t^{m+n+c}| < 1$ koşulları olmak üzere

$$M := M(t; x, y, z; k, m, n, c) = \sum_{j=0}^{\infty} S_j t^j = \frac{1}{1 - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}} \quad (1.4)$$

olarak tanımlanmıştır [18]. Daha sonra S_j polinom ailesinin açık gösterimine, doğurucu fonksiyonun kısmi

türevlerine ve rekürans bağıntılarına yer verilmiştir. Ardından diğer polinom aileleri ve özel sayılarla ilişkilerine değinilmiştir.

Bu çalışmada ise S_j polinom ailesinin daha genel formu olan $S_j^{(h)}$ polinom ailesi incelenecek ve bu ailenin özellikleri üzerinde durulacaktır.

2. $S_j^{(h)}$ POLİNOM AİLESİNİN TANIMI VE ÖZELLİKLERİ

Tanım 2.1. $S_j^{(h)} := S_j^{(h)}(x, y, z; k, m, n, c, d)$ polinom ailesi $k, m, n, c, h, d \in \mathbb{N}_0 - \{0\}$ ve $|x^k t + y^m t^{m+n} + z^c t^{m+n+c}| < d$ olmak üzere

$$M^{(h)} := M^{(h)}(t; x, y, z; k, m, n, c) = \sum_{j=0}^{\infty} S_j^{(h)} t^j = \frac{1}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)^h} \quad (2.1)$$

şeklinde tanımlansın. Bu eşitlikte $h = d = 1$ değerleri yazıldığı takdirde Eş. 1.4 ile verilen S_j polinom ailesi elde edilir ve çalışmada verilen özellikler ve örnekler sağlanmaktadır [18]. Eş. 2.1 de $h = d = 1$ ve $z = 0$ değerlerinin alınmasıyla Eş. 1.3 ile verilen G_j ailesi elde edilmektedir [16, 17].

Eş. 2.1’ de $h = h_1 + h_2$ ($h_1, h_2 \in \mathbb{N}_0 - \{0\}$) olsun. O halde

$$\sum_{j=0}^{\infty} S_j^{(h_1+h_2)} t^j = \sum_{j=0}^{\infty} \sum_{l=0}^j S_{j-l}^{(h_1)} S_l^{(h_2)} t^j$$

elde edilir. Ardından t^j lerin katsayıları eşitlendiği takdirde

$$S_j^{(h_1+h_2)} = \sum_{l=0}^j S_{j-l}^{(h_1)} S_l^{(h_2)} \quad (2.2)$$

eşitliği elde edilir. Örneğin Eş. 2.2’ de $h_1 = h_2 = 1$ değerleri yazılarak

$$S_j^{(2)}(x, y, z; k, m, n, c, d) = \sum_{l=0}^j S_{j-l}^{(1)} S_l^{(1)}$$

elde edilir. Burada $S_j^{(1)}$ in $d = 1$ durumunda S_j olduğuna dikkat edilmelidir. Eş.2.1’de binom açılımının kullanılmasıyla

$$S_j^{(h)} = \sum_{s=0}^j \binom{j}{n+m} \binom{j-(m+n)s}{n+m+c} \binom{h+j-(m+n-1)s-(m+n+c-1)u-1}{h-1} \binom{j-(n+m-1)s-(n+m+c-1)u}{s+u}$$

$$\times \binom{s+u}{u} d^{-(h+j-(m+n-1)s-(m+n+c-1)u)} (x^k)^{j-(n+m)(s+u)-cu} y^{ms} z^{cu}$$

eşitliği ile verilen bu polinom ailesinin açık gösterimi elde edilmiş olur.

Örnekler

1) [16, 17] deki çalışmalara benzer olarak $S_j^{(h)}$ polinom ailesinde x yerine ax , y yerine -1 , d , k , m yerine 1 , n yerine $a-1$ ve z yerine 0 değerleri yazılırsa ve [19] daki Humbert polinomunun doğurucu fonksiyonu kullanılırsa

$$\sum_{j=0}^{\infty} S_j^{(h)}(ax, -1, 0; 1, 1, a-1, 1) t^j = \frac{1}{(1-axt+t^a)^h} = \sum_{j=0}^{\infty} \prod_{j,a}^h(x) t^j$$

eşitliğine ulaşılır. Daha sonra t^j lerin katsayıları eşitlenerek

$$S_j^{(h)}(ax, -1, 0; 1, 1, a-1, 1) = \prod_{j,a}^h(x)$$

elde edilir.

2) [16-18] deki çalışmalara benzer olarak Eş.2.1 de x yerine $2x$, y yerine -1 , z yerine 0 ve $h=d=k=m=n=1$ değerleri yazılırsa ve [20] deki Legendre polinomunun doğurucu fonksiyonu kullanılırsa

$$\begin{aligned} \sum_{j=0}^{\infty} S_j^{(1)}(2x, -1, 0; 1, 1, 1, c, 1) t^j &= \frac{1}{1-2xt+t^2} \\ &= \frac{1}{(1-2xt+t^2)^{1/2}} \cdot \frac{1}{(1-2xt+t^2)^{1/2}} \\ &= \left(\sum_{j=0}^{\infty} P_j(x) t^j \right) \left(\sum_{r=0}^{\infty} P_r(x) t^r \right) \\ &= \sum_{j=0}^{\infty} \sum_{r=0}^{\infty} P_j(x) P_r(x) t^{j+r} \end{aligned}$$

elde edilir. Burada $p \in \mathbb{N}_0 - \{0\}$ için [21] deki $\sum_{t=0}^{\infty} \sum_{r=0}^{\infty} A(r, t) = \sum_{t=0}^{\infty} \sum_{r=0}^{\lfloor t/p \rfloor} A(r, t-pr)$ eşitliğin kullanılmasıyla

$$\sum_{j=0}^{\infty} S_j^{(1)}(2x, -1, 0; 1, 1, 1, c, 1) t^j = \sum_{j=0}^{\infty} \sum_{r=0}^j P_{j-r}(x) P_r(x) t^j$$

olarak bulunur. Daha sonra t^j lerin katsayılarının eşitlenmesi ile $P_r(x)$ Legendre polinomu olmak üzere

$$S_j^{(1)}(2x, -1, 0; 1, 1, 1, c, 1) = \sum_{r=0}^j P_{j-r}(x)P_r(x)$$

eşitliği elde edilir.

Tanım 2.2. $k, m, n, c, d, h \in \mathbb{N}_0 - \{0\}$ ve $|x^k t + y^m t^{m+n} + z^c t^{m+n+c}| < d$ koşulları olmak üzere $W_j^{(h)}(x, y, z; k, m, n, c, d)$ polinom ailesi

$$\begin{aligned} M^{(h)}(t; x, y, z; k, m, n, c, d)t^n &= \frac{t^n}{(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c})^h} \\ &= \sum_{j=0}^{\infty} W_j^{(h)} t^j \end{aligned} \tag{2.3}$$

doğurucu fonksiyonu ile tanımlansın. Eş. 2.3’ de tanımlanan polinom ailesinde $h = k = m = n = c = d = 1$ değerlerinin yazılmasıyla

$$\sum_{j=0}^{\infty} W_j^{(1)}(x, y, z; 1, 1, 1, 1, 1)t^j = \frac{t}{1 - xt - yt^2 - zt^3}$$

eşitliği bulunur. O halde $W_j^{(1)}(x, y, z; 1, 1, 1, 1, 1) = H_j(x, y, z)$ eşitliği elde edilir.

Başka bir örnek verecek olursak eğer Eş. 2.3 de x yerine x^2 , y yerine x , z yerine 1 değerlerinin yazılması ile

$$\sum_{j=0}^{\infty} W_j^{(1)}(x, x^2, 1; 1, 1, 1, 1, 1)t^j = \frac{t}{1 - x^2 t - xt^2 - t^3}$$

eşitliği sağlanır. Burada $W_j^{(1)}(x, x^2, 1; 1, 1, 1, 1, 1) = T_j(x)$ elde edilir. $S_j^{(h)}$ polinomunda $h = d = 1$ değerleri alınarak Kızılateş ve arkadaşları [18] tarafından verilen örnekler ile polinom aileleri ve sayı aileleri elde edilebilir.

3. KISMİ TÜREVLER VE REKÜRANS BAĞINTILARI

Burada $S_j^{(h)}$ polinomunun $M^{(h)}$ doğurucu fonksiyonuna göre x, y, z değişkenlerine göre kısmi türevleri sırasıyla aşağıda verilmiştir:

$$\frac{\partial}{\partial x} M^{(h)} = h k x^{k-1} t M^{(1)} M^{(h)},$$

$$\frac{\partial}{\partial y} M^{(h)} = h m y^{m-1} t^{n+m} M^{(1)} M^{(h)},$$

$$\frac{\partial}{\partial z} M^{(h)} = h c z^{c-1} t^{m+n+c} M^{(1)} M^{(h)}.$$

Bu kısmi türevlerin kullanılmasıyla aşağıdaki rekürans bağıntıları elde edilmiştir.

Teorem 2.1.

$j \geq 1$ doğal sayıları için

$$\frac{\partial}{\partial x} S_j^{(h)} = kx^{k-1} \sum_{l=0}^{j-1} S_{j-l-1}^{(h)} S_l^{(1)}$$

eşitliği sağlanır.

İspat. Eş 2.1' in her iki tarafının x 'e göre türevlerinin alınmasıyla

$$\begin{aligned} \sum_{j=0}^{\infty} \frac{\partial}{\partial x} S_j^{(h)} t^j &= \frac{\partial}{\partial x} \frac{1}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)^h} \\ &= hkx^{k-1} \frac{t}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)^h} \cdot \frac{1}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)} \\ &= hkx^{k-1} \left(\sum_{j=0}^{\infty} S_j^{(h)} t^{j+1} \right) \left(\sum_{l=0}^{\infty} S_l^{(1)} t^l \right) \\ &= hkx^{k-1} \sum_{j=0}^{\infty} \sum_{l=0}^{\infty} S_j^{(h)} S_l^{(1)} t^{j+l+1} \\ &= hkx^{k-1} \sum_{j=1}^{\infty} \sum_{l=0}^{j-1} S_{j-l-1}^{(h)} S_l^{(1)} t^j \end{aligned}$$

elde edilir. Burada $j < 1$ için $S_j^{(h)}$ polinomu $\frac{\partial}{\partial x} S_0^{(h)} = 0$ olup $j \geq 1$ durumu için t^j 'lerin katsayıları eşitlendiği takdirde

$$\frac{\partial}{\partial x} S_j^{(h)} = hkx^{k-1} \sum_{l=0}^{j-1} S_{j-l-1}^{(h)} S_l^{(1)}$$

eşitliği sağlanır.

2.2. Teorem

$j \geq m + n$ doğal sayıları için

$$\frac{\partial}{\partial y} S_j^{(h)} = hmy^{m-1} \sum_{l=0}^{j-m-n} S_{j-m-n-l}^{(h)} S_l^{(1)}$$

eşitliği sağlanır.

İspat. Eş 2.1' in her iki tarafının y 'ye göre türevlerinin alınmasıyla

$$\begin{aligned} \sum_{j=0}^{\infty} \frac{\partial}{\partial y} S_j^{(h)} t^j &= \frac{\partial}{\partial y} \frac{1}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)^h} \\ &= hmy^{m-1} \frac{t^{m+n}}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)^h} \cdot \frac{1}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)} \\ &= hmy^{m-1} \left(\sum_{j=0}^{\infty} S_j^{(h)} t^{j+m+n} \right) \left(\sum_{l=0}^{\infty} S_l^{(1)} t^l \right) \\ &= hmy^{m-1} \sum_{j=0}^{\infty} \sum_{l=0}^{\infty} S_j^{(h)} S_l^{(1)} t^{j+m+n+l} \\ &= hmy^{m-1} \sum_{j=m+n}^{\infty} \sum_{l=0}^{j-m-n} S_{j-l-1}^{(h)} S_l^{(1)} t^j \end{aligned}$$

elde edilir. Burada $j < m+n$ için $S_j^{(h)}$ polinomu $\frac{\partial}{\partial y} S_j^{(h)} = 0$ olup, $j \geq m+n$ durumu için t^j lerin katsayıları eşitlendiği takdirde

$$\frac{\partial}{\partial y} S_j^{(h)} = hmy^{m-1} \sum_{l=0}^{j-m-n} S_{j-m-n-l}^{(h)} S_l^{(1)}$$

eşitliği elde edilir.

2.3. Teorem

$j \geq m+n+c$ doğal sayıları için

$$\frac{\partial}{\partial z} S_j^{(h)} = hc z^{c-1} \sum_{l=0}^{j-m-n-c} S_{j-m-n-c-l}^{(h)} S_l^{(1)}$$

bağıntısı elde edilir.

İspat. Eş 2.1' in her iki tarafının z 'ye göre türevlerinin alınmasıyla

$$\begin{aligned} \sum_{j=0}^{\infty} \frac{\partial}{\partial z} S_j^{(h)} t^j &= \frac{\partial}{\partial z} \frac{1}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)^h} \\ &= hc z^{c-1} \frac{t^{m+n+c}}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)^h} \cdot \frac{1}{\left(d - x^k t - y^m t^{m+n} - z^c t^{m+n+c}\right)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= hcz^{c-1} \left(\sum_{j=0}^{\infty} S_j^{(h)} t^{j+m+n+c} \right) \left(\sum_{l=0}^{\infty} S_l^{(1)} t^l \right) \\
 &= hcz^{c-1} \sum_{j=0}^{\infty} \sum_{l=0}^{\infty} S_j^{(h)} S_l^{(1)} t^{j+m+n+c+l} \\
 &= hcz^{c-1} \sum_{j=m+n+c}^{\infty} \sum_{l=0}^{j-m-n-c} S_{j-m-n-c-l}^{(h)} S_l^{(1)} t^j
 \end{aligned}$$

elde edilir. Burada $j < m+n+c$ durumu için $S_j^{(h)}$ polinomu $\frac{\partial}{\partial z} S_j^{(h)} = 0$ olup, $j \geq m+n+c$ durumu için t^j lerin katsayıları eşitlendiği takdirde

$$\frac{\partial}{\partial z} S_j^{(h)} = hcz^{c-1} \sum_{l=0}^{j-m-n-c} S_{j-m-n-c-l}^{(h)} S_l^{(1)}$$

eşitliği sağlanır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

BİLDİRİM

Bu çalışma Zeynep ÖZAT'ın "Üç Değişkenli Bir Polinom Ailesi ve Genelleştirmeleri" başlıklı Yüksek Lisans tezinden üretilmiş ve 28-29 Haziran 2019 tarihinde yapılan 14. Ankara Matematik Günleri'nde sunulmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] Koshy, T. (2001). *Fibonacci and Lucas Numbers with Applications*. Pure and Applied Mathematics, Canada: John Wiley and Sons, Interscience, 1-500.
- [2] Grigas, A. (2013). *The Fibonacci Sequence, Its history, significance and manifestations in Nature*. A Senior Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for Graduation in the Honors Program, Liberty University, 1-35.
- [3] Posamentier, A.S. and I. Lehmann (2007). *The (fabulous) Fibonacci numbers*. Amherst, New York: Prometheus Books, 299-305.
- [4] Catalani, M. (2004). Some formula for bivariate Fibonacci and Lucas polynomials. ArXiv: Math/0406323v1 [Math. CO].
- [5] Hoggatt, V.E. Jr. and Bicknell M. (1972). Convolution Triangles. *The Fibonacci Quarterly*, 10(6), 599-608.
- [6] Lupas, A. (1999). A guide of Fibonacci and Lucas polynomials. *Octagon Mathematics Magazine*, 7(1), 2-12.
- [7] Feinberg, M. (1963). Fibonacci-Tribonacci. *The Fibonacci Quarterly*, (3), 70-74. [6] Lupas, A. (1999). A guide of Fibonacci and Lucas polynomials. *Octagon Mathematics Magazine*, 7(1), 2-12.
- [8] Hoggatt, V.E. Jr. and Bicknell M. (1972). Convolution Triangles. *The Fibonacci Quarterly*, 10(6), 599-608.
- [9] Hoggatt, V.E. Jr. and M. Bicknell (1973). Generalized Fibonacci polynomials. *Fibonacci Quarterly*, 11(5), 457-465.
- [10] Elia, M. (2001). Derived sequences, the Tribonacci recurrence and cubic forms. *The Fibonacci Quarterly*, 39(2), 107-109.
- [11] Kocer, E. G. and Gedikce, H. (2016). Trivariate Fibonacci and Lucas polynomials. *Konuralp Journal of Mathematics*, 4(2), 247-254.

- [12] Erkuş-Duman, E. And Tuğlu, N. (2015). Generating functions for the generalized bivariate Fibonacci and Lucas polynomials. *Journal of Computational Analysis and Applications*, 18(5), 815-821
- [13] Kızılateş, C. and Çekim, B. (2018). New families of generating functions for q-Fibonacci and the related polynomials. *Ars Combinatoria*, 136, 397-404.
- [14] Kızılateş, C. and Tuğlu, N. (2017). A new generalization of convolved (p, q)-Fibonacci and (p, q)- Lucas polynomials. *Journal of Mathematics and Computer Science*. 7(6), 995-1005.
- [15] Tuğlu, N., E.G., Koçer and Stakhov, A. (2011). Bivariate Fibonacci like p-polynomials. *Applied Mathematics and Computation*, 217(24), 10239-10246.
- [16] Ozdemir, G. and Simsek, Y. (2016). Generating functions for two-variable polynomials related to a family of Fibonacci type polynomials and numbers. *Filomat*, 30(4), 969-975.
- [17] Ozdemir, G. (2017). Çok Değişkenli Fibonacci Tipli Polinomlar İçin Üreteç Fonksiyonları ve Uygulamaları, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 52-67.
- [18] Kızılateş, C., Çekim, B., Tuğlu, Naim., Kim, T. (2019). New families of three-variable polynomials coupled with well-known polynomials and numbers. *Symmetry*, 11(2), 264.
- [19] Humbert, P. (1920). Some Extensions of Pincherle's Polynomials. *Proceedings of the Edinburg Mathematical Society*, 39, 21-24.
- [20] Bell, W.W. (1968). *Special Function for Scientist and Engineer*. London: D. Van Nostrand Company Ltd., 247p.
- [21] Srivastava, H.M. and Manocha, H.L. (1984). *A Treatise on Generating Functions*. New York, USA: Ellis Harwood Limited.

Nimfal *Conocephalus fuscus fuscus* (Fabricius, 1793) (Orthoptera, Tettigoniidae)'ta Proventrikulusun Histomorfolojik Özellikleri

Damla Amutkan Mutlu^{1*}, Irmak Polat², Zekiye Suludere²

¹ Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06500, Ankara, Türkiye

² Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 18200, Çankırı, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Nimfal *Conocephalus fuscus fuscus*'ta proventrikulusun morfolojik ve yapısal özellikleri incelenmiştir.
- Çalışmada ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskop yöntemleri kullanılmıştır.
- Diğer böcek türlerinin proventrikulusu ile benzerlikleri ve farklılıkları ortaya konmuştur.

Makale Bilgileri

Geliş: 29.03.2021
Kabul: 06.05.2021

Anahtar Kelimeler

Ön bağırsak,
Morfoloji,
Histoloji,
Işık mikroskobu,
Taramalı elektron
mikroskobu,
Conocephalus fuscus fuscus

Özet

Böceklerde sindirim sisteminin morfolojisindeki çeşitlilik, birçok araştırmacıyı, proventrikulusa özel vurgu yaparak, onu sistematik ve filogenik karakter olarak kullanmaya yöneltmiştir. Bu çalışmada, nimfal *Conocephalus fuscus fuscus* (Fabricius, 1793) (Orthoptera, Tettigoniidae), 2017 ve 2018 yıllarının Haziran ayında Ankara-Çankırı yolu üzerindeki arazilerden toplanmış ve disekte edilen proventrikulus yapısı ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskop yöntemleriyle incelenmiştir. *C. fuscus fuscus* dıştan içe doğru kas tabakası ve epitel tabakasından oluşmaktadır. Epitel tabakasının apikal yüzeyinde farklı kalınlıklarda kütikül tabakası yer almaktadır. *C. fuscus fuscus*, 6 skletorize tabanlı uzunlamasına dişi olan proventrikulusa sahiptir. Her uzunlamasına merkezi dişin apikal tarafında kısa dikenler ve bazal tarafında tüy benzeri çıkıntılar vardır. Proventrikulus yapısı, Orthoptera takımındaki diğer türlerin proventrikulusuna benzer temel bir morfolojik model sunar. Ancak diğer böcek türleri ile karşılaştırıldığı zaman uzunlamasına diş üzerinde bulunan dikenlerde bazı farklılıklar olduğunu gözlemledik. Sonuçlar, iç morfolojinin, bu analizlerde böceklerde filogeninin araştırılmasında kullanılabilecek bir karakter olduğunu doğrulamaktadır.

Histomorphological Features of Proventriculus in Nymph of *Conocephalus fuscus fuscus* (Fabricius, 1793) (Orthoptera, Tettigoniidae)

Highlights

- Morphological and structural features of proventriculus in nymph of *Conocephalus fuscus fuscus* were examined.
- Light microscope and scanning electron microscope methods were used in this study.
- Similarities and differences with the proventriculus of other insect species have been revealed.

Article Info

Received: 29.03.2021
Accepted: 06.05.2021

Keywords

Foregut,
Morphology,
Histology,
Light microscope,
Scanning electron
microscope,
Conocephalus fuscus fuscus

Abstract

The variety in the morphology of the digestive system in insects has led several researchers to use it as systematics and phylogeny character, with special emphasis on the proventriculus. In this study, the nymph of *Conocephalus fuscus fuscus* (Fabricius, 1793) (Orthoptera, Tettigoniidae) was collected from the lands on the Ankara-Çankırı road in June 2017 and 2018, and the dissected proventriculus structure was examined using light microscopy and scanning electron microscopy methods. *C. fuscus fuscus* consists of the muscle layer and epithelial layer from the outside to the inside. There is a cuticle layer of different thickness on the apical surface of the epithelial layer. *C. fuscus fuscus* has proventriculus with 6 sclerotized base longitudinal teeth. Each longitudinal central tooth has short denticles on the apical side of it and hair-like protrusions on the basal side of it. The proventriculus structure presents a basic morphology pattern similar to that of other Orthopteran species. However, we observed that some differences about the denticles founded on the longitudinal tooth when it is compared with other insect species. The results confirm that internal morphology is a character that can be used in studies of the phylogeny in insects in these analyses.



GİRİŞ

Böceklerde sindirim sistemi, ağızdan başlayıp anüsün sonuna kadar devam eden tüp şeklinde bir yapıdır. Böceklerin sindirim sistemi temel olarak ön bağırsak, orta bağırsak ve son bağırsak olmak üzere üç bölgeye ayrılır [1-12]. Farinks, özofagus, kursak ve proventrikulus kısımlarından meydana gelen ön bağırsak gıdanın yutulması, taşınması, depolanması, öğütülmesi ve ilk sindiriminden sorumludur [10]. Gastrik çekum ve ventrikulardan oluşan orta bağırsak, besinlerin sindirilmesi ve emiliminde görev yapmaktadır [7, 8, 11]. Arka bağırsak ise ileum, kolon ve rektum olmak üzere üç kısma ayrılır. Bu kısımlar suyun geri emilimi ve dışkı oluşumunu gerçekleştirirler [2, 9].

Proventrikulus ön bağırsağın son bölgesidir. Yapısındaki büyük dişlerden dolayı çiğneyici mide olarak da isimlendirilir. Gıda parçacıklarının ezilmesinden ve filtrelenmesinden sorumludur. Bu yüzden sindirim kanalının en özel bölgesidir [13-15].

Uzun kanatlı ve huni kafalı olan *Conocephalus fuscus fuscus* (Fabricius, 1793) (Orthoptera), Tettigoniidae ailesinin bir üyesidir ve Avrupa'nın çoğunda ve Asya'nın ılıman bölgelerinde yayılış göstermektedir. Son yıllarda küresel iklimde yaşanan değişiklikler, bu türün yayılmasında oldukça önemli bir etki yaratmıştır. *C. fuscus fuscus*, esas olarak otlarla beslenen fitofag bir türdür. Bitkilerin besin kalitesinde önemli bir düşüşe ve küresel ekonomide büyük kayıplara neden olmaktadır [16, 17]. Bir böceğin biyolojisinin bilinmesi, fizyolojik sürecinin daha iyi anlaşılması ve zararlı kontrol stratejilerinin geliştirilmesi için gereklidir. Böceklerde proventrikulusun histolojisi ve ince yapısı ile ilgili çalışmalar çok sınırlı olduğundan, daha önce ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde çalışılmamış nimfal *C. fuscus fuscus*'un proventrikulusunun yapısını incelemeyi amaçladık. Bu çalışmada elde edilen verilerin, böcek dokuları hakkında çeşitli deneysel, taksonomik, histolojik ve ultrastrüktürel çalışmalara katkı sağlayacağını umuyoruz.

1. MATERYAL VE YÖNTEM

C. fuscus fuscus'un nimfleri, 2017 ve 2018 yıllarının Haziran ayında Ankara-Çankırı yolu üzerindeki arazilerden toplanmış ve Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Zooloji Laboratuvarına getirilmiştir. Leica EZ4 marka stereomikroskop altında disekte edilen sindirim sisteminin genel fotoğrafı çekildikten sonra çalışmanın konusu olan proventrikulus kısımları sindirim kanalından ayrılmış ve ışık mikroskobu (IM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemeleri için ayrı ayrı hazırlanmıştır.

2.1. Histolojik Analizler

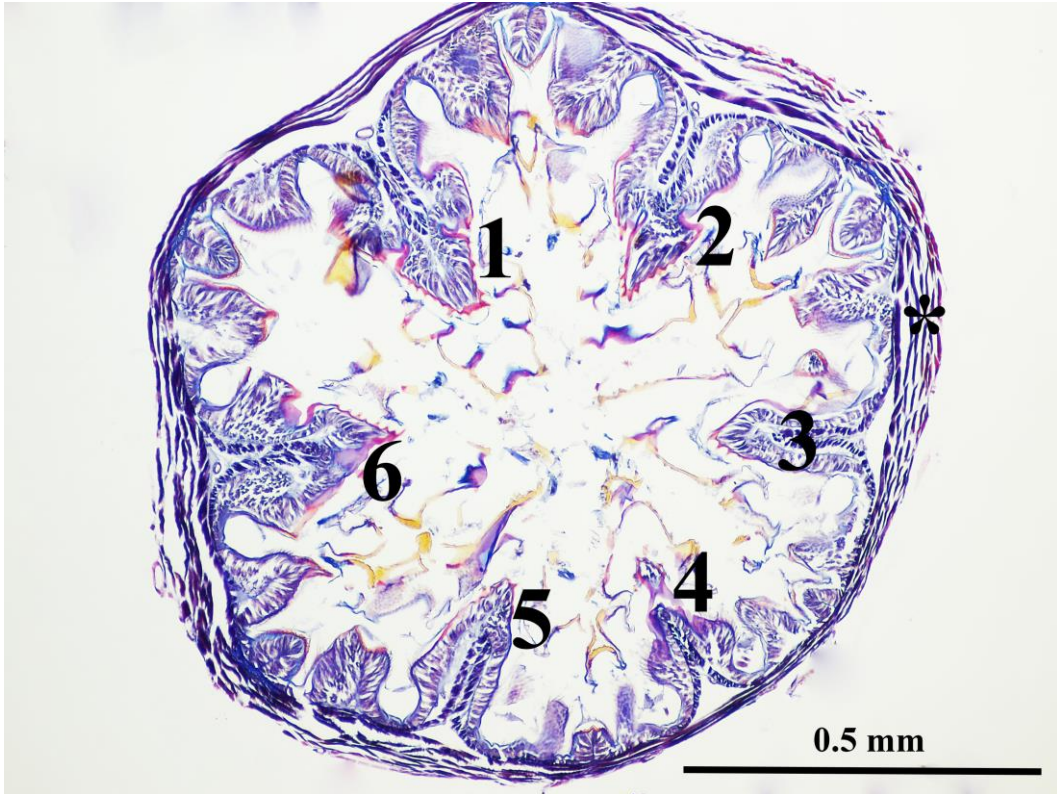
Disekte edilen proventrikulus kısımları Formaldehit solüsyonu içerisinde 24 saat tespit edilmiştir. Dokular artan alkol serilerinden (%70, %80, %90 ve %100) geçirilerek dokuların dehidrasyonu yapılmıştır. Kesilimde yıkanan örnekler parafin içerisine gömülmüştür. Parafin bloklardan alınan 6-7 mikron kalınlığında kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Mallory 3'lü boya ile boyanmıştır. Daimi preparat haline getirilen kesitler Leica ICC50 marka ışık mikroskobunda incelenmiş ve farklı büyütme oranlarında fotoğraflar çekilmiştir [18]. Işık mikroskobu çalışmaları Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Zooloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

2.2. Taramalı Elektron Mikroskobu

Proventrikulus kısımları 24 saat Gluteraldehitte tespit edildikten sonra fosfat tamponuyla yıkanmıştır. Ardından artan alkol serilerinden (%70, %80, %90 ve %100) geçirilerek dehidrasyonu gerçekleştirilmiştir. Dokular kritik noktada kurutma cihazı (Polaron CPD 7501 Critical Point Drier) kullanılarak kurutulmuş ve SEM staplarına yerleştirilen dokuların yüzeyi Polaron SC502 Sputter Coater ile altınla kaplanmıştır. Kaplanan örneklerin JEOL JSM-6060LV SEM cihazında genel fotoğrafları çekilmiş, sonrasında kırılarak farklı büyütme oranlarında fotoğrafları alınmıştır [18]. Elektron mikroskop çalışmaları Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Prof. Dr. Zekiye SULUDERE Elektron Mikroskop Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

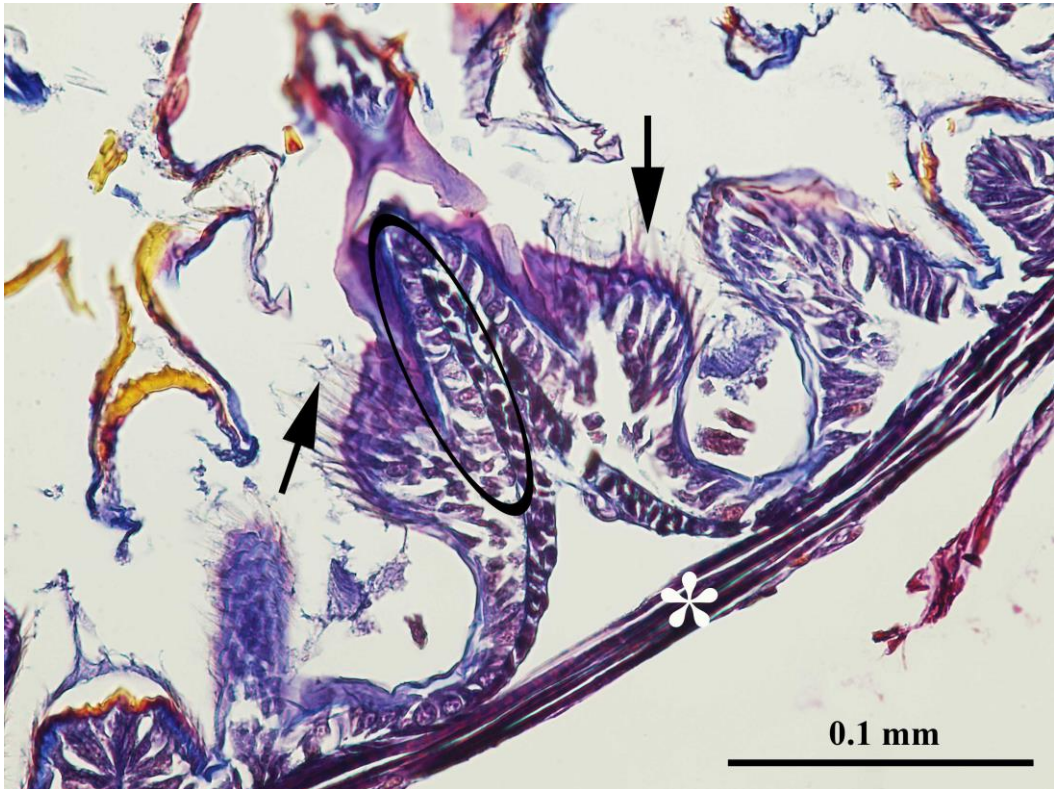
Proventrikulus ön bağırsağın son kısmında yerleşim gösteren bir organdır. Proventrikulusu dıştan çevreleyen yoğun bir bağ dokusu tabakası bulunur (Şekil 1). Bu tabakanın üzerinde kas tabakası ve trakeler de seçilir (Şekil 1-3). Enine geçen kesitlerde kas tabakasındaki hücrelerin yassı çekirdeklere sahip olduğu görülmektedir (Şekil 2). Lümeneye doğru bağ dokusunun üzerinde ince bir bazal laminaya oturmuş tek tabakalı epitel yer almaktadır. Epitel tabakasında bulunan hücreler yer yer kübik veya kısa-uzun silindirik şekillerde görülmektedir (Şekil 2, 3). Epitel tabakasının lümeneye bakan apikal yüzeyinde kalın bir kütikül tabakası yer almaktadır (Şekil 1-3). Bu tabaka yer yer kalınlaşarak proventrikulus lümenine doğru girinti yapmaktadır. Bu yaptığı girintilere bağlı olarak 6 adet sklerotize diş grubundan meydana geldiğini gözlenmiştir (Şekil 1). Her grupta ortada bir adet merkezi diş ve merkezi dişin her iki tarafında boyu daha kısa olan lateral loblar bulunmaktadır. Bu yapıların aralarında ise çok daha küçük üçgen şekilli dişçikler yer alır. Bu dişlerin tepe bölgeleri tabanlarına göre daha ince görülmektedir (Şekil 1). Merkezi dişlere ışık ve elektron mikroskobunda yüksek büyütmelerde bakıldığında iki kısımdan meydana geldiği gözlenmiştir. Bu kısımlardan biri; kısa, dallanma göstermeyen ve çok sayıda dikenlerin yer aldığı apikal bölgedir (Şekil 4, 5). Diğer kısım ise merkezi dişin bazal bölgesidir. Bu bölgede dişlerin taban kısmında daha ince, uzun ve sık dizilim gösteren çok sayıda tüy benzeri çıkıntının olduğu gözlenmiştir (Şekil 6). Taban kısmındaki bu tüy benzeri yapılar çok sayıda dallanma yapmaktadırlar (Şekil 7).



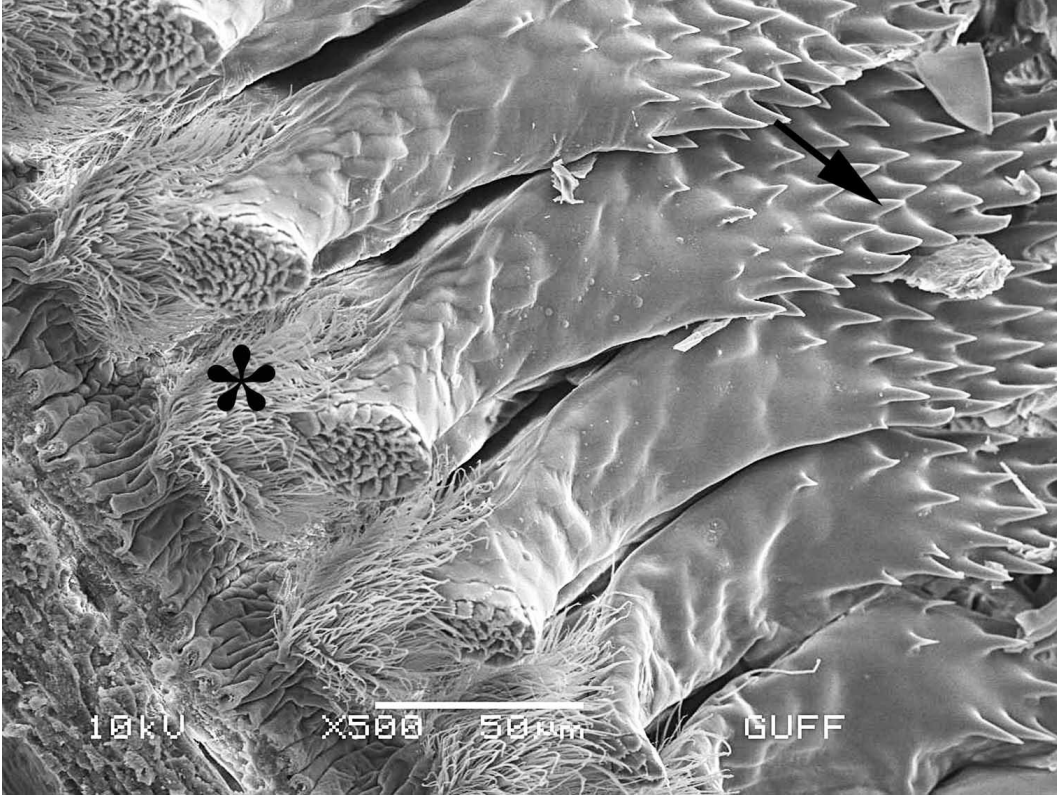
Şekil 1. Geniş sklerotize tabanlı altı dişi grubu olan proventrikulusun enine kesiti. Kas tabakası: * (IM, Mallory 3'lü boyası, X100)



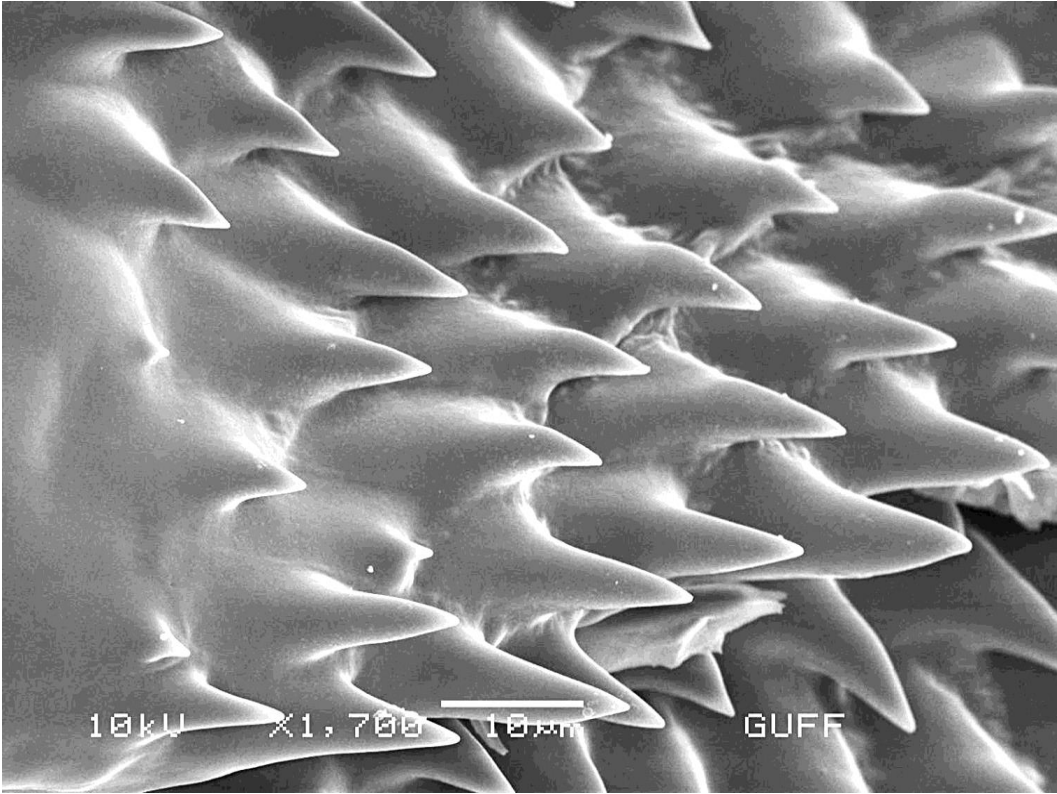
Şekil 2. Proventrikulusun enine kesitindeki geniş sklerotize tabanlı altı merkezi dişten birinin yüksek büyütmede görünümü. Kas tabakası: *, trake: →, epitel tabakasında bulunan hücrelerin çekirdekleri: O, kütikül tabakası: ▶ (IM, H&E, X400)



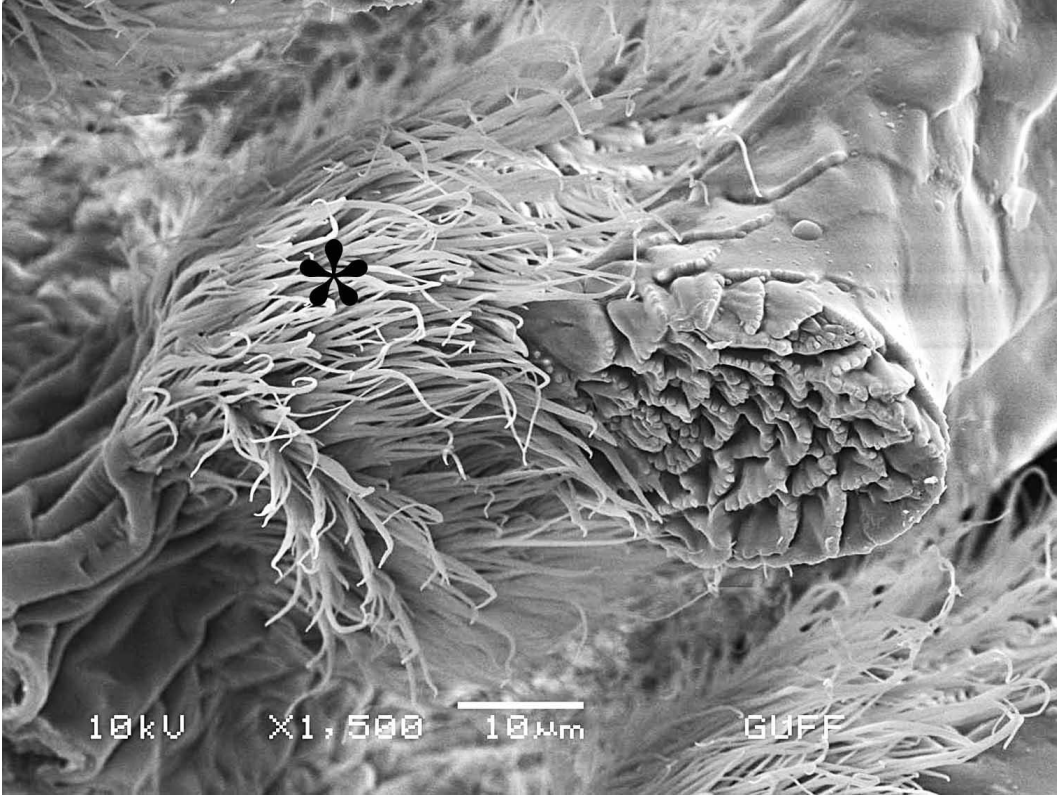
Şekil 3. Proventrikulusun enine kesitinde merkezi dişlerin tabanında bulunan tüy benzeri çıkıntılar (→). Kas tabakası: *, epitel tabakasında bulunan hücrelerin çekirdekleri: O (IM, Mallory 3'lü boyası, X400)



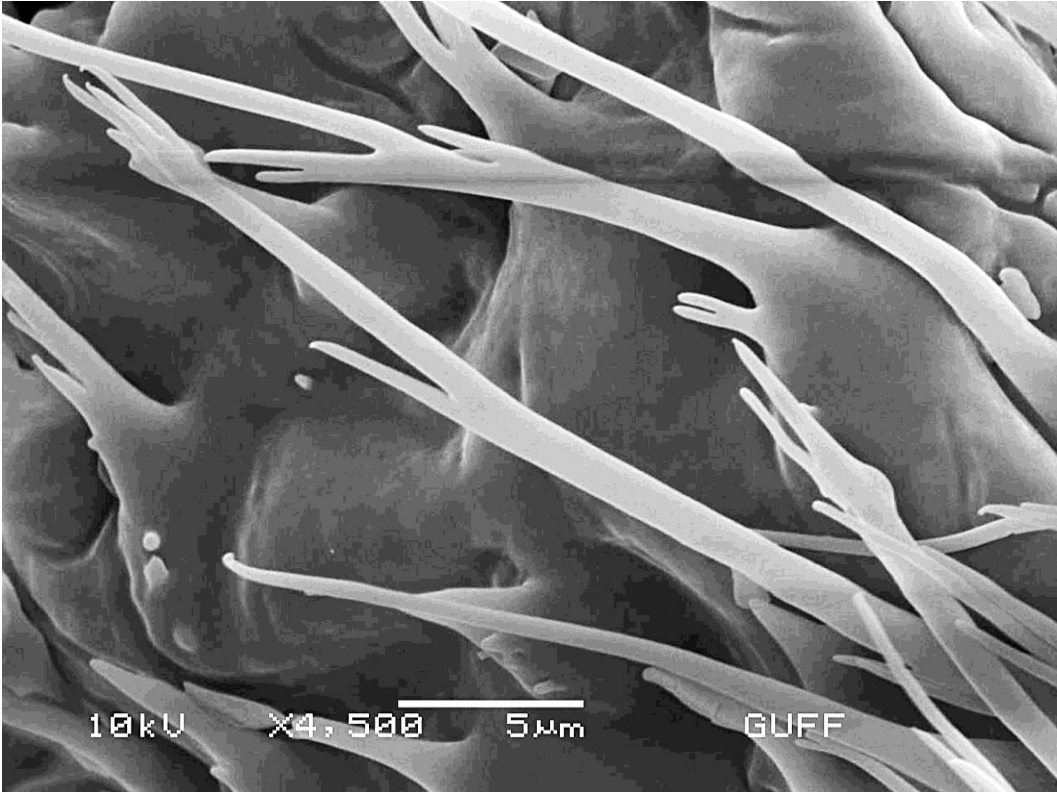
Şekil 4. Proventrikulusun kesitinde merkezi dişlerin apikalinde bulunan kısa dikenler (→) ve bazalinde bulunan tüy benzeri çıkıntılar (*) (SEM)



Şekil 5. Proventrikulusun kesitinde merkezi dişlerin apikalinde bulunan kısa dikenlerin yüksek büyütmede görünümü (SEM)



Şekil 6. Proventrikulusun kesitinde merkezi dişlerin bazalında bulunan tüy benzeri çıkıntıların (*) yüksek büyütmede görünümü (SEM)



Şekil 7. Proventrikulusun kesitinde merkezi dişlerin bazalında bulunan tüy benzeri çıkıntılarının yüksek büyütmede görünümü (SEM)

4. TARTIŞMA

Böcek türlerinde sindirim sistemi genel olarak ön bağırsak, orta bağırsak ve son bağırsaktan meydana gelmektedir. Bu bölgelerdeki morfolojik farklılık, çeşitli gruplarda sistematik ve filogenetik bir karakter olarak kullanılmaktadır [19-21].

Cırcır böceklerinin büyük çoğunluğu doğada her yerde bulunur, ancak bu, cırcır böceklerinin bulunduğu takımdaki farklı türlerin diyetlerinin tamamen aynı olduğu anlamına gelmemektedir [22]. Aynı cins içerisinde bile türlerin bazılarının predatör olduğu ve yumurta, pupa gibi savunmasız avlarla beslendikleri rapor edilmiştir [22, 23]. Bland ve Rentz (1991), ot veya bitkiyle beslenen çekirgelerin proventrikulusta bulunan diş yapılarının yırtıcı türlerle beslenen çekirgelere göre farklı olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu farklılığın da taksonomik karakter olarak kullanılmasına işaret etmektedirler [22, 24]. Benzer şekilde, çekirgelerin proventrikulus yapılarının, Gryllidae, Phalangopsidae [20], Gryllacrididae [24], Oecanthidae, Trigonidiidae, Eneopteridae, Mogoplistidae ve Gryllidae [25] familyalarında taksonomik karakter olarak kullanılması için güçlü bir araç olduğu öne sürülmüştür.

Sistematik ve taksonomik karakter olarak kullanılan ve böceklerin sindirim sisteminde bulunan sklerotize dişler, dişçikler, dikenler veya tüy benzeri çıkıntılar gibi ön bağırsağın kütiküler tabakası, böcek takımları arasında türden türe değişiklik gösterebilir [21, 26-28].

Bu çalışmada elde edilen verilerde, proventrikulusta bulunan her bir sklerotize tabanlı dişin tüy benzeri çıkıntılarının bulunduğu bazal bölge ve kısa dikenlerin yer aldığı apikal bölge olmak üzere iki bölgeye ayrıldığı görülmektedir. Bu özellik türün bulunduğu takım içerisindeki ve diğer takımlarda bulunan böcek türlerinde değişik şekillerde olabilmektedirler. Örneğin Hymenoptera takımındaki türlerle yapılan bir çalışmada proventrikuler dişlerin sadece apikal kısmında çok sayıda tüy benzeri çıkıntılarının bulunduğu rapor edilmiştir [13]. Isoptera takımındaki türlerde proventrikulus morfolojisinin diyetle doğrudan bir ilişkisi olduğu belirlenmiştir. Selülozla beslenen termitlerin, selüloz içermeyen besinlerle beslenen türlere kıyasla daha güçlü proventrikular dişlere ve güçlü sklerotize apendislere sahip bir proventrikulus yapısı gösterdiği ifade edilmiştir [29]. *Endecous* (Grylloidea, Phalangopsidae) cinsinde ise 6 sklerotize dişle beraber orta ve yan kısımlarında yer alan dişçiklerin bulunduğu belirtilmiştir [22, 29]. *Gryllus bimaculatus* (Orthoptera, Gryllidae)'un proventrikulusunda *C. fuscus fuscus*'un proventrikulusunda olduğu gibi 6 merkezi dişin bulunduğu Woodring and Lorenz (2007)'in çalışmasında ortaya konmuştur [30].

Orthoptera takımından Tettigoniidae familyasına [31] ve Grylloidea familyasına [32] ait türlerle yapılan çalışmalarda da ufak farklılıklar olmakla beraber proventrikulusun kütikular yapısı oldukça benzerlik göstermektedir. Yapılan araştırmalarda *Elimaea punctifera* (Walker, 1869), *Isopsera nigroantennata* Hsia & Liu, 1992, *Isopsera tonkinensis* Carl, 1914, *Isopsera denticulata* Ebner, 1939, *Holochlora venosa* Stal, 1873, *Parapsyra nigrovittata* Hsia & Lin, 1992, ve *Phaneroptera gracilis* Burmeister, 1838 gibi pek çok Tettigoniidae türünde proventrikulusun genellikle çıkıntı şeklinde 6 adet sklerotize yapıdan oluştuğu görülmektedir [33]. Farklı terimlerle isimlendirilseler de *Bolua turkiyae*, *Gampsocleis sedakovii*, *Metrioptera ussuriiana*, *Tettigonia caudata*, ve *Uvarovites inflatus*'ta proventrikulus 1 merkezi çıkıntı ve 2 lateral lobdan oluşan 6 adet sklerotize yapıdan meydana gelmektedir [31, 34]. Yine Tettigoniidae türleri olan *Poecilimon cervus* ve *Isophya nervosa*'da 6 adet sklerotize çıkıntı bulunmaktadır [18, 21]. *C. fuscus fuscus*'un proventrikulusunun, araştırmacıların daha önce yaptıkları çalışmalarda inceledikleri tüm bu türlerin proventrikulus yapısıyla yakın benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Böceklerin proventrikulusunda bulunan bu dişlerin düzenlenmesi, sayısı, boyutu, dikenlerin şekli sistematik ve taksonomik karakter olarak kullanılması önem taşımaktadır.

Genel olarak, ortopteroid böceklerde, proventrikulusta bulunan kütiküler çıkıntılar daha belirgin ve çeşitli şekillerde olma eğilimindedir. Bu çeşitliliğe bağlı olarak üstlendikleri görevde de farklılık olabilmektedir. *C. fuscus fuscus*'ta dahil Orthoptera takımındaki türlerin proventrikulusun iyi gelişmiş sklerotize tabanlı dişlere sahip olmasının nedeni, besinlerin öğütülmesinde ve mekanik olarak parçalanmasında rol

oyunamalarıdır [34]. Bununla birlikte, Acrididae familyasındaki türlerin proventrikulusunda bulunan dişler gıdanın orta bağırsağa geçişinin düzenlenmesi için kapak işlevine katkıda bulunacağı varsayılmıştır [27]. Diğer böcek takımlarına bakıldığında, Coleoptera takımına ait türlerde bulunan proventrikulusunun, sadece kapakçık olarak değil, aynı zamanda öğütme görevi de üstlendiği görülmüştür. Lümeneye doğru dişlerin girinti yapması, lümeni neredeyse tamamen kaplar ve bir kapak görevi yapar. Hymenoptera takımına ait türlerde ise, proventrikulus, öğütme yerine yalnızca kapakçık olarak hizmet etmektedir [28].

Bu çalışmanın sonuçları, *C. fuscus fuscus*'taki proventrikulusun histolojik ve morfolojik yapısının, bazı morfolojik farklılıklara rağmen, diğer Orthoptera türlerinin ön bağırsak yapıları ile önemli benzerliklere sahip olduğunu göstermektedir. Bu verilerin daha sonraki deneyler için temel oluşturacağı ve yapılacak taksonomik çalışmalara da katkı sağlayabilmesinin yanı sıra, böcek kontrolü için geliştirilebilecek yöntemlerin değerlendirilmesi için de büyük potansiyele sahip olması umulmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Lee, W. Y., Chen, M. E., and Lin, T. L. (1998). Morphology and ultrastructure of the alimentary canal of oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) (I): the structure of the foregut and cardia. *Zoological Studies*, 1 (37), 95-101.
- [2] Levy, S. M., Falleiros, Â. M., Moscardi, F., Gregório, E. A., and Toledo, L. A. (2004). Morphological study of the hindgut in larvae of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Entomology*, 33 (4), 427-431.
- [3] Levy, S. M., Falleiros, Â. M., Moscardi, F., Gregório, E. A., and Toledo, L. A. (2008). Ultramorphology of digestive tract of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) at final larval development. *Semina: Ciências Agrárias*, 29 (2), 313-321.
- [4] Bution, M. L., Caetano, F. H., Britto, F. B., Gomes, G. T., and Zara, F. J. (2006). Histology and histochemistry of the ventriculus of *Dolichoderus* (= *Monacis*) *bispinosus* (Olivier, 1792) (Hymenoptera: Formicidae). *Micron*, 37 (3), 249-254.
- [5] Boonsriwong, W., Sukontason, K., Olson, J. K., Vogtsberger, R. C., Chaithong, U., Kuntalue, B., Ngerklun, R., Upakut, S., and Sukontason, K. L. (2007). Fine structure of the alimentary canal of the larval blow fly *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Parasitology Research*, 100 (3), 561-574.
- [6] Rubio, G., José, D., Bustillo, P., Alex, E., Vallejo, E., Luis, F., José, R., Acuña, Z., and Pablo Benavides, M. (2008). Alimentary canal and reproductive tract of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *Neotropical Entomology*, 37 (2), 143-151.
- [7] Serrão, J. E., Ronnau, M., Neves, C. A., Campos, L. A., and Zanuncio, J. C. (2008). Ultrastructure of anterior midgut region of corbiculate bees (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101 (5), 915-921.
- [8] Fialho, M. D., Zanuncio, J. C., Neves, C. A., Ramalho, F. S., and Serrão, J. E. (2009). Ultrastructure of the digestive cells in the midgut of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) after different feeding periods on prey and plants. *Annals of the Entomological Society of America*, 102 (1), 119-127.
- [9] Santos, C. G., Neves, C. A., Zanuncio, J. C., and Serrão, J. E. (2009). Postembryonic development of rectal pads in bees (Hymenoptera, Apidae). *The Anatomical Record*, 292 (10), 1602-1611.
- [10] De Sousa, G., Scudeler, E. L., Abrahão, J., and Conte, H. (2013). Functional morphology of the crop and proventriculus of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 106 (6), 846-852.
- [11] Gonçalves, W. G., Fernandes, K. M., Barcellos, M. S., Silva, F. P., Magalhaes-Junior, M. J., Zanuncio, J. C., Martins, G. F., and Serrão, J. E. (2014). Ultrastructure and immunofluorescence of the midgut of *Bombus morio* (Hymenoptera: Apidae: Bombini). *Comptes Rendus Biologies*, 337 (6), 365-372.
- [12] Harris, M. N., Azman, S., and Nurul Wahida, O. (2019). Gross anatomy and histology of alimentary system of stick insect, *Pylaemenes mitratus* (Phasmid: Basillidae). *Serangga*, 24 (1), 151-158.
- [13] Serrão, J. E. (2001). A comparative study of the proventricular structure in corbiculate apinae (Hymenoptera, Apidae). *Micron*, 32, 379-385.
- [14] Serrão, J. E. (2005). Proventricular structure in solitary bees (Hymenoptera: Apoidea). *Organisms Diversity & Evolution*, 5, 125-133.

- [15] Serrão, J. E. (2007). Proventricular structure in the bee tribe Augochlorini (Hymenoptera: Halictidae). *Organisms Diversity & Evolution*, 7, 175-180.
- [16] Ragge, D. R. (1965). *Grasshoppers, Crickets and Cockroaches of the British Isles*. London: Frederick Warne & Co., 272-274.
- [17] Sadiq, S., Panhwar, W. A., Sultana, R., Saeed, M., Wagan, S. A., and Ahmed, S. (2017). New record of *Conocephalus (Anisoptera) fuscus* (Fabricius, 1793) (Conocephalinae: Tettigoniidae: Orthoptera) from Pakistan. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5 (3), 1431-1434.
- [18] Polat, I. (2016). *Poecilimon cervus* Karabag, 1950'un Sindirim, Boşaltım, Dişi ve Erkek Üreme Sisteminin Ultrastrüktürel Özellikleri. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-187.
- [19] Mews, C. M., Szinwelski, N., and Sperber, C. F. (2009). Comparison of proventricular structure among adults and nymphs of six cricket species (Orthoptera: Grylloidea). *Características Morfológicas Externas E Internas De Machos, Fêmeas E Ninfas Para A Identificação De Grilos*, 65-81.
- [20] Fontanetti, C. S. and Zefa, E. (2000). Morphological characterization of the proventriculus of *Gryllus assimilis* Fabricius (Orthoptera, Gryllidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 17 (1), 193-198.
- [21] Amutkan Mutlu, D. and Suludere, Z. (2020). Ultrastructure of the proventriculus in adult *Isophya nervosa* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Munis Entomology and Zoology*, 15 (2), 647-654.
- [22] Fontanetti, C. S., Zefa, E., Passetti, F., and Mesa, A. (2002). Morphological characterization and comparative analysis of the proventriculus from three species of *Endecous* Saussure, 1878 (Orthoptera: Gryllidae: Phalangopsinae). *Entomotropica*, 17 (1), 15-23.
- [23] Walker, Tj. and Masaki S. (1989). Natural History. *Cricket Behavior and Neurobiology*. London: Cornell University Press. 1-42.
- [24] Bland, T. G. and Rentz, D. C. F. (1991). Studies in Australian Gryllacrididae: the proventriculus as a taxonomic character. *Invertebrate Taxonomy*, 5, 443-455.
- [25] Judd W. W. (1948). A comparative study of the proventriculus of orthopteroid insects with reference to its use in taxonomy. *Canadian Journal Research*, 26, 93-161.
- [26] Muralirangan, M. C. and Ananthakrishnan, T. N. (1974). Taxonomic significance of the foregut armature in some Indian Acridoidea (Orthoptera). *Oriental Insects*, 8 (2), 119-145.
- [27] Bentos-Pereira, A. and Lorier, E. (1995). Taxonomic value of the cuticular structures of the stomodeum in Acridomorpha (Orthoptera). *Journal of Orthoptera Research*, 4, 185-195.
- [28] Kerkut, G. A. (2013). Structure of the Digestive Ssystem. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology. Regulation: Digestion, Nutrition, Excretion*. Oxford: Pergamon Press, 165-212.
- [29] Szinwelski, N., Rodrigues, M. S., Pereira, M. R., Serrão, J. E., and Sperber, C. F. (2009). Proventriculus of three nemobiinae crickets (Orthoptera: Grylloidea: Trigonidiidae). *Journal of Orthoptera Research*, 18 (1), 59-63.
- [30] Woodring, J. and Lorenz, M. W. (2007). Feeding, nutrient flow, and functional gut morphology in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Journal of Morphology*, 268, 815-825.
- [31] Wang, Y., Su, Y., Zhang, X., Li, N., and Ren, B. A. (2012). A comparative study of the proventriculus structure in twenty Chinese Tettigoniidae (Orthoptera) species. *Entomologica Fennica*, 23, 140-148.
- [32] Li, X., Ren, B., Zou, Y., Zhang, J., and Wang, Y. (2011). The study of proventricular micromorphological charazterization of ten Grylloidea species (Orthoptera: Grylloidea) from China. *Zootaxa*, 2906, 52-60.
- [33] Li, Z. and Zheng, Z. (2007). Studies on the internal structure of the foregut of Phaneropterinae (Orthoptera: Tettigoniidae). *Oriental Insects*, 41, 327-337.
- [34] Polat, I. (2021). Morphological and ultrastructural characterization and cuticular armature of the proventriculus in *Bolua turkiyae* Ünal, 1999 (Orthoptera: Tettigoniidae). *Microscopy Research and Technique*. <https://doi.org/10.1002/jemt.23734> (baskıda).

Tütüne Özgü Kanserojen Nitrozaminlerin Biyolojik Örneklerde Tayini için Kullanılan Analitik Yöntemlerin İncelenmesi

Sinem Çolak* 

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Çaycuma Gıda ve Tarım MYO, 67900, Zonguldak, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Tütüne özgü nitrozaminlerin (TSNA) tümör ve kanser gelişimindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır.
- Farklı biyolojik örneklerde TSNA analizi ile farklı organlardaki metabolik aktivasyonları konusunda önemli bilgiler elde edilebilir.
- Eser düzeyde analizine imkan veren metotlar, tütün kaynaklı kanser türlerindeki araştırmalara destek olur

Makale Bilgileri

Geliş: 11.04.2021
Kabul: 09.05.2021

Anahtar Kelimeler

TSNA,
Biyolojik örnek,
LC-MS

Özet

Tütüne özgü nitrozaminler (TSNA) nikotinin kimyasal reaksiyonları sonucu oluşmaktadır ve çoğu kanserojendir. Biyolojik örneklerde bu nitrozamin miktarlarının takibi, hastalık ve kanser riski için önemli bilgiler sağlayabilir. Ancak, TSNA'ların biyolojik örneklerdeki konsantrasyonlarının düşük olması ve örneklerde matris etkisinin fazlalığı hassas ekstraksiyon ve analiz yöntemleri gerektirmektedir. Bu çalışma, şu anda mevcut olan yöntem ve kullanılan cihazlara genel bir bakış açısı sunmaktadır. Ayrıca, farklı biyolojik matrislerde TSNA ölçen çeşitli çalışmalar için analitik prosedürlerin kapsamlı bir özeti sağlamaktadır. Her yöntemin avantaj ve dezavantajlarının yanı sıra biyolojik örneklerdeki analitik zorluklar da çalışmada vurgulanmış ve bunların giderilmesi için benimsenen yaklaşımlar tartışılmıştır. Geleneksel yöntemlerin yanında yeni geliştirilen nanomalzemeler ve biyosensörler de çalışmada sunulmuştur.

Investigation of Analytical Methods Used for the Determination of Tobacco-Specific Cancerogen Nitrosamines in Biological Samples

Highlights

- In tumor and cancer development, the role of tobacco-specific nitrosamines (TSNA) is not fully understood.
- By TSNA analysis in different biological samples, can be obtained important information about metabolic activation in different organs.
- Methods that allow for trace-level analysis support research in tobacco source cancer types.

Article Info

Received: 11.04.2021
Accepted: 09.05.2021

Keywords

TSNA,
Biological sample,
LC-MS

Abstract

Tobacco specific nitrosamines (TSNA) are formed by chemical reactions of nicotine and most of them are carcinogenic. It has been demonstrated that the monitoring of these nitrosamine amounts in different types of biological samples can provide important information about disease and cancer risk. However, the low concentrations of TSNA in biological samples and the excess matrix effect in the samples, require sensitive extraction and analysis methods. This study has been provide an overview of the currently available methods and devices. The review also provides a comprehensive summary of analytical procedures of various studies measuring TSNA in different biological matrices. In addition to the advantages and disadvantages of each method, analytical difficulties in biological samples were also highlighted in this study and were discussed the approaches adopted to overcome them. In addition to traditional methods, newly developed nanomaterials and biosensors are also presented in this study.



1. GİRİŞ

Nikotinin kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşturduğu tütüne özgü nitrozaminlerin (TSNA) çoğu kanserojenik olup, yapılan epidemiyolojik çalışmalar ile tümör oluşumunu başlattığı bilinmektedir. Tütüne özgü nitrozaminler sınıfında yer alan bileşikler *Çizelge 1*'de verilmiştir [1]. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansına (IARC) göre NNK ve NNN Grup 1'de (kanserojenik) yer almaktadır [2].

Çizelge 1. TSNA sınıfında yer alan bileşikler

Bileşiğin İsmi	
Nitrozonornikotin	NNN
4-(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon	NNK
Nitrozoanabasin	NAB
Nitrozoanatabin	NAT
4-(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-bütanol	NNAL
4-(metilnitrozoamino)-4-(3-piridil)-1-bütanol	izo-NNAL
4-(metilnitrosamino)-4-(3-piridil) bütanoik asit	izo-NNAC
4-(N-metil-N-nitrozamin)-4-(3-piridil) bütanal	NNA

Kimyasal ve biyolojik ajanların canlılarda oksidatif stres ve hücre hasarına neden olduğu bildirilmiştir [3]. NNN ve NNK özellikle akciğer hastalıklarına, inflamasyona, oksidatif strese, tümör oluşumuna ve farklı kanser türlerine neden olmaktadır [4-6]. Nitrozaminler kanserojen etkilerini, DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) bazlarını alkilleyerek ve DNA'nın yapısını değiştiren eklentiler oluşturarak göstermektedirler [7]. Ancak Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), insanlar ile yapılan kanser çalışmalarından elde edilen yetersiz kanıtlar nedeniyle NNK ve NNN'nin belirli organlardaki etkisini net olarak ifade edememektedir [8]. Bu yüzden bu nitrozaminlerin biyolojik örneklerdeki miktar tayinleri son derece önemlidir. Örneğin, TSNA'ların, patofizyolojik etkileri ve aşırı mukus salgılanması ile ilişkisini konu alan bir çalışmada insan solunum yolu epitel hücrelerinde TSNA'ların sitotoksitesi değerlendirilmiştir. TSNA'ların mukus salgısı üzerindeki etkisini ve moleküler mekanizmasını araştıran bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile NAT, NNN, NNAL ve NNK' nin, enflamatuar hava yolu hastalıklarında aşırı mukus salgılanmasına neden olan sorumlu molekülleri indüklediği ileri sürülmüştür [9].

Tütün kaynaklı kanserojen nitrozaminlere, aynı ortamda bulunarak (pasif içicilik) maruziyet de benzer etkilere yol açmaktadır. Bu yüzden, IARC pasif içiciliği (second hand smoke) yani sekonder kaynaklı dumanı Grup1'de sınıflandırmıştır. Nikotin bırakmak için kullanılan ürünler de bu nitrozaminlere maruziyete sebep olmaktadır. Örneğin, sigara bırakmak için önerilen ürünleri kullanan deneklerin idrar örneklerinde NNN tespit edilmiştir [10].

İdrar ve kan gibi yaygın olarak kullanılan biyolojik örneklerdeki TSNA'ların analiz yöntemleri, analitik zorluklara sahip olduğu için (seyreltme veya eser miktarda bulunma gibi) daha az tercih edilen biyolojik örnekler için modifiye edilerek organ ve dokularda spesifik çalışmalar yapılabilir. Örneğin akciğerlerden elde edilen bronkoalveolar lavaj sıvısı veya doku örneklerinde akciğer kanseri için risk faktörü olan tütüne özgü nitrozaminlerin farmakolojisi ve toksikolojisinde yer alan genlerdeki varyasyonlar araştırılabilir.

Tütüne özgü nitrozaminler ile oksidatif strese ait biyobelirteçlerin ilişkisi, özellikle sigara ve tütün ürünleri maruziyeti ile oluşan oksidatif stres hakkında önemli bilgiler sunabilir. Örneğin, NNK ve NNN aracılı membran hasarı ile reaktif oksijen türleri arasındaki ilişki, TSNA'ların lipid metabolizması üzerindeki etkisinin anlaşılmasına yardımcı olabilir. Proteinlerde oksidatif hasar belirteci olan 3-nitrotirozin ve reaktif oksijen türleri ile ilişkileri inflamasyon ve tümör oluşumu mekanizmalarını da aydınlatılabilir. Farklı biyolojik örneklerden elde edilen TSNA sınıfında yer alan nitrozaminlerin

miktarları ile matematiksel modeller geliştirilerek hastalık tanıları sınıflandırılabilir ve biyobelirteç olma potansiyelleri araştırılabilir.

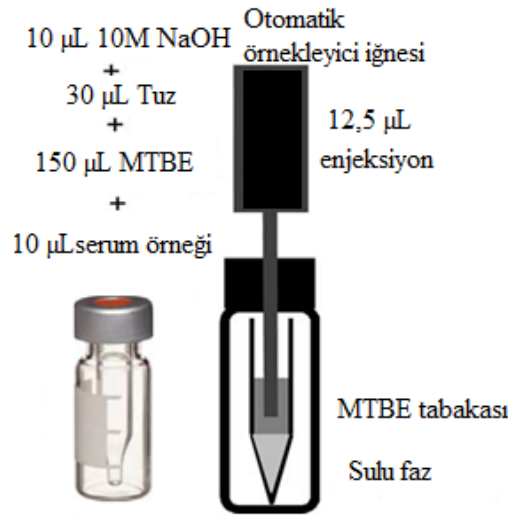
2. BİYOLOJİK ÖRNEKLERDE TSNA'LARIN EKTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

Biyolojik örneklerde matriks etkisi fazla olduğundan, yüksek polarite ve düşük molekül ağırlığına sahip TSNA'ların kalitatif ve kantitatif tayini için en önemli işlem basamağı ekstraksiyondur. Literatürde farklı biyolojik örnekler için farklı protokollerin uygulandığı görülmüştür. Örneğin, serum örnekleri için genellikle organik çözücüler ile tuz ve protein çöktürme, buharlaştırma, sıvı-sıvı ekstraksiyon (LLE) ve katı faz ekstraksiyon (SPE) kullanılmıştır [11-14].

2.1. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon (LLE)

Karmaşık örneklerde eser seviyede TSNA'ların ekstraksiyonu ve zenginleştirilmesi için geleneksel olarak organik çözücü ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) günümüzde hala uygulanmaktadır. LLE'de çözücü olarak sıklıkla diklormetan (DCM) tek başına veya 2-propanol ile karışım şeklinde kullanılmaktadır [15-17]. LLE'nin en büyük avantajı düşük maliyetli olmasıdır. Dezavantajları ise; LLE için gerekli organik çözücülerin toksik olması, örnek ve çözücünün fazla miktarda kullanılması, santrifüj ihtiyacı, fazla iş gücü gerektirmesi ve ekstraksiyon süresinin uzunluğudur. Ayrıca çözücü çeşidinin az ve biyolojik örneklerde TSNA kaybının fazla olması da diğer dezavantajlarından [11].

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada LLE'nin bu dezavantajlarının giderildiği ve serum gibi karışık matriks içeren örneklere uygulandığı bildirilmiştir [18]. Çalışmada 350 µL'lik bir insert vial'e 40 µL NaCl-NaOH karışımı ardından eVol elektronik analitik şırınga kullanılarak 150 µL metil tert-butil eter (MTBE)-iç standart çözeltisi ve 10 µL serum eklenmiştir. Flakon daha sonra hızlıca kapatılarak güçlü bir şekilde çalkalanmış ve vorteks ile karıştırıldıktan sonra üstte kalan organik fazdan 12,5 µL otomatik örnekleyiciye yerleştirilmiştir. Örnek hazırlama prosedürüne ait şema *Şekil 1*'de gösterilmiştir [18].



Şekil 1. Örnek hazırlama şeması [18]

Çalışmada ayrıca TSNA'ların sıvı sıvı ekstraksiyonu için sıklıkla kullanılan DCM ve MTBE ile etil asetatın ekstraksiyon verimleri de test edilmiştir. MTBE'nin, analitleri ekstrakte etmedeki veriminin daha yüksek olduğu ve matriks girişimlerini en aza indirdiği kanıtlanmıştır. Yöntem geliştirme sırasında test edilen organik çözücüler hidrofilik etkileşim sıvı kromatografisi (HILIC) ile uyumlu olduğundan ekstraktın kromatografik sistem üzerine doğrudan enjeksiyonu sağlanmıştır. Ekstraksiyon verimliliği, sulu faza eklenen NaOH ve NaCl'nin birleşik etkisiyle daha da artırılmış ve eş zamanlı olarak analit tuzlarının daha fazla çözünen organik serbest bazlara dönüştürülmesi sağlanmıştır. Tüm numune

bişenleri (serum, tuzlu su-NaOH ve MTBE-IS) ekstraksiyon işlemi sırasında ince bir emülsiyon oluşursa da sulu ve organik tabakalar çalkalama ve karıştırmanın durmasından 1 dakika sonra faz ayrımı olmuş ve böylece örnekleyciye yerleştirmeden önce santrifüje gerek kalmamıştır. Ekstraksiyon işleminde az miktarda kullanılan MTBE'nin uğmasını engellemek için de bazı çalışmalar yapılmıştır. Otomatik örnekleyci flakon kapağının dikkatlice sıklılmasıyla oda sıcaklığında ve otomatik örnekleycide saklanan numune karışımını (serum, tuzlu su-NaOH, MTBE) içeren üç şişenin ağırlığı karışılaştırılmış ve 24 saatlik bir süre içinde organik çözücü kaybı gözlenmemiştir (maksimum gözlenen kayıp yaklaşık %0,2). Bununla birlikte, enjeksiyon işleminde delindikten sonra, flakon septanın buharlaşma kayıplarına izin vermeye daha yatkın olduğu fark edilmiş ve otomatik örnekleycide sıcaklık 10 °C'de sabitlenmiştir. Bu şekilde alınan önlemler ile çözücünün buharlaşması kaynaklı analit konsantrasyonunda meydana gelebilecek değişikliklerin de önüne geğilmiştir [18].

2.2. Desteklenmiş Sıvı Ekstraksiyon (SLE)

Biotage tarafından bildirilen uygulama notunda, idrar, serum, plazma ve kan numunelerinde nikotin ve metabolitlerinin ekstraksiyonu için desteklenmiş sıvı ekstraksiyon (SLE) kullanılmıştır. Plakadan DCM: izopropanol (95:5, v/v, 1 mL) ayrıştırılan elüent HCl ile asitlendirilmiştir. Bunun sebebi de buharlaştırma işleminde nikotin kaybını azaltmak olarak bildirilmiş [19]. Ancak serum ile yapılan farklı bir LLE çalışmasında asitlendirme işlemi istenilen verimi sağlamadığı için kullanılmamıştır [18].

2.3. Katı Faz Ekstraksiyon (SPE)

LLE işlemin fazla işgücü ve zaman gerektirmesi gibi sorunlar SPE' nin daha yaygın kullanılmasına sebep olmuştur. Son zamanlarda sorbent seğiminin esnekliği ve düşük organik çözücü tüketimi nedeniyle SPE, LLE 'ye mükemmel bir alternatif olmuştur. TSNA'ların ekstraksiyonu için kullanılan SPE yönteminde ters faz veya iyon değiştirici inorganik silika bazlı ve organik polimer bazlı malzemeler sorbent olarak kullanılmıştır [15,20].

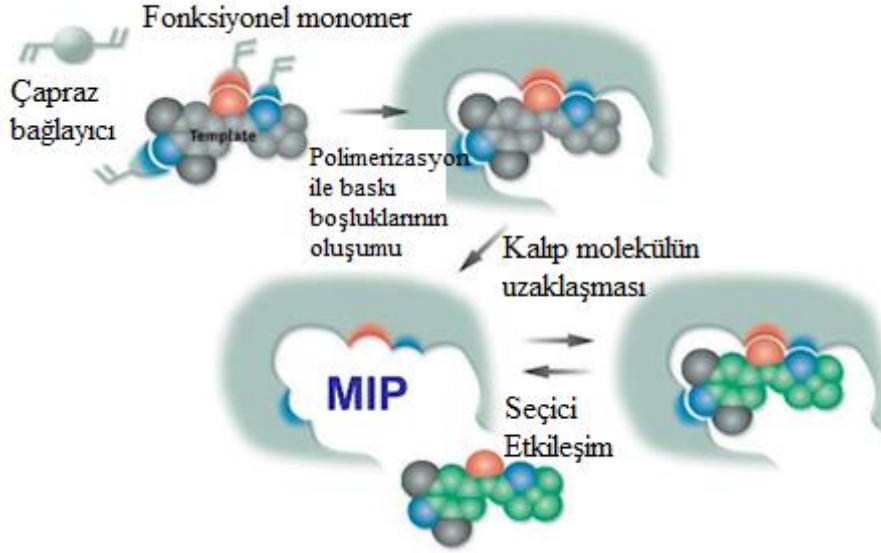
İdrar örnekleri ile yapılan bir çalışmada örnekler online katı faz ekstraksiyon (SPE) ile direk analiz edilmiş ve analiz süresi 19 dakika olarak rapor edilmiştir [21]. Ayrıca sıçan idrarı örneği ile yapılan bir çalışmada kullanılan SPE yöntemi, basit ve kısa süren işlem prosedürü, yüksek verim ve aynı anda çok sayıda örneğe uygulanabilir olması ile diğer mevcut yöntemlere göre avantajlar sunmuştur [22].

Plazma gibi biyolojik örneklerde maktrijs etkisi çok olduğundan SPE ile TSNA ekstraksiyonunda istenilmeyen maddelerin analite karışmaması için sorbent seğimi çok önemlidir. Yapılan bir çalışmada tetraazacalix [2] aren [2] triazinle modifiye edilmiş silika jel (NCS) bazlı yeni bir sabit faz sentezlenmiştir. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitrobenzen, organik bazlar, fenoller ve inorganik anyonlar gibi bileşiklerin, NCS sabit fazında iyi ayrıldığı bildirilmiştir [12]. NNK, NNN, NAT, NAB ve NNAL gibi moleküller için hidrofobik, hidrojen bağı ve π - π gibi etkileşimlerin, NCS üzerindeki triazin halkaları ile piridil ve N-nitrozo grupları arasında olduğu tahmin edilmektedir. Bu yüzden, NCS SPE sorbentinin, dört TSNA ve NNAL'ın aynı anda ekstraksiyonu için yüksek bir seçicilik ve yüksek bir zenginleştirme gösterebileceği düşünölmüştür. Optimum koşullarda NCS sorbenti kullanılarak yapılan SPE sonrası analizler LC/MS/MS ile yapılmış ve yöntem valide edilmiştir. Çalışmada ayrıca C18 de sorbent olarak kullanılmış ve geri kazanım değerleri NCS sorbent ile karışılaştırılmıştır. 20 pg/mL konsantrasyonlarındaki NNK, NNN, NAT, NAB ve NNAL için her iki sorbentteki geri kazanım yüzdeleri sırasıyla (NCS sorbent; C18 sorbent); (93.2;82.1), (95.2;80.6), (91.4; 78.3), (101.6;84) ve (93.3; 79.7) olarak bildirilmiştir. Elüent olarak sadece metanolün kullanıldığı yöntemde, TSNA'ların kararlılığı sağlanmış ve pH değişiminin etkisi önlenmiştir. Çalışmada ayrıca plazma matriksi için mevcut SPE yöntemlerinden çok daha düşük LOD değerleri sunulmuştur [11].

2.4. Katı faz ekstraksiyon-Moleküler Baskılı Polimer (SPE-MIP)

SPE'de yaygın şekilde kullanılan hidrofobik, iyonik ve polar sorbentler yeterince yüksek seçicilik sağlayamaz ise, örnek hazırlama işlem süresinin uzaması ve düşük verim gibi olumsuzluklar ortaya çıkabilir. Son zamanlarda sorbent olarak kullanımı yaygınlaşan moleküler baskılı polimerler (MIP),

hedef analite yüksek seçicilikle bağlamak üzere tasarlanmıştır ve fazla miktarda çapraz bağlı polimerler içerir. Moleküler baskılama tekniğinde, baskılanan moleküller aracılığıyla spesifik tanıma bölgeleri oluşturulmaktadır [23]. Moleküler baskılama tekniği şema olarak Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Moleküler baskılı polimer [23]

Sorbent malzemesi olarak kullanılan MIP'in avantajları aşağıda verilmiştir;

- Dış etkilere karşı fiziksel ve kimyasal kararlılığı oldukça yüksek polimerlerdir,
- Mekanik kuvvete dayanıklıdır.
- Yüksek sıcaklık ve basınca dayanıklıdır.
- Asit, baz, metal iyonları ve organik çözücülere karşı dayanıklıdır
- Saklama ömrü uzundur.
- Polimerlerin performansında hiçbir azalma olmaksızın oda sıcaklığında birkaç yıl saklanabilir.

MIP'ler, biyolojik örneklerde TSNA analizinde gereken tespit sınırlarını elde etmek için idrar örneklerinde yaygın olarak kullanılmıştır [24]. Sigara içenlerin ve içmeyenlerin idrarındaki toplam (serbest ve konjuge) NNAL, NNN, NAT ve NAB'ın belirlenmesi için idrar örnekleri önce β -glukuronidaz ile işleme tabi tutulmuştur. İki SPE adımının ardından (önce MIP-SPE, ardından katyon değişimli-SPE) analizleri LC/MS/MS ile gerçekleştirilmiştir [25]. İnsan saçı ile yapılan farklı bir çalışmada örnekler, C18-SPE ve MIP-SPE ile ekstrakte edilmiş ve ters fazlı ultrason destekli dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon (USA-DLLME) ile de zenginleştirilmiştir [26].

2.5. Manyetik Katı Faz Ekstraksiyon (MSPE)

Geleneksel SPE prosedüründe, difüzyon hızının yavaş olması ekstraksiyon süresini uzattığından yapılan bir çalışmada yeni bir metot geliştirilmiştir. Manyetik katı faz ekstraksiyonu (MSPE) yeni bir SPE yöntemi olup sorbent olarak manyetik veya mıknatıslanabilir bir malzeme kullanılmaktadır. Literatürde MSPE'nin, numune hazırlama uygulamasında ekstraksiyon süresinin kısa ve işlemin kolay olması gibi avantajlara sahip olduğu bildirilmiştir [27]. Ayrıca MSPE'de kullanılan farklı malzemelerden yapılmış sorbentler, yüksek ekstraksiyon verimliliği de sağlamaktadır. Örneğin nikotinin ekstraksiyonu için yapılan bir çalışmada grafen bazlı sorbent kullanılmıştır [28].

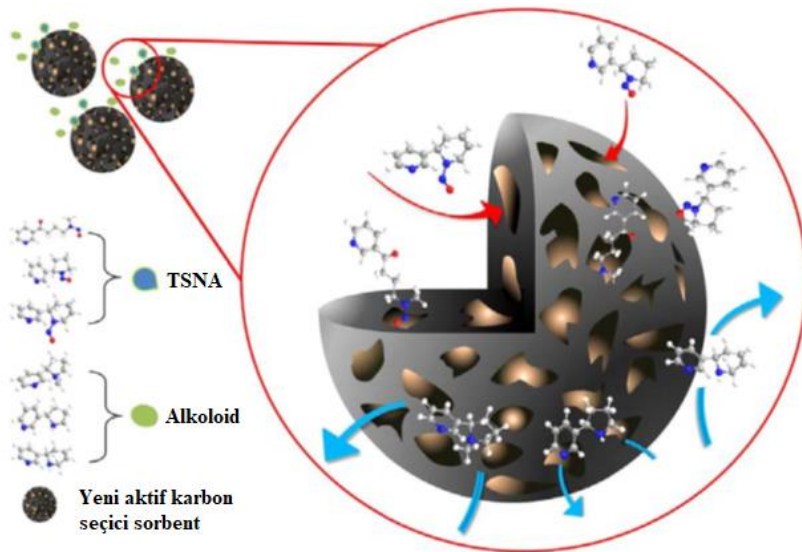
Manyetik katı faz ekstraksiyon çalışmaları, grafen bazlı malzemelerin TSNA'lar için yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir [29,30]. TSNA ekstraksiyonu için MSPE kullanılarak yapılan

bir başka çalışmada sorbent olarak manyetik grafen kompoziti kullanılmıştır. Optimize edilmiş koşullar altında MSPE tekniği, LC/MS/MS ile birleştirilerek TSNA tayini için hızlı ve hassas bir yöntem olmuştur. Önerilen yöntem TSNA analizi için biyolojik örnekler için denenmemiş ancak sigara örneklerine başarıyla uygulanmıştır [31].

2.6. Nanomateryal Kullanımı

Tütün kaynaklı kanserojen nitrozaminlerin analizinde son zamanlarda nanomalzemelerin kullanıldığı yöntemler geliştirilmektedir. Yaygın olarak kullanılan nanomateryaller; nanopartiküller, Framework ve monolittir. Nanopartiküller 1 ile 100 nanometre (nm) arasında büyüklükte partiküllerdir. Kanserijen analizi için kullanılan nanopartikül, aktif karbon sorbenttir. Alkaloid konsantrasyonu TSNA'dan bin kat daha yüksek olmasına rağmen, benzer moleküler yapıya sahip oldukları için TSNA ve alkaloidi (nikotin, nornikotin vb.) ayırt etmek çoğu zaman güç olabilmektedir [32]. Bu yüzden karmaşık çözelti içinde eser miktardaki TSNA'yı ayırt edici bir şekilde yakalamak için TSNA'nın moleküler yapısı ile nanopartiküllerin gözenek boyutu arasındaki uygunluk göz önünde bulundurulmuş ve adsorpsiyon tercih edilmiştir. Bu amaçla kullanılması düşünülen sorbentin, tercihen NNK'yı TSNA bileşenleri arasından yakalaması beklenir çünkü NNK en güçlü kanserojenliğe sahiptir. Bunun içinde yeni seçici sıvı adsorbanın gerekli olduğu düşünülmüştür [33].

Zeolitler ve mezogözenekli silika, klasik seçici adsorbanlar olup, gaz akışındaki uçucu nitrozaminleri (VNA) seçici olarak emebilirler. Bununla birlikte, TSNA'nın sıvı çözelti içinde sıvı adsorpsiyonu, VNA'nın gaz halinde adsorpsiyonundan tamamen farklıdır. İlk olarak, çözücü olarak kullanılan suyun adsorpsiyonu, NaY gibi birçok hidrofilik zeolitleri deaktive eder, bu nedenle TSNA'nın sıvı adsorpsiyonunda sadece ZSM-5 gibi bazı hidrofobik zeolitler kullanılabilir. İkinci olarak, TSNA molekülü, VNA ile karşılaştırıldığında çok daha yüksek molekül ağırlığına sahiptir [27]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada aktif karbona ilk kez zeolitinkine benzer seçici bir adsorpsiyon kabiliyeti verilmiştir. Hindistan cevizi kabuğundan yapılan aktif karbonda en uygun mikro ortamı oluşturmak için sorbent ferrik asetat ile doyurularak dikkatlice modifiye edilmiştir (Şekil 3). Sonuç olarak, yeni aktif karbon sorbent, nikotin ekstratı çözeltisinde bulunan TSNA'ların 1796 ng mL⁻¹ konsantrasyonla %60'ını yakalamış ve bugüne kadarki en yüksek kapasiteyi (222 µg g⁻¹) sergilemiştir. Ayrıca, NNK'nın % 98,5'ini yakalamak için sıvı adsorpsiyonunda zeolit benzeri bir seçicilik göstermiştir. Ayrıca, yeni aktif karbon sorbent tarafından TSNA'ların çözelti içinde bulunan alkaloidlerden ayırt edilerek adsorpsiyonu keşfedilmiş ve bu da yeni seçici sorbentlerin geliştirilmesi için değerli bir ipucu sağlamıştır [33]. Zeolit bu yeni özelliklerinin anlaşılması yeni ve çok yönlü malzemelerin tasarımı ve geliştirilmesi için önemli bir adım olmuştur.



Şekil 3. Ferrik oksit modifikasyonu ile TSNA adsorpsiyonu [33]

Yapılan çalışmada, TSNA'ya uyan nanopartikülün seçiciliği ne kadar yüksek ise, ekstraksiyon yüzdesinin de o kadar arttığı ve örnekte daha az TSNA kaldığı görülmüştür [33]. Ayrıca farklı bir çalışmada demir oksit eklenmesiyle, karbon sorbentin gözenek boyutunun değiştirilebileceği ve hedef analit için daha uygun hale gelebileceği, böylece TSNA ekstraksiyonunun veriminin de artabileceği bildirilmiştir [32]. Mezogözenekli silikanın yüksek kapasitesinin ve mikro gözenekli zeolitinin birleştirilerek yeni bir işlevsel malzeme kullanılan bir çalışma da yapılmıştır. Kullanılan mezogözenekli silika SBA-15 ile %58 oranında NNK seçiciliği sağlanmıştır [28].

Termodinamik çalışmalar, NNK'nın grafen aerogel üzerine adsorpsiyon sürecinin kendiliğinden ve ekzotermik olduğunu göstermiştir. NNK'nın sulu çözeltiden çıkarılması için grafen aerogeli adsorpsiyonunun kullanıldığı bir çalışmada adsorpsiyon için en elverişli koşullar yüksek pH ve düşük sıcaklık olarak bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca NNK'nın grafen aerogeli üzerindeki adsorpsiyon mekanizmasının π - π dağılım etkileşimi yoluyla olduğu ve adsorpsiyon verimliliğinin -NO₂ fonksiyonel gruplarının varlığı ile arttığı sonucuna varılmıştır. NNK molekülünde bulunan piridin halkası, π - π dağılım etkileşimini kolaylaştırmaktadır. Çalışmada grafen aerogelin NNK emme kapasitesi için geri dönüşüm performansı da değerlendirilmiş ve altı döngü deneyi yapılmıştır. Aynı deneysel koşullar altında, grafen aerogelinin adsorpsiyon kapasitesinde belirgin bir azalma olmamıştır. Elüent olarak metanol sulu çözeltisinin kullanıldığı 6 döngüden sonra bile, NNK adsorpsiyon kapasitesinin %90'ından fazlası korunarak etkili bir adsorpsiyon performansı elde edilmiştir [34].

Gelecekteki çalışmalar için, nanomalzemeler, bütün kanserojenlerini analiz etmede büyük potansiyeller gösterdi, çünkü bunlar, karmaşık problemleri çözmede ve kimyasal analiz ve algılama kabiliyetini genişletmede daha fazla işlev ve etki için potansiyel olarak daha da geliştirilebilecek yeni alanlar oldular. Nanomalzemelerin özel özelliklerinden dolayı performanslarının kesinliği sağlanır. Hedeflenen ve hedeflenmeyen metabolomik çalışmasının kombinasyonuyla birlikte, ekipman ve kimyasal analiz yöntemindeki gelişmeler yeni keşifler bekliyor.

3. BİYOLOJİK ÖRNEKLERDE TSNA'LARIN ANALİZ YÖNTEMLERİ

3.1. Sıvı Kromatografisi ile Analiz

Sıvı kromatografisi (LC), genellikle polar ve kaynama noktası yüksek olan bileşikler için güçlü bir teknik olarak kabul edilmekte ve nitrozaminlerin analizlerinde ultraviyole (UV) ve kütle spektrometresi (MS) ile birlikte kullanılmaktadır. Günümüzde biyolojik örneklerde TSNA tayininde genellikle LC/MS/MS tekniği kullanılmaktadır.

3.1.1. Biyolojik örneklerde LC/UV ile yapılan çalışmalar

NNK tayini için LC/UV ile geliştirilen yöntemde NNK'nın yapısında bulunan karbonil grubu enzim yardımıyla indirgenmiş ve oluşan NNAL metaboliti, izokratik elüsyon ile 230 nm'de ölçülmüştür. Yöntemin algılama limiti (LOD) de 3,2 ppb olarak bildirilmiştir [35].

3.1.2. Biyolojik örneklerde LC/MS/MS ile yapılan çalışmalar

İdrar örneğinde NNK ve NNAL'ı aynı anda ölçmek için LC-tandem MS/MS ile hassas ve seçici bir yöntem geliştirilmiş ve online katı faz ekstraksiyon (SPE) ile analiz süresi toplam 19 dakika olarak bildirilmiştir. Yöntemin LOD değerleri, NNK ve NNAL için sırasıyla 0,13 ve 0,19 pg olarak bulunmuş olup, 101 sigara içen ve 40 içmeyen kişiden alınan idrar örneklerinde NNK bulunmamıştır. Sigara içenlerin tamamına ait idrar örneklerinde serbest NNAL (0,10 ± 0,09 ng/mg kreatinin) ve toplam NNAL (0,17±0,14 ng/mg kreatinin) saptanmıştır. Bu çalışmada NNAL miktarıyla idrarda bulunan metillenmiş DNA lezyonları arasında yüksek oranda ilişki bulunmuştur. Ayrıca NNAL tayininin bütün dumanına maruz kalmaktan kaynaklı kanser riskini doğrulamaya yardımcı olabileceği gösterilmiştir [21]. Katı faz ekstraksiyonu (SPE) ve moleküler baskılı polimer (MIP) kolonları kullanılarak ekstraksiyonu yapılan idrar örneklerinde NNK, NNN, NNAL, NAT ve NAB analizi yapılmıştır. Yöntem için 5 mL idrar örneği

kullanılmış ve MIP kolon hazırlığı için 48 saat, kromaografik analiz içinde 14 dakikalık çalışma süresi harcanmıştır. Valide edilen yöntem 50 sigara kullanan ve 30 sigara kullanmayan kişilerin idrar örneklerine başarıyla uygulanmıştır [20]. İdrar örnekleri ile yapılan başka bir çalışmada toplam NNAL'ın belirlenmesi için moleküler baskılı polimer (MIP) kolon kullanılarak geliştirilen analitik yöntem valide edilmiştir. MIP kolon ekstraksiyonu ve LC/MS/MS kombinasyonu ile geliştirilen yöntemin LOD değeri 0,30 pg/mL ve analiz süresi 6 dakika olarak bildirilmiştir. 36 sigara içmeyen ve 207 sigara içen kişinin idrar örnekleri ile yapılan çalışmada, sigara içenlerin idrarında bulunan NNAL içmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [24].

Hamilelik sırasında sigara kullanmak sadece anne için değil, gelişmekte olan fetüs için de çeşitli olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Birçok çalışma, tütün dumanında bulunan kanserojenlerin plasentaya geçtiğini ve fetüste bulunduğunu göstermiştir. Gerek sigara kullanan gerekse pasif içici olan annelerin ve bebeklerinin idrar örneklerinde NNAL ölçümlerine dayanarak tütüne özgü kanserojen nitrozaminlere doğum öncesi maruziyeti belirlemek için bir çalışma yapılmıştır. Sigara içen annelerin idrar örnekleri ve yeni doğan bebeklerinin ilk idrarlarında NNAL miktarını belirlemek için bir çalışma yapılmıştır. Örnekler LLE sonrası LC/MS/MS'e verilmiş ve yöntemin LOD değeri NNAL için 5 pg/mL olarak bildirilmiştir [16]. İdrar örneklerinde NNAL'ı ölçmek için yapılan farklı bir çalışmada API 3000 triple quadruple MS ve SPE ile birleştirilmiş LC sistemi kullanılmıştır. 250 µL idrar örneklerinin kullanıldığı yöntemde LOD değerleri NNK için 20 pg/mL, NNAL için ise 10 pg/mL olarak bulunmuş ve kromatografik analiz süresi 20 dakika olarak bildirilmiştir [36].

Elektronik sigara (e-sigara) kullanıcılarından yayılan aerosole pasif olarak maruz kalan sigara içmeyen kişilerde NNAL düzeylerini değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada, 25'i evde sigara içenlerle, 6'sı e-sigara kullanıcılarıyla ve 24'ü sigara kullanmayanlarla birlikte yaşayan toplam 55 kişiden idrar örnekleri alınmış ve LC/MS/MS ile analiz edilmiştir. Yöntemin kantitatif tayin sınırı (LOQ) 0,25 pg/mg olarak bildirilmiştir [37].

NNK ve NNAL'ın eş zamanlı tayini için UFLC/MS/MS (Ultra Fast) ile yöntem geliştirilmiş ve sıçan idrarına uygulanmıştır. İdrarda NNK ve NNAL'ın kantitatif tayininde Evolute® Express CX 96 kullanılarak 150 µL düşük numune hacmi ve 7.1 dakikalık kısa kromatografik çalışma süresi bildirilmiştir. Yöntemin LOD değerleri NNK ve NNAL için sırasıyla 70 ve 3 pg/mL olarak saptanmıştır [22].

TSNA miktarları ile kanser türleri arasında en uygun belirteci bulmak için yapılan bir çalışmada tükürük örnekleri kullanılmıştır. Örnekler, DCM/izo-propanol karışımı ile LLE işleminden sonra LC/MS/MS ile analiz edilmiştir. Geliştirilen yöntemin LOD değerleri, NNK, NNK ve NNAL için sırasıyla 1,2 ve 0,5 pg/mL olarak bulunmuştur [17].

Saç örneklerinde NNK miktarının izlenmesi, özellikle sigara içmeyen popülasyonda, pasif içiciliğe (SHS) maruz kalan bireylerde kanserojen riski için iyi bir göstergesi olabileceği düşüncesi ile bir çalışma yapılmıştır. Sigara kullanmayan 48 gönüllünün saç örnekleri DCM ile ultrasonik ekstraksiyonda tutulmuş ve DCM/2-propanol (75:25) çözücü karışımı kullanılarak LLE ile NNK ekstrakte edilmiştir. Organik faz azot gazı altında uçurulduktan sonra ACN/metanol (95:5) ilavesi ile analizler LC/Tandem/MS'de yapılmıştır. Numune miktarları 5 ve 50 mg arasında değişen miktarlarda analiz edilmiş ve kantitatif tayin sınırı (LOQ) değerlerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Saç örneklerinde TSNA sınıfında çalışabilecek en uygun nitrozamin NNK olarak bildirilmiştir [17]. Saç numunelerinde NNAL analizinin de kanser riski değerlendirmesi ve tütüne maruziyetle ilgili kanser önleme çalışmalarına yardımcı olabileceğini düşünülmüş ve tayin için yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Çalışmada sigara kullanan deneklerin saç örnekleri alınmıştır. Saç numunesi, NaOH çözelti ile işleme tabi tutulduktan sonra C18 SPE ve SPE-MIP ile ekstrakte edilmiştir. İlaveten %1 sulu formik asit içinde ters faz ultrason destekli dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon (USA-DLLME) ile daha da zenginleştirilmiştir. Örnekler en son LC/MS/MS ile analiz edilmiştir. Geliştirilen yöntemin NNAL için LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,08 ve 0,24 pg/mg saç olarak bildirilmiştir [26].

Serumda NNN ve NNK'nın eş zamanlı kantitatif analizi için yeni ve oldukça hassas izotop seyreltme ultra yüksek basınçlı (UPLC) hidrofilik etkileşim sıvı kromatografisine (HILIC) bağlı tandem kütle spektrometresi HILIC-UPLC-MS/MS yöntemi geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Yöntemde, analitleri serumda bulunan endojen bileşiklerden ayırmak için "tek kapta" LLE yapılmış ve sadece 10 µL serum veya plazma numunesi kullanılmıştır (*Şekil 1*). HILIC, polar ve iyonik bileşiklerin tutulmasını arttırdığı için ters faz kromatografisine göre daha iyi bir kromatografik çözünürlük sağlamaktadır. HILIC'in diğer bir avantajı, protein çöktürme, LLE ve diğer saflaştırma tekniklerinde kullanılan organik çözücülerin kromatografik sistem üzerine doğrudan enjeksiyon imkanının olmasıdır. HILIC'in elektrosprey-MS'e (ESI-MS) bağlanması sırasında, yüksek organik içerikli mobil faz elüatındaki iyon desolvasyonunun yüksek etkinliği nedeniyle hassasiyet de artmaktadır [38-42] Yöntemin sağladığı en önemli avantaj yalnızca 10 µL serum gerektirmesidir. Fetal (bovine) sığır serumu ile validasyonu yapılan yöntemde kantitatif tayin sınırı (RSD < %20'ye dayanan LLOQ) NNK için 0,05 pmol (10 pg/mL) ve NNN için 0,06 pmol (10 pg/mL) olarak bildirilmiştir. Yöntem kan türevli matris içeren sıçan serumu, hamster serumu ve hamster plazmasına da uygulanmış ve farmakokinetik değerlendirmeler için kullanılabilmesi bildirilmiştir [18].

Farklı biyolojik örneklerde TSNA'ların tayini için LC/MS/MS ile geliştirilen yöntemlerin LOD değerleri *Çizelge 2*'de verilmiştir.

Çizelge 2. Biyolojik örneklerde TSNA'ların tayini için LC/MS/MS ile geliştirilen yöntemlerin LOD değerleri

Matriks	LOD NNK pg/mL	LOD NNN pg/mL	LOD NAT pg/mL	LOD NAB pg/mL	LOD NNAL pg/mg	Referans
İdrar	2,6				38	[21]
İdrar					0,30	[24]
İdrar		0,8	0,7	1,1	2,0	[25]
Tükürük	2	1			0,5	[17]
Tırnak		0.02			0,02	[15]
Saç					0,08	[26]
İdrar	0,6	0,6	0,4	0,4	10	[20]
İdrar	20				10	[36]
İdrar	70				3	[22]
İdrar					0,25*	[37]
Plazma	1,3	3	0,9	2	3,7	[11]
İdrar					5	[16]
Serum	10*	10 *				[18]

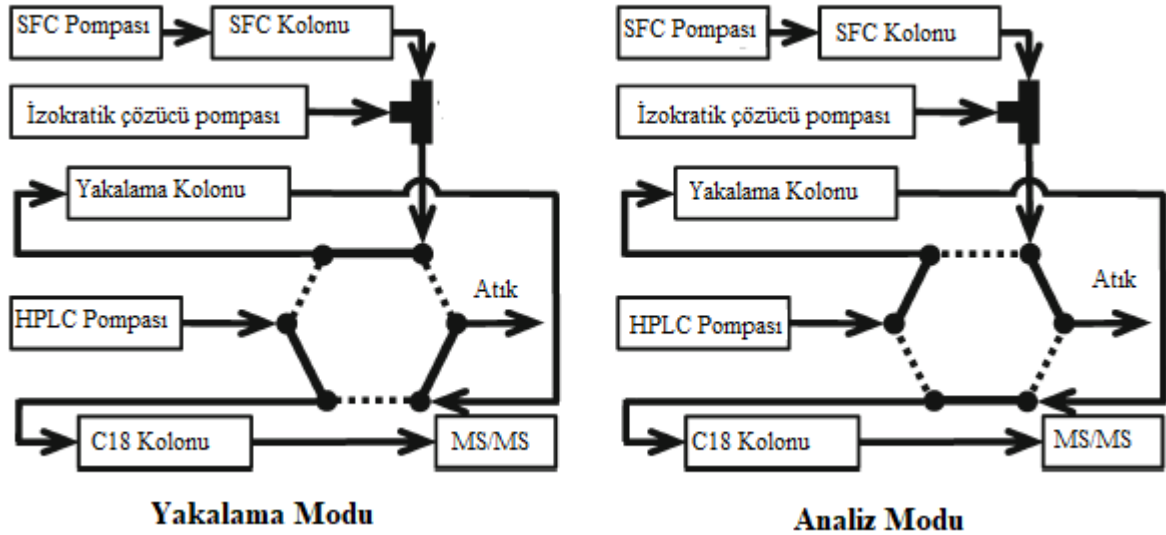
* LOQ değerleri

3.2. Süper Kritik Sıvı Kromatografisi (SFC) ile Analiz

Süper kritik CO₂'i birincil mobil faz bileşeni olarak kullanan süper kritik sıvı kromatografisinin (SFC), normal fazlı sıvı kromatografisi (NPLC) için bir alternatif olduğu düşünülmektedir. İki boyutlu LC sisteminin performansı, ayırma ortogonalitesine bağlı olduğundan SFC ve HPLC'ye dayalı iki boyutlu (2D) LC sisteminin karmaşık örneklerin belirlenmesi için umut verici bir yöntem olabileceği bildirilmiştir [43]. SFC-HPLC sisteminin en önemli avantajı, NPLC-HPLC'de karşılaşılan mobil fazlar arasındaki çözücü uyumsuzluğu probleminin üstesinden gelmesidir. Atmosferik basınca maruz kaldığında süper kritik CO₂'nin genişlemesi, 2D kolon ile tamamen uyumlu fraksiyonlara yol açmaktadır.

SFC-HPLC sisteminin TSNA analizi için çok uygun olabileceğini düşünülmüş ve bir çalışma yapılmıştır. Çalışma, TSNA'ların belirlenmesi için 2D süper kritik sıvı kromatografisi-yüksek performanslı sıvı kromatografisine bağlı tandem kütle spektrometresi (SFC-HPLC-MS/MS) ile

geliştirilmiş ve Şekil 4’de gösterilmiştir. Geliştirilen yeni yöntem sigaraya uygulanmış ancak biyolojik örneğe uygulamamıştır. 1-AA kolonu, hedef bileşikleri karmaşık sigara dumanı matrislerinden izole etmek için birinci boyutlu (1D) SFC ayırması için uygulanmıştır. Ayrıca 1D elüentlerini yakalamak için izokratik bir pompa ile birlikte bir yakalama kolonu kullanılmıştır. Daha sonra, yakalanan 1D elüentleri, ikinci boyutlu (2D) analiz için iki konumlu/altı portlu bir valf aracılığıyla C18 kolonuna aktarılmıştır. Sonuçlar matriks etkisinin ortadan kalktığını göstermiştir. Çalışma, sunulan yöntemin iyi tekrarlanabilirlik ve geri kazanımlar sergilediğini ve ana dumandaki TSNA’ların rutin analizi için hızlı ve güvenilir bir yaklaşım olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur [44].



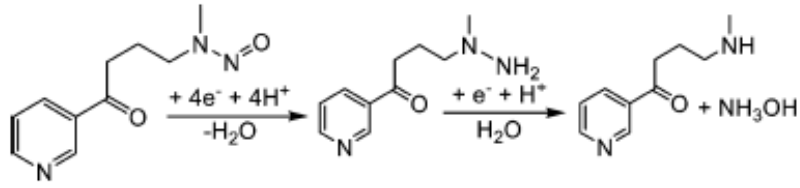
Şekil 4. SFC-HPLC-MS/MS sisteminin şematik görünümü [44]

3.3. Gaz Kromatografisi ile Analiz

Uçucu bileşikler için genellikle tercih edilen gaz kromatografisi (GC) nitrozaminler için termal enerji analizörü (TEA), MS ve azot kemilüminesans (NCD) gibi farklı dedektörler ile kullanılmaktadır. Oldukça hassas ve seçici olmalarına karşın TEA dedektörünün sık tercih edilmeme sebebi; NO ve NO₂ gruplarına duyarlı olduğundan sadece nitrozo bileşikleri için kullanılmalıdır. MS dedektörleri ise iyonlaştırıcı olarak elektron çarpması (EI) ve kimyasal iyonizasyon (CI) ile biyolojik örneklerde nitrozaminler için istenen LOD değerlerini sağladığından yaygın olarak kullanılmaktadır [5,45].

3.4. Biyosensörler ile Analiz

Elektrokimyasal yöntem, kromatografik yöntemler ile karşılaştırıldığında daha basit numune hazırlama prosedürü, daha kısa işlem süresi ve daha düşük maliyet gibi özellikleri ile avantaj sağlamaktadır. Nitrozaminler, heme demiri ile doğrudan bir koordinasyon ile sitokrom P450'nin etkileşime girdiğinde biyolojik hasar vermektedir [46]. Bu yüzden heme grubu heterojen elektrokatalizör gibi davranabilir diye düşünülmüş ve hemin fonksiyonlu elektrot üretimi çalışmaları yapılmıştır. NNN ve NNK'nın indirgenmesi için düşük potansiyellerde, elektrokatalitik aktivitesi yüksek yeni redoks elektrotları (hemin fonksiyonlu karbon nanotüplere dayanan) üretilmiştir. Bu elektrotlar, çeşitli elektrolit ortamında ve pH koşullarında test edilmiştir. Ayrıca nitrozaminlerde bulunan nitrozo grubunun asidik ortamda önce hidrazin sonra sekonder aminlere indirgendiği reaksiyon mekanizması önerilmiştir (Şekil 5) [47].



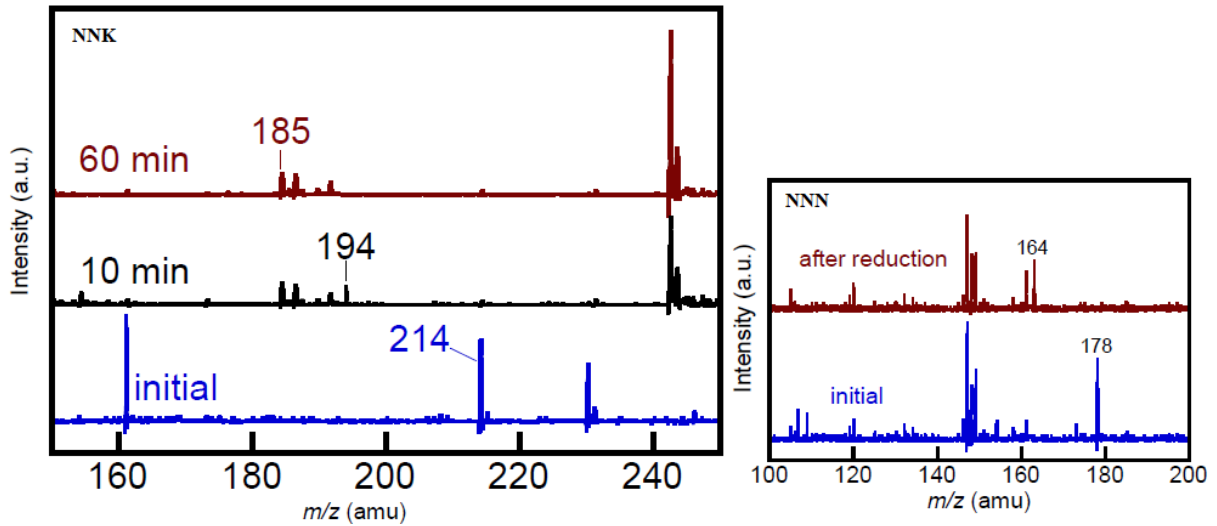
Şekil 5. Asidik ortamda NNK'nun indirgenme reaksiyonları [47]

Elektrokimyasal indirgeme sonucu oluşan ürünlerin yapı aydınlatması için Matris Destekli Lazer Desorpsiyon (MALDI)-Uçuş zamanlı (TOF) ve ESI spektrometresi kullanılmıştır. NNK ve NNN'nin elektrokimyasal indirgeme sonrası ürünlerine ait MALDI-TOF spektrumları Şekil 6'da verilmiştir. Başlangıç konsantrasyonları NNK için 1 mM ve NNN için ise 1,1 mM olup, çalışmada elektrolit olarak 0,1 M LiClO₄ (pH, HCl ile 1.5'e ayarlanmıştır), çalışma elektrodu olarak toray karbon kağıdı üzerinde hemin-CNT, referans elektrot olarak Ag/AgCl ve karşıt elektrot olarak Pt tel kullanılmıştır. Şekil 6'da verilen spektrumda tanımlanan katyonik fragmanlar;

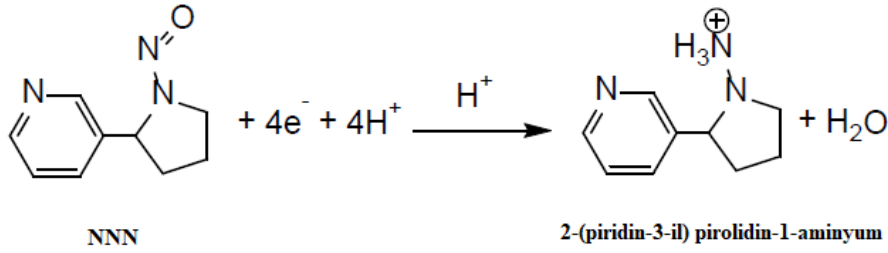
- Mavi renkli ilk spektrumda yer alan m/z 214; NNK'nın N-metil-N-(4-okso-4-(piridin-3-il)butil) nitroz amid, lityum tuzu ([M+Li]⁺ fragmanıdır.
- İkinci spektrumdaki m/z 194; 2-metil-2-(4-okso-4-(piridin-3-il)butil) hidrazin-1-ium. Bu fragman Şekil 5'de de gösterildiği gibi NNK indirgememesinin hidrazin ürünü olup kronoamperometrik indirgeme başladıktan 10 dakika sonra tespit edilmiştir.
- Üçüncü spektrumdaki m/z 185; hidrazin indirgememesinin ikincil amin ürünü olan 4-(metilamino)-1-(piridin-3-il) bütan-1-on lityum tuzudur.

Şekil 6'da NNN'nin -1.5 V sabit potansiyelde 10 dakika boyunca elektrokimyasal indirgeme reaksiyonundan sonra MALDI-TOF spektrumunda tanımlanan katyonik fragmanlar;

- Birinci spektrumda yer alan m/z 178; [NNN+H]⁺ iyonudur.
- İkinci spektrumda yer alan m/z 164; 2-(piridin-3-il) piroolidin-1-aminyum indirgenme ürünüdür. Spektrum ile kanıtlanan NNN indirgenme reaksiyonu ise Şekil 7'de verilmiştir [48].

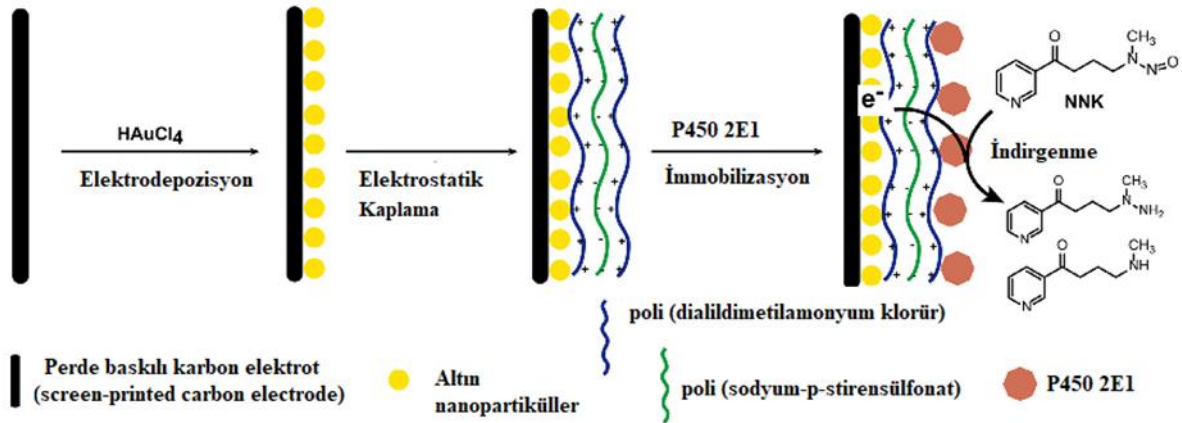


Şekil 6. NNK ve NNN'nin elektrokimyasal indirgeme sonucu oluşan ürünlerine ait MALDI-TOF spektrumları [48]



Şekil 7. Asidik ortamda NNK'nin indirgenme reaksiyonu [48]

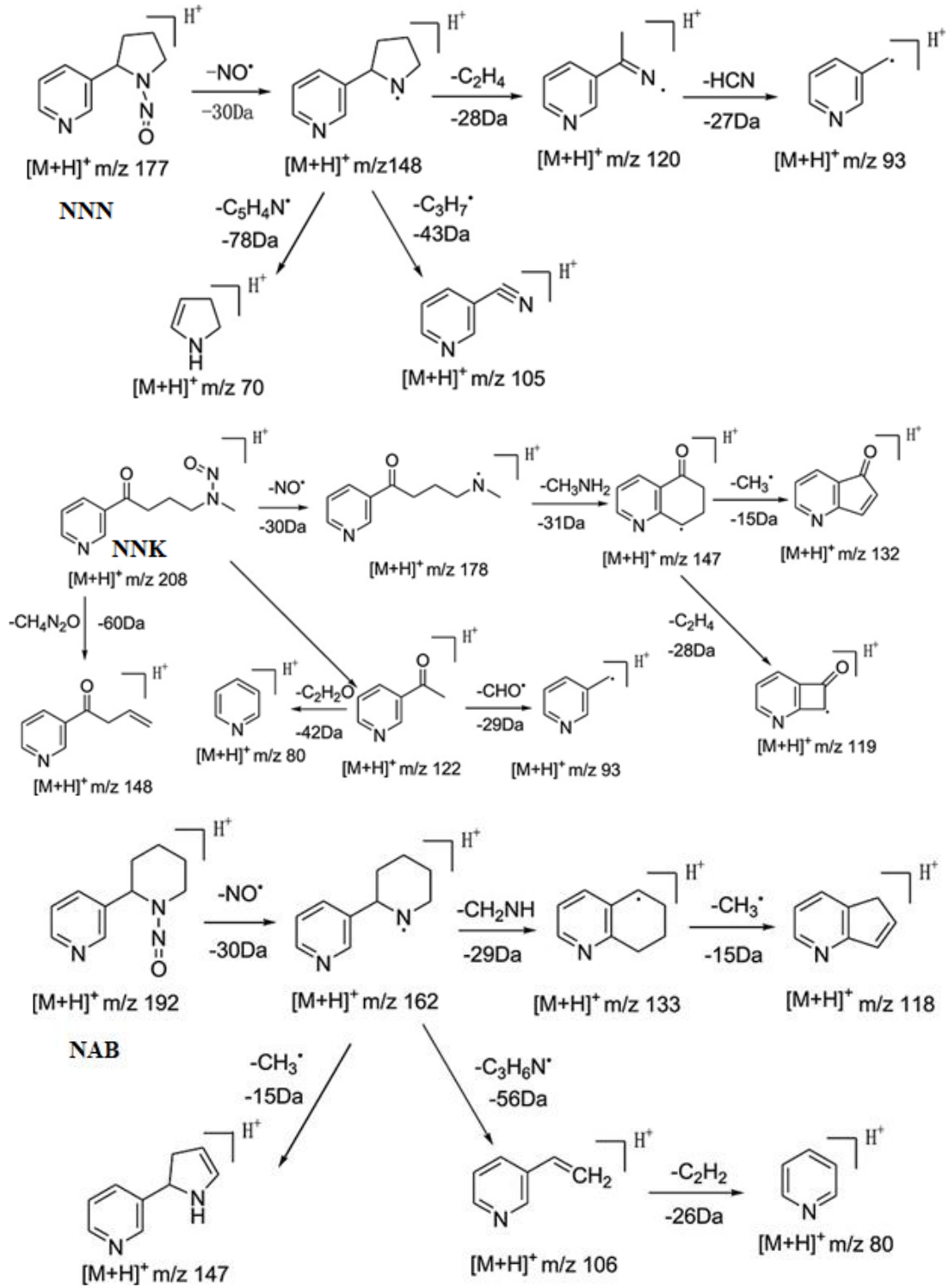
Elektrokimyasal olarak NNK'nin tespiti için, sitokrom P450 redüktaz mikrozoamları da kullanılabilir. P450 2E1, pek çok nitrozaminin oksidasyon reaksiyonlarında rol oynadığından, P450 2E1 (CYP2E1) ile NNK analizi için biyosensör geliştirilmiştir [48]. Elektrot modifikasyon işlemleri için elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılan çalışmada üretilen biyosensörün performansı da değerlendirilmiş ve geliştirilen yöntem valide edilmiştir. Biyosensörün duyarlılığı $79 \mu A \text{ cm}^{-2} \text{ mM}^{-1}$ ve yöntemin LOD değeri NNK için $7,71 \mu M$ olarak bulunmuştur. Biyosensör, yapay idrar numunesinde NNK tayini için başarıyla kullanılmıştır [49]. NNK'nin elektrokimyasal analizi için üretilen biyosensöre ait işlem basamakları Şekil 8'de verilmiştir.



Şekil 8. NNK'nin elektrokimyasal analizi için üretilen biyosensöre ait işlem basamakları [49]

3.5. TSNA'ların Kütle Spektrometrisindeki Parçalanma Mekanizmaları

TSNA'ların karakteristik parçalanma davranışları, elektrosprey iyonizasyon (ESI) multistage tandem MS ile incelenmiştir. Dötoro etiketli TSNA bileşikleri, önerilen parçalanma mekanizmasını açıklığa kavuşturmak için kullanılmıştır. Ortaya çıkan fragmanların detaylı analizi yapılmış ve piperidin veya pirolidin halkasının ana omurgayı oluşturduğu görülmüştür. Pirolidin veya piperidin halkaları, doğrudan parçalanmaya uğrayabilir ve ana halkaları etkilemeden bazı kararlı ara maddeler oluşturabilir veya piridin-2 karbon atomunda halka açılması ve ardından halka kapanması ile farklı ürünler oluşabilir. NNK, NNK ve NAB için önerilen parçalanma mekanizmaları Şekil 9'da verilmiştir [21].



Şekil 9. NNN, NNK ve NAB için önerilen parçalanma mekanizmaları [21]

İyonlaştırıcı olarak elektron bombardımanının (EI) kullanıldığı sistemlerde nitrozaminleri oluşturan aminlerin moleküler iyonları, NO gruplarının ayrılması ile oluşur ve oluşan (M-30)⁺ pikleri nitrozo bileşikleri için karakteristiktir [5].

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Sigara dumanına maruz kalma, başta akciğer kanseri olmak üzere diğer organlar için de önde gelen risk faktörüdür, ancak sigarada bulunan kanserojen TSNA'ların tümör ve kanser gelişimindeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır. TSNA sınıfından özellikle kanserojen etkisi olan NNN ve NNK'nın tütün ve tütün ürünlerinde kalitatif ve kantitatif tayinleri ile ilgili çok fazla çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada özellikle biyolojik örnekler ile yapılan çalışmalar sunulmuştur. Biyolojik örneklerde TSNA analizinde matriks ortamına göre çeşitli yöntemler ve teknolojiler kullanılmıştır. Her yöntemin bir takım analitik zorlukları bulunmaktadır. Bu nedenle, farklı kullanımları ve özelliklerini göz önünde bulundurarak farklı amaçlar için en iyi yolun seçilmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda kütle spektrometresi, biyolojik örneklerde eser miktarda bulunan TSNA'ların analizinde vazgeçilmez olduğunu göstermiştir. Biyolojik örneklerde NNN ve NNK miktarlarının takibi sigara dumanı maruziyeti kaynaklı tümör ve kanser mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayabilir. Gelecekteki çalışmalar için gerek ekstraksiyon gerekse analiz basamaklarında MIP, biyosensörler ve nanomalzemelerin kullanıldığı teknikler, karışık matris ortamlarında TSNA analiz etmede hedef bileşikler için daha seçici ve hassas olduğundan potansiyel olarak daha da geliştirilebilecek yeni alanlardır.

KAYNAKLAR

- [1] Hecht, S.S. and Hoffmann, D. (1988). Tobacco-specific nitrosamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke. *Carcinogenesis*, 9: 875-884.
- [2] International Agency for Research on Cancer (IARC) (1978). Some N-nitroso compounds. IARC Monographs on the Evaluation of Risks to Humans, 17: ISBN-109283212177.
- [3] Sugeçti, S. (2021). Pathophysiological effects of Klebsiella pneumoniae infection on Galleria mellonella as an invertebrate model organism. *Archives of Microbiology* <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02346-y>.
- [4] Xue, J., Yang, S., Seng, S. (2014). Mechanisms of Cancer Induction by Tobacco-Specific NNK and NNN. *Cancers*, 6:1138-1156.
- [5] Sleiman, M., Maddalena, R.L., et al. H. (2009). Rapid and sensitive gas chromatography-ion-trap tandem mass spectrometry method for the determination of tobacco-specific N-nitrosamines in secondhand smoke. *Journal of Chromatography A*, 1216(45):7899-7905.
- [6] Lin, R.K., Hsieh, Y.S, Lin, P., et al. (2010). The tobaccospecific carcinogen NNK induces DNA methyltransferase 1 accumulation and tumor suppressor gene hypermethylation in mice and lung cancer patients. *Journal of Clinical Investigation*, 120:521-532.
- [7] Hebel, D.G.A.J, Briede, J.J., Khampang R, Kleinjans, J.C.S., de Kok, T.M.C.(2010). Radical Mechanisms in Nitrosamine- and Nitrosamide-Induced Whole-Genome Gene Expression Modulations in Caco-2 Cells. *Toxicological Sciences*, 116 (1):194-205.
- [8] Coglian, V. J., Baan, R., Straif, K., et al. (2011). Preventable exposures associated with human cancers. *J Natl Cancer I*, 103(24): 1827-1839.
- [9] Kwak, S., Choi, Y.S., Na, H.G., et al. (2020). Effect of Tobacco-specific Nitrosamines on MUC5AC Expression in Human Airway Epithelial Cells. *Journal of Rhinology*, 27(1):34-40.
- [10] Stepanov, I., Carmella, S.G., Briggs, A., et al. (2009a). Presence of the carcinogen N'-nitrosornicotine in the urine of some users of oral nicotine replacement therapy products. *Cancer Research*, 69: 8236-8240.
- [11] Wang, L., Yang, C., Zhang, Q., et al. (2013). SPE-HPLC-MS/MS method for the trace analysis of tobacco-specific N-nitrosamines and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol in rabbit plasma using tetraazacalix[2]arene[2]triazine-modified silica as a sorbent. *J. Sep. Sci.* 36:2664-2671.
- [12] Zhao, B., Wang, S., Wang, J., et al. (2012). Analysis of N'-nitrosornicotine and its metabolites in rabbit blood with liquid chromatography/tandem mass spectrometric method, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 899:103-108.
- [13] Lang, H., Wang, S., Zhang, Q., Zhao, B., et al. (2013). Simultaneous determination of NNK and its seven metabolites in rabbit blood by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 405:2083-2089.
- [14] Gabr, R.Q, Elsherbiny, M.E., Somayaji, V., Pollak, P.T., Brocks, D.R.A. (2011). liquid chromatography-mass spectrometry method for nicotine and cotinine; utility in screening tobacco exposure in patients taking amiodarone, *Biomed. Chromatogr.*, 25:1124-1131.
- [15] Stepanov, I., Hecht, S.S. (2008). Detection and Quantitation of N'-Nitrosornicotine in Human Toenails by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 17(4):945-948.

- [16] Florek, E., Piekoszewski, W., Basior, A., et al. (2011). Effect Of Maternal Tobacco Smoking Or Exposure To Second-Hand Smoke On The Levels Of 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-Pyridyl)-1-Butanol (NNAL) In Urine Of Mother And The First Urine Of Newborn. *Journal Of Physiology And Pharmacology*, 62(3):377-383.
- [17] Ortuño, R.P., Martínez-Sánchez, J.M., Fu, M., Fernández, E., Pascual, J.A.(2016). Evaluation of tobacco specific nitrosamines exposure by quantification of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in human hair of non-smokers. *Sci Rep*, 26(6):25043.
- [18] Loukotková, L., VonTungeln, L.S., et al. (2018). A simple and highly sensitive UPLC-ESI-MS/MS method for the simultaneous quantification of nicotine, cotinine, and the tobacco-specific carcinogens N'-nitrosornicotine and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in serum samples. *Journal of Chromatography B*, 1072:229–234.
- [19] Biotage, (2013). Application Note AN787: Extraction of Nicotine and Metabolites from Urine, Serum, Plasma and Whole Blood Using ISOLUTE® SLE+ Prior to LC-MS/MS Analysis, (2017) <http://www.biotage.com/literature/search?keywords%5B%5D%5B%5D=527>.
- [20] Xia, B., Xia, Y., Wong, J., et al. (2014). Quantitative Analysis of Five Tobacco Specific NNitrosamines in Urine by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Biomed. Chromatogr.*, 28:375–384.
- [21] Hu, A.F., Jiang, J., Zhou, G.J., Yang J. et al. (2014). Characteristic fragmentation behavior of tobacco-specific N-nitrosamines using electrospray ionization multistage tandem mass spectrometry incorporating deuterium labeling. *Rapid Commun Mass Spectr.*, 28(15):1658-64.
- [22] Sepehr, E., Woodling, K.A, Bryant, M.S.(2018). Rapid quantitation of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) and its metabolite 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL) in rat urine using ultra-fast liquid chromatography mass spectrometry (UFLC/MS/MS). *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 4(8): 422–429.
- [23] Widstrand, C., BoydJohan, B., Rees, B.A.(2006). Efficient Extraction of Toxic Compounds From Complex Matrices Using Molecularly Imprinted Polymers. *American Laboratory*, 39(17).
- [24] Hou, H., Zhang, X., Tian, Y., et al. (2012). Development of a method for the determination of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol in urine of nonsmokers and smokers using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.*, 7(63):17-22.
- [25] Kavvadias, D., Scherer, G., Urban, M., et al. (2009). Simultaneous determination of four tobacco-specific N-nitrosamines (TSNA) in human urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.*, 877(11-12):1185-92.
- [26] Yao, L., Yang, J., Guan, Y., et al.(2012). Development, validation, and application of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol in human hair. *Anal Bioanal Chem*, 404:2259–66.
- [27] Li, Y.Y., Wan, M.M., Zhu, J.H., (2014). Cleaning carcinogenic nitrosamine with zeolites. A review, *Environ. Chem. Lett.* 1:139–152.
- [28] Li, S.H., Sun, X.D., Wang, Y.Z., et al. (2017). Novel mesoporous composite with zeolite-like selectivity to capture tobacco specific nitrosamine NNK *Chemical Engineering Journal* (IF 10.652) Pub Date:2017-09-17, DOI: 10.1016/j.cej.2017.09.090.
- [29] Sun, X.D., Shi, C.L., Li, S.H., et al. (2018). New shape-selectivity discovered on graphene-based materials in catching tobacco specific nitrosamines. *J. Hazard. Mater.*, 358:234–242.
- [30] Xu, T.G., Shi, R., Lu, N., Zhang, J., et al. (2018). Adsorption of tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone from aqueous solution with graphene aerogel. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, 324, 012028.
- [31] Yong-Qiang P., Xiao-Jing, C., et al. (2019). Magnetic solid-phase extraction of tobacco-specific N-nitrosamines using magnetic graphene composite as sorbent. *J Sep Sci* 42:3119–25.
- [32] Jiang, H. (2020) Investigation of Carcinogenic Compounds in Tobacco Smoke. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 9:3.
- [33] Shi, C.L., Li, S.H., Sun, X.D. (2018). New activated carbon sorbent with the zeolite-like selectivity to capture tobacco-specific nitrosamines in solution. *Chemical Engineering Journal*, 339:170-179.
- [34] Xu, T.G, Shi, R. Lu, N., Zhang,J., Bai, R.S., Yang, Z.D., Zhou,J. (2018). Adsorption of tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino) -1- (3-pyridyl)-1-butanone from aqueous solution with graphene aerogel. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 324 012028.
- [35] Skarydova, L., Zverinova, M., et al. (2012). Simple Identification of Novel Carbonyl Reducing Enzymes in the Metabolism of the Tobacco Specific Carcinogen NNK *Drug Metabolism Letters*, 6:3.
- [36] Lee, H.L., Wang, C., Lin, S., Hsieh, D.P. (2007). Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometric Method for the Simultaneous Determination of Tobacco-Specific Nitrosamine NNK and its Five Metabolites. *Talanta*, 73(1): 76–80.

- [37] Martínez-Sánchez, J.M., Ballbè, M., Ortuno, R.P., et al. (2019). Secondhand exposure to aerosol from electronic cigarettes: pilot study of assessment of tobacco-specific nitrosamine (NNAL) in urine. *Gac Sanit.*, 33(6):575–578.
- [38] Dobrin, M., Choong, E., Noetzli, M., Cornuz, J. et al. (2011). Quantification of nicotine, cotinine, trans-3'-hydroxycotinine and varenicline in human plasma by a sensitive and specific UPLC–tandem mass-spectrometry procedure for a clinical study on smoking cessation, *J. Chromatogr. B*, 879:3574–3582.
- [39] Baumann, F., Regenthal, R., Burgos-Guerrero L.L., et al. (2010). Determination of nicotine and cotinine in human serum by means of LC/MS, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 878:107–111.
- [40] Li, P., Beck, W.D., et al. (2012). Quantitation of cotinine and its metabolites in rat plasma and brain tissue by hydrophilic interaction chromatography tandem mass spectrometry (HILIC-MS/MS), *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 907:117–125.
- [41] Hendrickx, S., et al. (2015). Recent advances in the application of hydrophilic interaction chromatography for the analysis of biological matrices, *Bioanalysis*, 7:2927–2945.
- [42] Isokawa, M., Kanamori, T., Funatsu, T., Tsunoda, M. (2014). Recent advances in hydrophilic interaction chromatography for quantitative analysis of endogenous and pharmaceutical compounds in plasma samples. *Bioanalysis*, 6:2421–2439.
- [43] Gilar, M., Olivova, P., Daly, A.E., Gebler, J.C. (2005). Orthogonality of separation in two-dimensional liquid chromatography. *Anal Chem.*, 77:6426–34.
- [44] Zhou, Y., Zhang, H., Wang, X., et al. (2019). Development of a heart-cutting supercritical fluid chromatography-high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the determination of four tobacco-specific nitrosamines in mainstream smoke. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411:2961–2969.
- [45] Lisko, J.G., Stanfill, S.B., et al. (2013). Application of GC-MS/MS for the analysis of tobacco alkaloids in cigarette filler and various tobacco species. *Analytical Chemistry*, 85:3380–3384.
- [46] Xu, N., Goodrich, L.E., Lehnert, N., et al. (2010). Five- and Six- Coordinate Adducts of Nitrosamines with Ferric Porphyrins: Structural Models for the Type II Interactions of Nitrosamines with Ferric Cytochrome P450. *Inorganic Chemistry*, 49(10):4405-4419.
- [47] Su, X., Bromberg, L., Tan, K.J., Jamison, T.F., et al. (2017). Electrochemically Mediated Reduction of Nitrosamines by Hemin-Functionalized Redox Electrodes. *Environmental Science and Technology Letters*, 4: 161-167.
- [48] Su, X., Bromberg, L., Tan, K.J., Jamison, T.F., et al. (2017). Electrochemically Mediated Reduction of Nitrosamines by Hemin-Functionalized Redox Electrodes. Supporting Information
- [49] Zhao, H., He, H., Shi, L., Cai, X., et al. (2018). Electrochemical detection of 4- (methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone using a cytochrome P450 2E1 decorated biosensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 816: 62-67.

Biyolojik Sistemli Nanopartiküller

İrem Yavuz^{1*}, Ebru Şebnem Yılmaz²

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 06030, Hatay, Türkiye

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06030, Hatay, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Çeşitli biyolojik sistemlerle nanopartiküllerin yeşil nanoteknoloji yöntemiyle sentezi
- Biyolojik sistemlerin nanopartiküllerle etkileşimi
- Nanopartiküllerin hücrelerde zamanla oluşan etkileri

Makale Bilgileri

Geliş: 29.03.2021

Kabul: 13.05.2021

Anahtar Kelimeler

Biyolojik sistemler,
Nanoteknoloji,
Nanopartikül

Özet

Nanopartiküller 100 nm ve daha küçük ölçülerde olan tozlar şeklinde tanımlanmaktadır ve nanoteknolojinin temellerini bu partiküller oluşturmaktadır. Nanoyapıların sahip olduğu olağandışı nitelikler uzun zaman önce öngörülmüştür. Nanopartiküllerin biyolojik sistemlerdeki davranışlarını anlamak başta medikal tedavi yöntemleri olmak üzere, güvenli nanoteknolojinin geliştirilmesi için gereklidir. Günümüzde dünya genelinde ülkeler nanoteknoloji sahasında önemli yatırımlar yapmaktadır. Bununla birlikte nanometre boyutundaki malzemelere ait üstün nitelikler onların farklı araştırmalarda (tekstil, biyoteknoloji, eczacılık, medikal, savunma sanayi, malzeme, imalat sektörü, tarım vb.) yaygınlaşarak kullanılabilmesine imkan sunmaktadır. Bu durum nanoteknolojiden daha fazla alanda yararlanılmasının dışında nanoteknolojiye dayalı devrim niteliğinde farklı ve çeşitli ürünlerin tasarlanabilmesini sağlamaktadır. Son yıllarda nanoteknoloji ve klinik uygulamaları hakkında giderek artan oranda literatür olmasına rağmen, nanopartiküller ve hücreler arasındaki moleküler düzeydeki etkileşim mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Nanopartiküllerin üretimi nanoteknolojide yapılması planlanan yeniliklerdeki ilk basamağı oluşturmakta; bu partiküller oldukça kapsamlı bir aralıkta fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle üretilebilmektedir. Bu çalışmada nanoteknoloji kavramı ve tarihçesine değinildikten sonra nanopartiküllerin biyolojik yöntemlere dayalı üretimleri ve etkileri detaylıca incelenmiştir.

Nanoparticles with Biological Systems

Highlights

- Synthesis of nanoparticles with various biological systems by green nanotechnology method
- Interaction of biological systems with nanoparticles
- The effects of nanoparticles on cells over time

Article Info

Received: 29.03.2021

Accepted: 13.05.2021

Keywords

Biological systems,
Nanotechnology,
Nanoparticles

Abstract

Nanoparticles are defined as dusts measuring 100 nm and smaller, and these particles form the basis of nanotechnology. The unusual qualities of nanostructures were foreseen a long time ago. Understanding the behavior of nanoparticles in biological systems is necessary for the development of safe nanotechnology, especially medical treatment methods. Nowadays, countries around the world are making significant investments in the field of nanotechnology. In addition to this, the superior qualities of nanometer-sized materials allow them to be widely used in different fields (textiles, biotechnology, pharmacy, medicine, defense industry, materials and manufacturing sector, agriculture, etc.). Apart from using nanotechnology in more areas, this enables the design of revolutionary different and diverse products based on nanotechnology. Although there has been increasing literature on nanotechnology and clinical applications in recent years, the mechanisms of interaction between nanoparticles and cells at the molecular level are not fully understood. The production of nanoparticles constitutes the first step in the planned innovations in nanotechnology; these particles can be produced in a wide range of physical, chemical and biological methods within the appropriate one. In this review, the biological method-based production of nanoparticles and their mode of action were examined in detail after the concept and history of nanotechnology was mentioned.



1. GİRİŞ

Nanoteknoloji anlayışının ortaya çıkışı, 1959 tarihinde fizik alanında çalışmaları olan bilim insanı Dr. Feynman'ın kullanılan araç ve gereçlerin moleküler düzeyde yapılandırılabilceği konusundaki konuşması sonrasında hızlanmıştır [1]. Feynman, nanoteknolojinin ortaya çıkışında önemli bir isim olmakla birlikte, alana öncülük eden başka bilim insanları da olmuştur. Nanopartiküller üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda önemli bir araştırma alanı olması bakımından büyük bir ilerleme göstermektedir. Günümüzde ilgi gören ve değerli bir çalışma alanı haline gelmiş olan nanoteknoloji sayesinde meydana gelebilecek değişikliklerin fark edilmesi ile birlikte gelecek nesiller için yeni bir dönem başlatacağı öngörülmektedir. Bu konu üzerine olan ilginin artma sebebi maddelerin belli boyut aralığında hacimsel yapılarından farklı olarak olağandışı özellikler ve işlevsellik sergilemeleridir. Nanoteknolojinin temelinde moleküler seviyede çalışabilmek, atom atoma yapılanmak, öncelikli bir şekilde yeni moleküler düzenlemeler aracılığıyla kapsamlı yapılar düzenlemek yer almaktadır [1].

Nanopartiküller nano boyutlarından ötürü spesifik bazı özellikler barındırmaktadırlar. Metal nanopartiküllere dair talep gün geçtikçe artış göstermektedir. Bu yapıların katalize edici, manyetik kaydediciler ve elektrik gibi çeşitli araştırmalarda kullanılma potansiyeli olması bu durumun temel sebebini oluşturmaktadır [1].

Metal nanopartiküllerin kendilerine özgü yapılanmaları bu partiküllerden elektronik ve malzeme endüstrisinde yararlanılması konusundaki işlevselliklerini arttırmakta ve antimikrobiyal bileşiklerin sentezi, farmasotiklerin transportu, hastalık tanı ve sağaltımı gibi medikal alan tatbiklerinde farklı tekniklerin geliştirilmesini mümkün kılmaktadır [1].

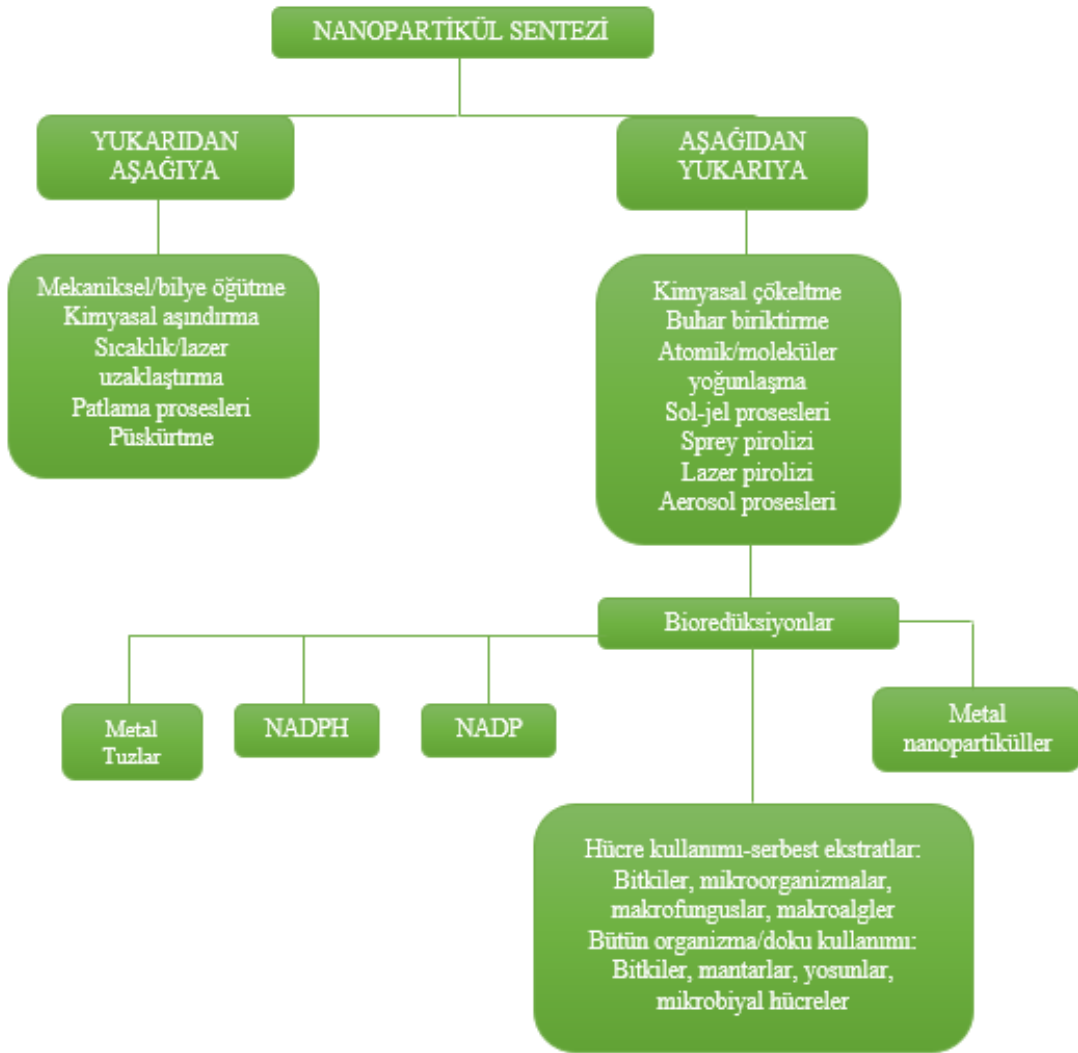
Nanoteknoloji, özellikle son on yıldır sıklıkla adı geçen bir kavram olmakla birlikte esasında bu konu ile ilgili dünya genelinde yapılmış olan çalışmaların temeli 1950'li yıllara dayanmaktadır. Nanometre aracılığıyla ölçülebilen boyutlarda olan bu teknolojinin sahip olduğu avantajlar sayesinde çok daha üst düzeylere taşınabileceği düşünülmektedir. Var olan teknolojiler maddelerin bilinen fiziksel özellikleri üzerinde durmakta; nano boyutlar incelendiğinde ise kuantum etkisi olarak ifade edilen ve malzemenin büyüklüğü ile farklılaşan yeni özelliklere ulaşılmaktadır. Nano yapıli malzemelerin sentezlenmesini kapsayan nanoteknoloji alanındaki yeni gelişmeler için ilk adım nanopartiküllerin üretimidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanopartiküllerin Üretimi

Nanopartiküllerin üretim sistematiği çoğunlukla yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya üretim şeklinde gerçekleştirilmektedir. Bu üretim şekillerinde hedefe yönelik olarak fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler uygulanmaktadır (*Şekil 1*).

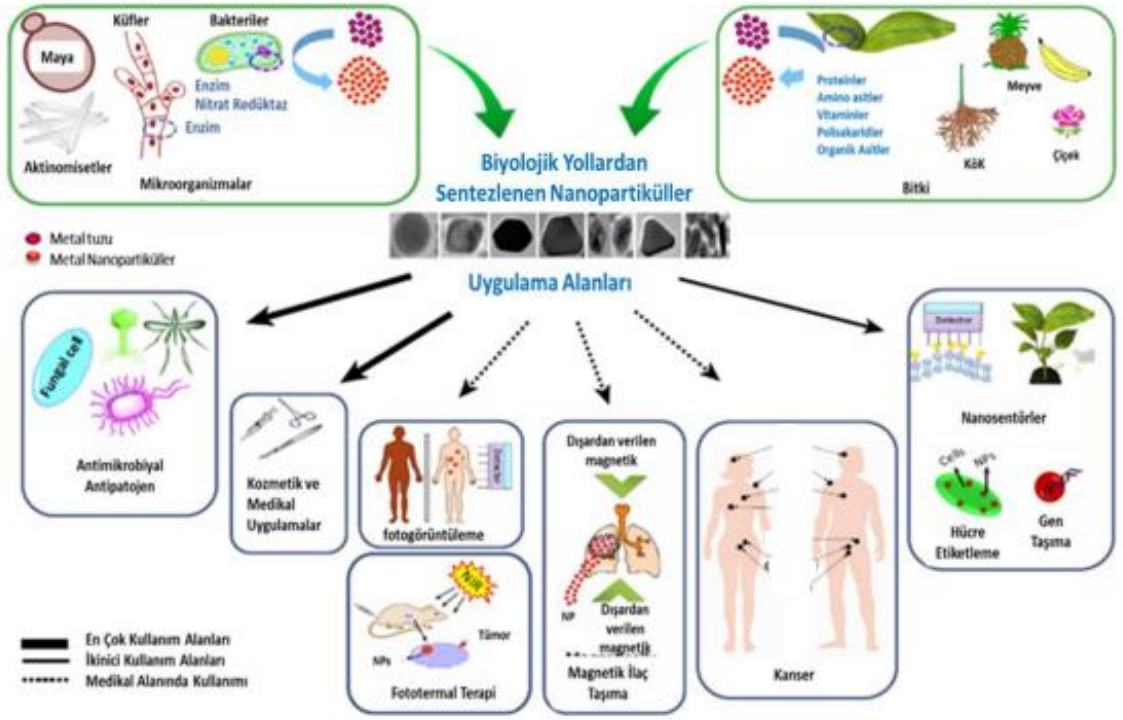
Metal nanopartiküllerin üretiminde yaş kimyasal yöntemlere örnek olarak; hidrotermal/solvotermal, sol-jel, fotokimyasal redüksiyon gibi tekniklerle, ultraviyole aerosol teknolojileri, taş baskı, lazer ablasyonu, ultrasonikasyon gibi yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır [1].



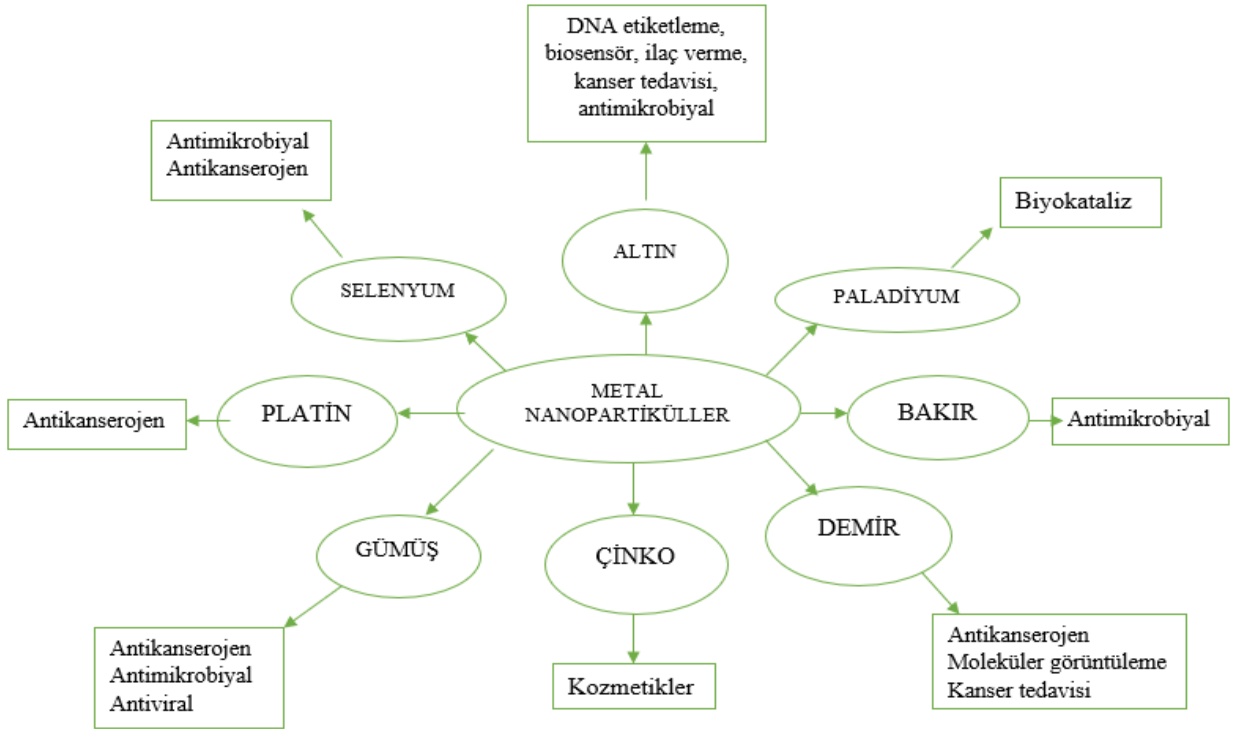
Şekil 1. Biyoreduksiyon ile nanopartikül sentezi için kullanılan çeşitli yöntemler [2]

2.2. Biyolojik Nanopartiküllerin Uygulama Alanları

Biyolojik nanoteknolojilerin uygulama alanları oldukça geniştir ve gelişmeye devam etmektedir. Multidisipliner bir bilim olan nanoteknoloji, fizik, kimya, biyoloji, bilgisayar, malzeme bilimi, elektronik gibi alanlarda kullanımının yanında tıp alanında da önem arz etmeye başlamıştır. Bunun yanısıra kozmetik, tarım ve medikal alanda da uygulamaları bulunmaktadır (Şekil 2,3).



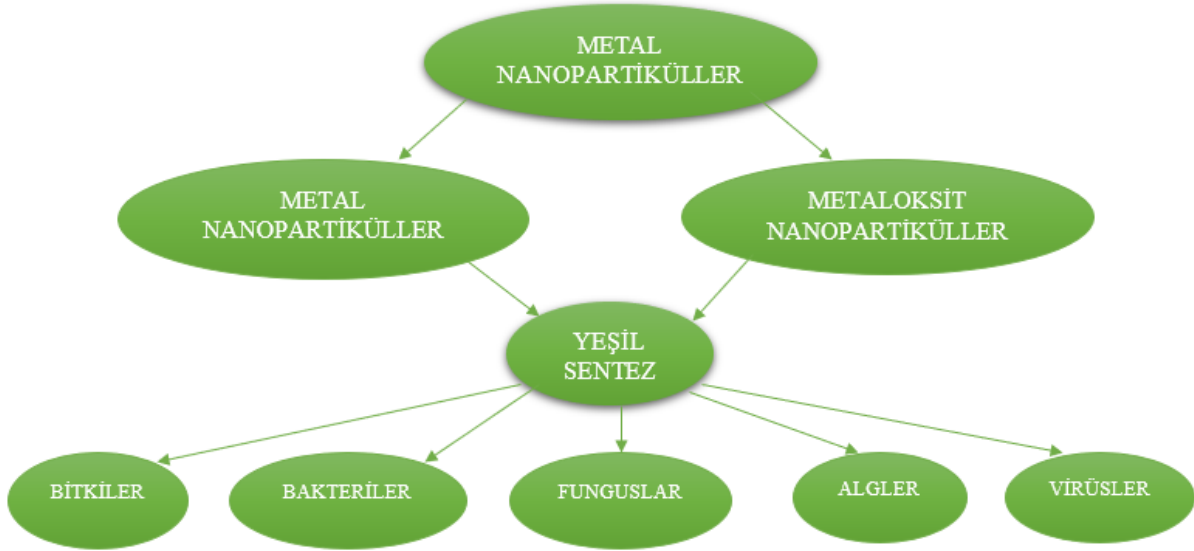
Şekil 2. Biyolojik yollarla sentezlenen nanopartiküller ve uygulama alanları [3]



Şekil 3. Çeşitli metal nanopartiküller ve bunların uygulama alanları [4]

3. YEŞİL NANOTEKNOLOJİ

Yapılan çalışmalardan elde edilmiş olan bulgular çevre yanlısı, düşük toksisite, canlı hücrelerden nanopartikül üretimini esas alan Yeşil Nanoteknoloji kavramının oluşmasını sağlamıştır. Bu kavram atık ürünlerin oluşturduğu sorunların çözülmesine yardımcı olan, insan sağlığı açısından risk teşkil etmeyen, pratik teknikleri, nanoteknoloji alanı içinde inceleyen çalışma teknikleri şeklinde ifade edilmektedir. Yeşil nanoteknoloji çalışmaları dahilinde yeşil bitki ekstraktları ve mikroorganizmalardan yaygın olarak yararlanılmaktadır (Şekil 4). Bu kapsamda pek çok canlıdan yararlanılmakla birlikte yeşil bitki ekstraktları örneklerinden bazıları *Aloe vera*, *Azadirachta indica*, *Camellia sinensis*, *Jatropha curcas* ve *Acalypha indica*'dır [2].



Şekil 4. Nanopartiküllerin yeşil sentezi için kullanılan biyolojik sistemler [4]

3.1. Bitkisel Nanopartikül Sentezi

Kolay ulaşılabilir ve yaygın olma özelliklerinden ötürü bitkilerden sentezlenerek hazırlanan nanopartiküller hızlı, kararlı ve ekonomik olarak anılmaktadır. Bitki ekstraktlarının metal iyonlarını indirgeyebilmeleri 20. yüzyılın başından beri bilinen bir özellik olmakla birlikte, indirgeme ajanlarının doğal mekanizmaları henüz bütünüyle anlaşılabilmiş değildir. *Acalypha indica*, *Allium sativum*, *Boswellia ovalifoliolata*, *Calotropis procera*, *Camelia sinensis* gibi tıbbi bitkiler gümüş nanopartikül üretiminde kullanılan bitkilerden bazılarıdır. Kinonlar ve protein gibi fitokimyasallar açısından güçlü içeriğe sahip bitkilerden elde edilen gümüş nanopartiküllerin daha kararlı yapıda kaldıkları bildirilmiştir [2].

İran'da endemik bitkiler arasında yer alan *Salvia limbata* ekstresinden gümüş nanopartikül (AgNP) sentezlenerek, elde edilen nanopartiküllerin toksik etkiyi ortadan kaldırıp, çevreyi koruyan nitelikte olduğu ifade edilmiştir. Toz şeklinde olan gümüş nanopartikül ekstrelerinden biyolojik sentezlemelerde çabuk bir şekilde yararlanılması pratik ve verimli olmasının dışında çevreci olmasını da sağlamaktadır. Bununla birlikte biyomedikal çalışmalarda farklı şekillerde kullanılabilmeleri, ekonomik olmaları, tıbbi ve medikal çalışmalara yatkınlığı dışında ticari ürün olma potansiyelini de barındırmaktadır. İlgili bir çalışmada elde edilen sonuçlar, *Argyria nervosa* tohum ekstreleri ile üretilmiş olan nanopartiküllerin funguslar ve bakteriler için güçlü bir antagonistik etki içerdiğini göstermiştir [2].

Diğer bir çalışmada elde edilen bulgular *Ficus benghalensis* yaprak özütü ile üretilen gümüş nanopartiküllerinin çevre dostu olma özellikleri taşıdığını, ayrıca proteinlerin amino gruplarının üretilen partiküllerin çözeltide stabil kalmasında belirgin görev üstlendiğini göstermiştir [2].

Son yıllardaki uygulamalarda bitkilerin metal tuzlarını indirgeme özelliği kullanılmaktadır. Gümüş nanopartiküllerin yapısal özelliklerinin uygun oluşu ve antimikrobiyal işlevselliği dışında hücredeki toksisiteyi azaltabilmesi de bu partiküllere has bir özelliktir. Rooibos çayı dışında *Argyreia cymosa* ile karanlıkta gerçekleştirilen bir araştırmada, çevreye duyarlı yeşil nanoteknolojiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* türleri ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı antimikrobiyal etkisi gösterilmiştir. Partikül sentezinde ortamda bulunan metal iyonunun da stabil bulunduğu belirlenmiştir [2].

A. cymosa gibi bitkilerden yeşil nanoteknolojiyle elde edilen gümüş nanopartiküllerin sahip oldukları etkili antimikrobiyal aktivite ile medikal alanlarda önemli bir potansiyel taşıdığı ifade edilmektedir [2] (Çizelge 1-2).

Çizelge 1. Biyolojik indirgeyicilerle elde edilen nanopartiküllerin disk difüzyon yöntemi ile yapılan bazı antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Biyolojik İndirgeyici	Organizma	NP	Boyut/Şekil	Mikroorganizma	Etkili Konsantrasyon	Referans
Bitki	Bambu	Ag	≤100 nm Küresel, üçgensel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	20-80 µL	[6]
Bitki	<i>Psidium guajava</i>	Ti	32 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	20 µg/mL	[7]
Bitki	<i>Gloriosa superba</i>	Ru	25-90 nm Altıgen	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	100 µL	[8]
Fungus	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Ag	≤40 nm Küresel	<i>P. aeruginosa</i> <i>B. subtilis</i>	13-27 µg/mL	[9]
Fungus	<i>Aspergillus clavatus</i>	Ag	550-650 nm	<i>S. epidermidis</i> <i>S. aureus</i>	10-15 µg/mL	[10]

Çizelge 2. Biyolojik indirgeyicilerle elde edilen nanopartiküllerin mikrodilüsyon MİK yöntemi ile yapılan bazı antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Biyolojik İndirgeyici	Organizma	NP	Boyut/Şekil	Mikroorganizma	Etkili Konsantrasyon	Referans
Bitki	Zeytin ağacı yaprakları	Ag	23 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>C. albicans</i>	0.11 µg/mL 0.03 µg/mL 0.03 µg/mL	[11]
Bitki	Tarımsal atık (Hindistan cevizi kabuğu)	Ag	14-22 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	26 µg/mL 53 µg/mL	[12]
Bitki	<i>Cichorium intybus</i>	Ag	19-64 nm Küresel	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	4.8 µL 8.4 µL	[13]
Bitki	<i>Capsicum annum L.</i>	Au	13 nm Piramit, Küresel	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i>	0.05 µL 0.22 µL	[14]

Gümüş nanopartiküllerin insanlarda patojen mikroorganizmalara ve çeşitli kanser hücre hatlarına ilişkin yapılmış toksisite çalışmalarında, yeni bir yaklaşımla antimikrobiyal ve antikanser ajan oluşumuna öncülük ettikleri bildirilmektedir [2].

3.2. Funguslarla Yapılan Nanopartikül Çalışmaları

Hindistan'da topraktan izole edilen *Fusarium oxysporum* ve farklı cins fungus izolatları kullanılarak gümüş nanopartikül sentezinin çok hızlı gerçekleştiği görülmüştür [2]. Nanopartiküllerin çeşitli biyolojik sistemler ile sentezi Çizelge 3'te verilmiştir.

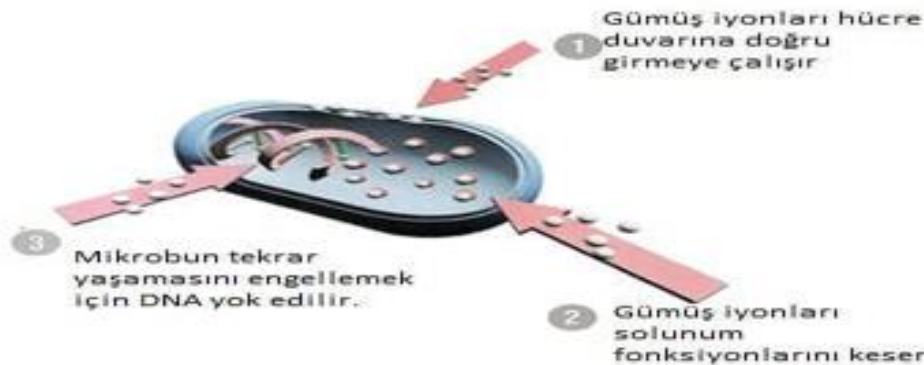
Çizelge 3. Nanopartiküllerin çeşitli biyolojik sistemler ile sentezi

Biyolojik Sistemler	Adı	NP	Referans
Bitki	<i>Pistacia terebinthus</i>	Ag	[15]
Alg	<i>Dunaliella salina</i>	Au	[16]
Bitki	<i>Capsicum annuum L.</i>	Au	[14]
Fungus	<i>Pleurotus eryngii</i>	Ag	[17]
Bakteri	<i>Rhodopseudomonas capsulata</i>	Au	[18]
Fungus	<i>Penicillium decumbens</i>	Ag	[19]
Bitki	<i>Prunus avium</i>	Au	[20]
Bitki	<i>Hypericum triquetrifolium</i>	Ag	[21]
Bitki	<i>Pistacia terebinthus</i>	Au	[22]

4. GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ

Geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliği sebebiyle gümüş iyonu çok uzun yıllardan beri farklı alanlarda kullanılmaktadır. Bilindiği üzere bakır, çinko, titanyum, altın gibi diğer metal iyonları da antimikrobiyal niteliğe sahiptir ancak bu alanda yapılmış olan çalışmalar bakteri, virüs ve diğer ökaryotik mikroorganizmalar için en yüksek etkinliğe sahip olan iyonun gümüş olduğunu kanıtlamıştır [2].

Gümüşün mikroorganizmaları yok etme sistematığı henüz netlik kazanmamış olsa da gümüşün ve sentezlenen nanopartiküllerinin prokaryot hücrede oluşturduğu morfolojik ve yapısal farklılıkların ele alınması ile bu sistematik netleştirilmeye çalışılmaktadır [2] (Şekil 5).



Şekil 5. Gümüş iyonlarının çalışma prensibi [1]

Gümüşün prokaryotlarda hücre membranıyla etkileşime girerek, sulfidril grubu içeren proteinlerle etkileşimi sonucunda bu proteinleri etkisizleştirdiği ve zar geçirgenliğini azaltmak yolu ile hidrojen katyonuyla yer değişikliği yaparak bakteri hücrelerini yok ettiği bir teoriyle ifade edilmektedir [2].

Gümüş (Ag) dört farklı iyonik formda bulunur. Bunlardan Ag^+ çözücülerde daha serbest halde kalabilirken, Ag^{+2} ve Ag^{+3} kararsız yapıdadır. Nanometre boyutundaki partiküllerde yüzey alanı arttığından antimikrobiyal etkileşimin de arttığı düşünülmektedir [2].

Ag^+ 'nin antimikrobiyal etki sistematiği; etki ettiği mikroorganizma tipine göre değişmekle beraber, absorpsiyon, akümülyasyon ve sitoplazmik zarın polaritesinin bozulması olarak ifade edilmektedir. Bu durumlarda hücre genetik materyali zarar göreceğinden ve +1 bir değerlikli gümüş iyonunun birikimine bağlı olarak hücrelerin çoğalabilme özelliklerinin ortadan kalktığı belirtilmektedir. Hücredeki proteinlerin inhibisyonunda gümüşün tiyol grupları ile etkileşimle olduğu ispat edilmiştir [2].

Ayrıca, prokaryot hücrelerden oksidasyonla gümüş nanopartikül sentezlenen çözeltilere eklenen O_2 'nin katalitik etkili olduğu bildirilmiştir. *E. coli* için denenen farklı büyüklükteki (3,3-6,6nm) gümüş nanopartiküllerin öngörülebilir MİK değerleri ile çoğalma inhibisyonu etkisinin derişimle bağımlı olduğu belirlenmiştir. Buna karşın *S. aureus* için, bu nanopartiküllerin yüksek konsantrasyonda dahi çoğalma üzerinde az bir inhibitör etki ortaya koyduğu tespit edilmiş ve sonuçlar kontrol antibiyotiğiyle kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir inhibisyon etkinin yer almadığı belirlenmiştir [2].

Gümüş nanopartiküllerin büyüme üzerine önleyici etkisi içerip içermediğinin tespit edilmesi amacıyla, yaklaşık otuz nm'lik altın nano-tanecikleriyle denemeler yapılmıştır. Bununla birlikte metal olarak kullanılan altın nanopartiküllerinin deney şartlarında, denenen farklı mikroorganizma gruplarına karşı herhangi bir inhibisyon etkisine sahip olmadığı yine bu araştırmacılarca belirlenmiştir [2].

5. BAKTERİLERLE METAL NANOPARTİKÜL BİYOSENTEZİ

Bakteriler aracılığı ile nanopartiküllerin sentezine dair çeşitli çalışmalar olsa da sentezin mekanizması tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Sentez, konumuna göre hücre içi (intraselüler) ve hücre dışı (ekstraselüler) olarak kategorize edilmektedir [5].

5.1. Bakteriyel Nanopartiküllerin Hücre İçi Biyosentezi

Bazı metallerin birtakım bakterilere toksik etki gösterdiği bilinmektedir. Bununla birlikte, toksik metallerin varlığında gelişme yeteneğinde olan bakteriler de mevcuttur. Metal varlığında gelişebilen bu bakterilerin söz konusu metalleri hücre içinde daha az toksik olan nanopartiküllere indirgeyerek hücreye toksisite direnci kazandırdıkları bildirilmiştir [5]. Sentez sitoplazma veya sitozolda gerçekleşir.

Metal iyonlarının metal nanopartiküllere indirgenmesi için redoks sentez mekanizmasında ortamda elektron taşıyıcı bir sistemin bulunması gerekmektedir. Bu hedefle bakterilerin enzimler, tiyoller ve hidrokionlar gibi redoks bileşiklerini salgıladıkları belirlenmiştir. Bakteriyel nanopartiküllerin hücre içi üretim mekanizmasının, iyonların bulunduğu ortamdan bakteri hücresinin içine çoğunlukla enzimler aracılığıyla taşınması şeklinde olduğu bildirilmiştir [5].

Pozitif yüklü metal iyonları ile negatif yüklü hücre duvarı arasındaki elektrostatik etkileşim neticesinde gerçekleşen mekanizmada, bakterinin hücre duvarı önemli bir role sahiptir [5]. Yapılan çalışmalar, NADH ve NADPH bağımlı nitrat redüktaz enzimlerinin metal nanopartiküllerinin sentezinde önemli role sahip olduğunu göstermiştir. Oldukça yüksek bir redoks potansiyeline sahip olan nitrat redüktaz enzimi, metal iyonlarının indirgenmesinde elektron taşıyıcısı olarak görev yapmaktadır. *Bacillus thuringiensis* tarafından gümüş nanopartiküllerinin hücre içi sentezi sırasında nitrat redüktazın gümüş iyonlarını nanoboyuta indirgediği belirlenmiştir [5].

Araştırmacılar, gümüş iyonlarının öncelikle hücre membranındaki porin adı verilen kanallardan veya elektromotor kuvvetlerin etkisiyle hücre içine girdiğini, daha sonra hücre içinde NADH'nin NAD^+ 'ye dönüşmesiyle sonuçlanan bir elektron alımı ile elementel gümüşe indirgeniğini saptamışlardır [5]. Hücre içi sentezin akış diyagramı aşağıda gösterilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Nanopartiküllerin hücre içi sentezlerinin şematik akış diyagramı [3]

Bu dönüşümde gümüş iyonlarını yüksek bağlama kapasitesine sahip tiyol(-SH) içeren proteinlerin de önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Ortamda indirgen özelliğe proteinlerin bulunmaması durumunda hücrenin öldüğü; bu nedenle metallerin indirgenmesinin sadece NADH bağımlı reduktaz enzimleri ile mümkün olduğu belirtilmiştir [5].

Selenitin (SeO_3^{2-}) selenyum nanopartiküllerine indirgenmesinde de benzer şekilde periplazmik nitrat reduktaz enziminin veya glutatyon gibi hücre içi reaktif tiyollerin rol oynadığı bildirilmiştir. Selenitin protein ve/veya peptitlerin tiyol grupları aracılığı ile nanopartiküllere indirgenmesinin oksianyonların genel detoksifikasyon reaksiyonlarını ifade eden Painter-tipi reaksiyonlardan olduğu belirlenmiştir [5].

Bacillus mycooides ile yapılan bir çalışmada ise hücre içinde sentezlenerek biriken bu nanopartiküllerin hücre lizisi ile hücre dışına çıktığı belirlenmiştir. Nanopartiküllerin biyosentezinde görev alan proteinler ile birlikte ortamda bulunan vitamin ve polisakkarit gibi bazı organik moleküllerin nanopartikül yüzeylerini kaplayarak partiküllerin serbest enerjilerinin düşmesini sağladığı belirlenmiştir [5].

Nanopartiküllerin geri kazanımındaki güçlükler ve yüksek maliyeti nedeni ile hücre içi biyosentez çok tercih edilmemektedir [5]. Başta *Bacillus* cinsi olmak üzere *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Magnetospirillum*, *Clostridium* cinslerine ait türlerin çeşitli nanopartikülleri sentezleme yeteneğinde oldukları bildirilmiştir [5].

Bakteriler tarafından hücre içi olarak sentezi gerçekleştirilen nanopartiküller arasında altın, gümüş, selenyum, paladyum, demir oksit, magnetit, kadmiyum sülfür, çinko sülfür ve çinko oksit bulunmaktadır [5](Çizelge 4).

Çizelge 4. Bazı bakteriler tarafından hücre içi üretilen nanopartiküller ve morfolojik özellikleri

Bakteri Adı	NP Çeşidi	Boyut (nm)	Şekil	Referans
<i>B. mycooides</i>	Selenyum	50-400	Küresel	[23]
<i>Bacillus</i> sp. MSh-1	Selenyum	50-220	Küresel	[24]
<i>B. cereus</i>	Selenyum	150-200	Küresel	[25]
<i>B. cereus</i>	Kadmiyum	30-200	Nanokompozit	[26]
<i>B. licheniformis</i>	Kadmiyum	5	Küresel	[27]
<i>B. thuringiensis</i>	Gümüş	10-30	Küresel	[28]
<i>E. coli</i>	Kadmiyum sülfür	2-5	-	[29]
<i>L. kimchicus</i> DCY51	Altın	5-30	Küresel	[30]

5.2. Bakteriyel Nanopartiküllerin Hücre Dışı Biyosentezi

Hücre içi sentezlenen nanopartiküllerin geri kazanımında ortaya çıkan dezavantajlar, hücre dışı sentez yollarını daha ilgi çekici hale getirmiştir. Geri kazanım kolaylığı, bu yolla üretimin maliyetinin hücre içi senteze göre daha düşük olmasını sağlamaktadır.

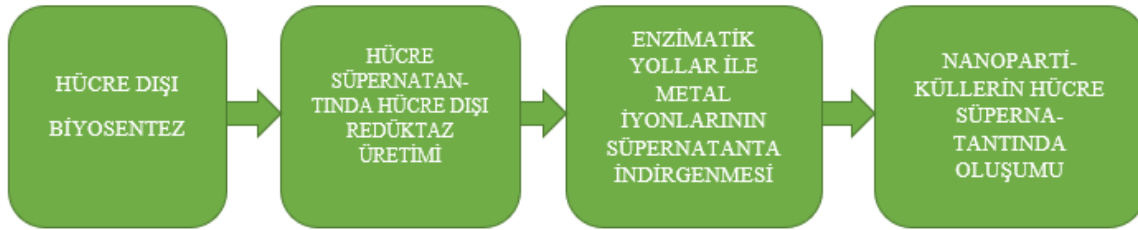
Hücre dışı nanopartikül sentezinde iki farklı yol izlenebilmektedir:

1. Bakteri uygun koşullarda geliştirildikten sonra hücreler ortamdan uzaklaştırılmakta ve elde edilen supernatant ile nanopartikül üretimi gerçekleştirilmektedir. Oluşan nanopartiküllerin geri kazanımı; santrifüj yardımıyla nanopartiküllerin çöktürülmesi ve sonrasında yıkanıp kurutulması şeklinde olmaktadır [5].

2. Uygun besi ortamında geliştirilen bakteri kültürü santrifüjlenip yıkandıktan sonra distile suda süspansiyon edilip metal çözeltisi ile uygun koşullarda inkübe edilmektedir. Elde edilen nanopartiküller ve hücreler santrifüj ile ayrılmaktadır [5].

Metal nanopartiküllerin bakteriler ile hücre dışı üretim mekanizması da tam olarak aydınlatılamamakla birlikte pek çok araştırma, burada da hücre içi sentezde olduğu gibi özellikle enzimlerin aracılık ettiği bir mekanizmanın olduğu ortaya koymuştur [5] (Şekil 7).

Doğrudan bakteri kullanılarak gerçekleştirilen hücre dışı kadmiyum sülfür nanopartiküllerinin sentezinde ortamda bulunan metallerin etkisi ile metal stresine maruz kalan bakterinin metalleri detoksifiye etmek amacıyla hücre dışına birtakım enzimler/proteinler salgıladığını bildirilmiştir [5]. Nitrat redüktaz enziminin yanında, bakterinin gelişmesi ile oluşan ortamdaki peptid hidrolizatlarının da gümüş iyonlarının indirgenmesine yardımcı oldukları belirtilmiştir [5].



Şekil 7. Nanopartiküllerin hücre dışı sentezlerinin şematik akış diyagramı [3]

Çeşitli araştırmacılar tarafından başta gümüş ve altın olmak üzere, titanyum dioksit, demir oksit, kadmiyum sülfür, bakır, kurşun ve çinko oksit gibi metal nanopartiküllerinin üretimi hücre dışı yollarla başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir [5]. Hücre dışı biyosentezi yapılan çeşitli nanopartiküller, kullanılan bakteri ve oluşan nanopartiküllerin çeşitli morfolojik özellikleri Çizelge 5’ de verilmiştir.

Çizelge 5. Bazı bakteriler tarafından hücre dışı üretilen nanopartiküller ve morfolojik özellikleri

Bakteri Adı	NP Çeşidi	Boyut (nm)	Şekil	Referans
<i>B. subtilis</i>	Titanyum	66-77	Küresel Oval	[31]
<i>B. cereus</i>	Bakır	11-33	Küresel	[32]
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Çinko	57	Küresel	[33]
<i>B. safensis LAU13</i>	Altın	10-45	Küresel	[34]
<i>R. capsula</i>	Altın	10-20	Küresel	[18]
<i>B. safensis LAU13</i>	Gümüş	5-95	Küresel	[35]
<i>B. methylotrophicus</i>	Gümüş	10-30	Küresel	[36]
<i>Bacillus sp. AZ1</i>	Gümüş	7-31	Küresel	[37]
<i>Bacillus sp. CS11</i>	Gümüş	42-92	Küresel	[38]
<i>V. guangxiensis</i>	Gümüş	10-40	Düzensiz küresel	[39]
<i>A. amyloliquefaciens</i>	Gümüş	14,6	Dairesel Üçgen	[40]
<i>B. subtilis</i>	Demir oksit	60-80	Küresel	[41]

6. TARTIŞMA

Nano boyutlu üretilen partiküllerin pek çok kullanım alanı bulunmaktadır. Bu partiküllerin farklı elde etme yöntemleri mevcuttur. Çevre dostu indirgeyici ajan olarak biyolojik sistemlerin kullandığı yöntemler büyük ilgi görmektedir [42]. Biyoyumlu ve düşük sitotoksiteli olmak biyomedikal süreçlerde yer alan nanopartiküller için bir zorunluluktur. Biyojenik teknikler aracılığıyla üretilen nanopartiküller fizikokimyasal üretilen nanopartiküller ile karşılaştırıldığında, fizikokimyasal oluşum esnasında nanoyapılara tutunan istenmeyen oluşumların toksik yapıları biyomedikal süreçler için bir sınırlılık oluşturmaktadır [3].

Başta pratik ve çevreci üretim tekniklerine sahip olmaları, elde edilen partiküllerin ekonomik ve biyoyumlu içerikleri nanopartiküllerin yeşil nanoteknoloji ile sentezinde pek çok avantajı da beraberinde getirmektedir.

Bunların dışında, yeşil bitkiler ve prokaryot gibi canlı sistemleri kendiliğinden kaplamaları ve stabilizasyon şeklindeki mobilite sistemleri nedeniyle biyolojik yöntemle üretilen nanopartiküller stabilize edici farklı ajanlara gereksinim duymamaktadır [3].

Fizikokimyasal sentezde nanopartiküllerin aktive edilebilmesi için yüzeylerine kimi fonksiyonel grupların dahil olması zorunlu iken biyolojik sentezlerde bu zorunluluğun olmaması diğer bir önemli avantajdır. Ayrıca, biyolojik sentez için ihtiyaç duyulan zaman fizikokimyasal senteze göre daha azdır. Fizikokimyasal nanopartiküllere göre biyolojik nanopartiküllerin etkinliğinin daha fazla olmasından ötürü bu partiküller antikanser ve antimikrobiyal çalışmalar dahil olmak üzere çeşitli biyomedikal süreçlerde kullanılmaktadır [3]. NP'lerin özellikle mikroorganizmalar aracılığıyla sentezi, redoks temelli savunma mekanizmasına dayalı detoksifikasyonun bir parçası olarak aşağıdan yukarıya yaklaşımlı çeşitli metal iyonlarının sentezini kapsamaktadır [43]. Metalik NP'ler, gram pozitiflere oranla Gram negatif bakterilere karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirler. Bu aktivite, NP'lerin bakteri hücre duvarına yapışmasına izin veren lipopolisakarit (LPS)'nin negatif yüküne atfedilebilir. Pozitif yüklü nanopartiküller bu çekim yoluyla, bakteriyel hücre duvarı ile etkileşime girerek, hücre

zarının geçirgenliğini ve hücre bütünlüğünü bozarak bakterinin ölümüne neden olurlar. İlginç bir şekilde, hücrenin organik bileşikleri (protein, nükleik asit vs.) hücre zarından dışarı kaçarak hücrenel aktiviteyi ters yönde etkiler. Bu yüzden, bakteri hücre duvarı ve hücre zarının NP'lerin yapışmasına bağlı olarak bozulması, antimikrobiyal aktivite için ilk gösterge olarak kabul edilmektedir [44]. Diğer yandan Ghosh ve arkadaşları (2012) nanopartiküllerin bakteri dış zarındaki proteinlerle etkileşime girerek, hücre duvarında zararlı değişikliklere neden olduklarını bildirmişlerdir [45].

Mukherjee ve arkadaşları (2003) tarafından yapılmış olan antikanser çalışmasında, *Olex scandens* yaprağından üretilen gümüş nanopartiküllerle ilaç dağıtımı, biyoyumluluk ve görüntüleme, hızlandırıcı gibi özellikler yönünden kimyasal şekilde elde edilen nanopartiküllere göre daha güçlü sonuçlar elde edilmiştir. Partiküllerin ebat ve biçimlerinin sonuçlarla bağlantılı olduğu da gösterilmiştir. Bununla birlikte nanopartiküller mitokondri ve kaspaz ile ilişkili yollar ile apoptozis ortaya çıkarabilmektedir [3]. Araştırmacılar, 30 nm' lik biyolojik sentezli nanopartiküllerin %96,67 antibakteriyel aktivite gösterdiğini, ancak kimyasal şekilde elde edilen nanopartiküllerin aynı konsantrasyonda anlamlı etkiye sahip olmadığını kanıtlamışlardır [3].

Başka bir çalışma sonucunda, *Desmodium gangeticum*'dan üretilen biyolojik nanopartiküllerin, kimyasal şekilde sentezlenen nikel nanopartiküllerine göre epitel hücre hatlarında daha tekil dağılıma sahip olduğunu ve daha fazla antioksidan, antibakteriyel ve biyoyumlu aktiviteleri içerdiği ileri sürülmüştür. Farklı bir çalışmada, biyolojik sentezlenen çinko nanopartiküllerinin, kimyasal sentezlenen çinko 23 nanopartiküllerine göre *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium* ve *B. subtilis*'e karşı daha fazla antimikrobiyal potansiyelini içerdiği belirtilmiştir [3].

Antikanser ve antimikrobiyal aktivitelerin yanı sıra biyosensörlerin hazırlanmasında biyomedikal süreçlerde yer alan nanopartiküllerin işlevselliğinin daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır [3].

Biyolojik metal nanopartiküllerin etkinliği fazla ve beraberinde biyoyumlu karakteristiği nedeni ile biyolojik nanopartiküllerin, ihtiyaç duyulan ilaç dozunu azaltan ve fazla ilaç miktarının yan etkilerini engelleyen, bazı hücrelere karşı ilaç dağıtımının hızını arttırarak herhangi bir antikanser ilaç etkisini oluşturabileceği öngörülmüştür. Bununla birlikte, yeşil teknolojiyle üretilen partiküller foto görüntüleme ve termal tedavilerde fizyokimyasal metotlarla sentezlenen altın ve demir nanopartiküllerin görevlerini devralabilirler [3].

Tüm bunların dışında, biyolojik nanopartiküllerden kozmetik ve tıbbi süreçlerde de yararlanılması mümkündür. Gümüş nanopartiküllerin sahip oldukları antimikrobiyal etkiler nedeniyle genellikle bu partiküllerden tıbbi uygulamalarda yararlanılmakta; çinko ve titanyum nanopartiküller ise kozmetik sektöründe öne çıkmaktadır. Gümüş, çinko ve diğer metal nanopartiküllerin antimikrobiyal etkileri bu partiküllerden gıda ambalajlamada, yara pansumanları, ilaç salınımda yararlanılmasını mümkün kılmaktadır [3].

Biyolojik nanopartiküllerden yararlanılan başka bir saha da çevresel unsurlar ve tarım ile ilişkili biyomoleküller için sensör tasarlanmasıdır. Bunun dışında, nanopartiküllerden bitkiler için ve tıp alanında gen transportu ve hücre etiketleme amacıyla yararlanılmaktadır. Fotogörüntüleme, fototermal tedavi ve manyetik açıdan duyarlı ilaç verimi gibi metal nanopartiküllere ait kimi çalışmalar ise geliştirilmeye devam etmektedir [3].

Sonuç olarak, her süreçte biyolojik sistemler adeta nanoteknolojik fabrikalar gibi çalışmaktadır. Nanopartiküllerin biyolojik sistemlerdeki davranışını anlamak, özellikle medikal alanda tedavi geliştirmek için yeni yollar açmakta ve bu da güvenli nanoteknolojinin geliştirilmesi için gerekmektedir. Bu bilgiler ışığında nanoteknoloji ile sağlanan ilerlemeler sayesinde vaat edilenden daha fazla avantaj elde edilmeye devam edilecektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Kıyar, Şule. (2020). Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etkinliğinde Nanopartikül Boyut Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya. 33.
- [2] Beykaya, Ç. ve Çağlar A. (2016). Bitkisel Özütlere Kullanılarak Gümüş-Nanopartikül (AgNP) Sentezlenmesi ve Antimikrobiyal Etkinlikleri Üzerine Bir Araştırma. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 3, 631 – 641.
- [3] Hammamchi, Hamideh. (2019). Biyolojik Yollar ile Sentezlenen Organik / İnorganik Nanopartiküllerin Bioaktivitelerinin Belirlenmesi ve Tedavi Amaçlı Kullanımları. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara 166.
- [4] Akgül, Hasan. (Ed.).(2020). Fen Bilimleri ve Matematik Alanında Akademik Çalışmalar. Ankara: Gece Kitaplığı, 3-10.
- [5] Akçay, F.A. ve Avcı, A. (2018). Bakteriyel Yollarla Metal Nanopartiküllerin Sentezi, Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 6(4), 408-414.
- [6] Yasin, S., Lui, L., & Yao, J. (2013). Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Bamboo Leaves Extract and Their Antimicrobial Activity. Journal of Fiber Bioengineering and Informatics I(March), 77-84.
- [7] Santhoshkumar, T., Rahuman, A. A., Jayaseelan, C., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Kirthi, A. V., Kim, S. K. (2014). Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Psidium guajava* extract and its antibacterial and antioxidant properties. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 7(12), 968-976.
- [8] Gopinath, K., Karthika, V., Gowri, S., Senthilkumar, V., Kumaresan, S., & Arumugam, A. (2014). Antibacterial activity of ruthenium nanoparticles synthesized using *Gloriosa superba* L. Leaf extract. Journal of Nanostructure in Chemistry, 4(1), 83.
- [9] Al-Bahrani, R., Raman, J., Lakshmanan, H., Hassan, A. A., & Sabaratnam, V. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using tree oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* and its inhibitory activity against pathogenic bacteria. Materials Letters, 186, 21-25.
- [10] Saravanan, M., & Nanda, A. (2010). Extracellular synthesis of silver bionanoparticles from *Aspergillus clavatus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 77(2), 212-214.
- [11] Baran, M.F., Saydut, A., Umaz, A., (2019). Gümüş Nanomalzeme Sentezi ve Antimikrobiyal Uygulamaları, Dicle Üniversitesi Mühendislik Dergisi. 10 (2), 689–695.
- [12] Sinsinwar, S., Sarkar, M.K., Suriya, K.R., Nithyanand, P., & Vadivel, V. (2018). Use of agricultural waste (coconut shell) for the synthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial activity against selected human pathogens. Microbial Pathogenesis, 124: 30-37.
- [13] Gallucci, M.N., Fraire, J.C., Ferreyra Maillard, A. P. V, Pez, P. L., Aiassa Martnez, I. M., Pannunzio Miner, E. V., Dalmaso, P.R. (2017). Silver nanoparticles from leafy green extract of Belgian endive (*Cichorium intybus* L. Var. Sativus): Biosynthesis, characterization and antibacterial activity. Materials Letters, 197, 98-101.
- [14] Baran, M.F., Acay, H., Keskin, C. (2020). Determination of Antimicrobial and Toxic Metal Removal Activities of Plant-Based Synthesized (*Capsicum annuum* L. Leaves), Ecofriendly, Gold Nanomaterials. Global Challenges, 4(5): 1900104.
- [15] Baran, M.F. (2019). *Prunus avium* kiraz yaprağı özütü ile gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi ve antimikrobiyal etkisinin incelenmesi, DUMF Mühendislik Dergisi, 10:1, 221-227.
- [16] Singh, A.K., Garg, A., Pandit, S., Mokkaleti, V.R.S.S., Mijakovic, I. (2018). Antimicrobial Effects of Biogenic Nanoparticles, Nanomaterials(Basel) 8(12):1009.
- [17] Acay, H., Baran, M.F. (2019). Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using King Oyster (*Pleurotus Eryngii*) Extract: Effect on Some Microorganisms, App Eco Environ Research 17(4), 9205-9214.
- [18] He S, Guo Z, Zhang Y, Zhang S, Wang J, Gu N. (2007). Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using the Bacteria *Rhodospseudomonas capsulata*. Materials Letters, 61(18): 3984-3987.
- [19] S, Majeed, Mohd Syafiq bin Abdullah I, Gouri Kumar Dash I, Mohammed Tahir Ansarş 1, A.N.2. (2016). Biochemical synthesis of silver nanoparticles using filamentous fungi *Penicillium decumbens* and its efficacy against A-549 lung cancer cell line. Chinese Journal of Natural Medicines, 14(8), 615-620.
- [20] Baran, M.F., Acay, H., (2019) Kiraz Yaprak Özütü (*Prunus avium*) Kullanılarak Altın Nanopartikül Sentezi ve Karakterizasyonu. International Journal of Mathematic, Engineering and Natural Sciences, 9,1-7.
- [21] Umaz, A., Koç, A., Baran, M. F. Keskin, C., Atalar, M.N. (2019). *Hypericum Triquetrifolium Turra* Bitkisinden Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Etkinliğinin İncelenmesi, Journal of the Institute of Science and Technology, 9(3), 1467-1475.
- [22] Baran, M.F., Saydut, A., (2019) Altın nanomalzeme sentezi ve karakterizasyonu. Dicle Üniversitesi Mühendislik Dergisi, 3,1033-1040.

- [23] Lampis S, Zonaro E, Bertolini C, Bernardi P, Butler CS, Vallini G. (2014). Delayed Formation of Zero-Valent Selenium Nanoparticles by *Bacillus mycoides* SelTE01 as a Consequence of Selenite Reduction Under Aerobic Conditions. *Microbial Cell Factories*, 13(1): 35.
- [24] Beheshti N, Soflaei S, Shakibaie M, Yazdi MH, Ghaffarifar F, Dalimi A, Shahverdi AR. (2013). Efficacy of Biogenic Selenium Nanoparticles Against Leishmania Major: In Vitro and In Vivo Studies. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 27(3), 203-207.
- [25] Dhanjal S, Cameotra SS. (2010). Aerobic Biogenesis of Selenium Nanospheres by *Bacillus cereus* Isolated from Coalmine Soil. *Microbial Cell Factories*, 9(1): 52.
- [26] Harikrishnan H, Shine K, Ponnurugan K, Moorthy IG, Kumar RS (2014). In Vitro Eco-Friendly Synthesis of Cadmium Sulfide Nanoparticles Using Heterotrophic *Bacillus cereus*. *Journal of Optoelectronic and Biomedical Materials*, 6(1): 1-7.
- [27] Tripathi RM, Bhadwal AS, Singh P, Shrivastav A, Singh MP, Shrivastav BR. (2014) Mechanistic Aspects of Biogenic Synthesis of CdS Nanoparticles Using *Bacillus licheniformis*. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 5(2): 025006.
- [28] Nayak PS, Arakha M, Kumar A, Asthana S, Mallick BC, Jha S. (2016). An Approach Towards Continuous Production of Silver Nanoparticles Using *Bacillus thuringiensis*. *RSC Advances*, 6(10): 8232-8242.
- [29] Sweeney RY, Mao C, Gao X, Burt JL, Belcher AM, Georgiou G, Iverson BL. (2004). Bacterial Biosynthesis of Cadmium Sulfide Nanocrystals. *Chemistry and Biology*, 11(11): 1553- 1559.
- [30] Markus J, Mathiyalagan R, Kim YJ, Abbai R, Singh P, Ahn S, Yang DC. (2016). Intracellular Synthesis of Gold Nanoparticles with Antioxidant Activity by Probiotic Lactobacillus Kimchicus DCY51 T Isolated from Korean Kimchi. *Enzyme and Microbial Technology*, 95: 85-93
- [31] Kirthi AV, Rahuman AA, Rajakumar G, Marimuthu S, Santhoshkumar T, Jayaseelan C, Bagavan A. (2011). Biosynthesis of Titanium Dioxide Nanoparticles Using Bacterium *Bacillus subtilis*. *Materials Letters*, 65(17): 2745- 2747.
- [32] Tiwari M, Jain P, Hariharapura RC, Narayanan K, Bhat U, Udupa N, Rao JV. (2016) Biosynthesis of Copper Nanoparticles Using Copper-Resistant *Bacillus cereus*, A Soil Isolate. *Process Biochemistry*, 51(10): 1348-1356.
- [33] Jayaseelan C, Rahuman AA, Kirthi AV, Marimuthu S, Santhoshkumar T, Bagava A, Rao KB. (2012). Novel Microbial Route to Synthesize ZnO Nanoparticles Using *Aeromonas hydrophila* and Their Activity Against Pathogenic Bacteria and Fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 90: 78-84.
- [34] Ojo SA, Lateef A, Azeez MA, Oladejo SM, Akinwale AS, Asafa TB, Beukes LS. (2016). Biomedical and Catalytic Applications of Gold and Silver-Gold Alloy Nanoparticles Biosynthesized Using Cell-Free Extract of *Bacillus safensis* LAU 13: Antifungal, Dye Degradation, Anti-Coagulant and Thrombolytic Activities. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 15(5): 433-442.
- [35] Lateef A, Ojo SA, Oladejo SM. (2016). Anti-Candida, AntiCoagulant and Thrombolytic Activities of Biosynthesized Silver Nanoparticles Using Cell-Free Extract of *Bacillus safensis* LAU 13. *Process Biochemistry*, 51(10): 1406-1412.
- [36] Wang C, Kim YJ, Singh P, Mathiyalagan R, Jin Y, Yang DC. (2016). Green Synthesis of Silver Nanoparticles by *Bacillus methylotrophicus*, and Their Antimicrobial Activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(4): 1127-1132.
- [37] Deljou A, Goudarzi S. (2016). Green Extracellular Synthesis of the Silver Nanoparticles Using Thermophilic *Bacillus* Sp. AZ1 and its Antimicrobial Activity Against Several Human Pathogenetic Bacteria. *Iranian Journal of Biotechnology*, 14(2), 25-32.
- [38] Das VL, Thomas R, Varghese RT, Soniya EV, Mathew J, Radhakrishnan EK. (2014) Extracellular Synthesis of Silver Nanoparticles by the *Bacillus* Strain CS 11 Isolated from Industrialized Area. *3 Biotech*, 4(2): 121-126.
- [39] Du J, Yi TH. (2016). Biosynthesis of Silver Nanoparticles by *Variovorax guangxiensis* THG-SQL3 and Their Antimicrobial Potential. *Materials Letters*, 178: 75-78.
- [40] Wei X, Luo M, Li W, Yang L, Liang X, Xu L, Liu H. (2012). Synthesis of Silver Nanoparticles by Solar Irradiation of Cell-Free *Bacillus amyloliquefaciens* Extracts and AgNO₃. *Bioresource Technology*, 103(1): 273-278.
- [41] Sundaram PA, Augustine R, Kannan M. (2012). Extracellular Biosynthesis of Iron Oxide Nanoparticles by *Bacillus subtilis* Strains Isolated from Rhizosphere Soil. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(4): 835-840.
- [42] Baran A. (2021). Eco-friendly, rapid synthesis of silver nanomaterials and their use for biomedical applications. *Dicle University Journal of Engineering*, 12(2): 329-336.
- [43] Rónavári A, Igaz N, Adamecz DI, Szerencsés B, Molnar C, Kónya Z, Pfeiffer I, Kiricsi M. (2021). Green Silver and Gold Nanoparticles: Biological Synthesis Approaches and Potentials for Biomedical Applications. *Molecules*, 26, 844.

[44] Salem S, Fouda A. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *Biological Trace Element Research*, 199:344–370.

[45] Ghosh S, Patil S, Ahire M, Kitture R, Kale S, Pardesi K, Cameotra SS, Bellare J, Dhavale DD, Jabgunde A (2012). Synthesis of silver nanoparticles using *Dioscorea bulbifera* tuber extract and evaluation of its synergistic potential in combination with antimicrobial agents. *International Journal of Nanomedicine*, 7:483.

Polimer Kompozitlerin Üretiminde Elyaf Oryantasyonunun Etkileri

Cemil Çetinkaya^{1*}, Ruşen Sözer²¹Gazi Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği, Ankara, Türkiye²Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Metalurji ve Malzeme Mühendisliği, Ankara, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Karbon elyaf kompozit plakaların oluşumunda, elyaf dizilim açılarının önemi.
- Karbon elyaf kompozit plakaların mekanik birleştirilmesi.
- Karbon elyaf takviyeli kompozit plakaların üretimi.
- Karbon elyaf kompozit plakaların test yöntemleri.

Makale Bilgileri

Geliş: 10.05.2021

Kabul: 31.05.2021

Anahtar Kelimeler

Prepreg, Kompozit, Karbon Elyaf, Otoklav, Reçine

Özet

Bu çalışmada, tek yönlü karbon elyaf malzeme olan reçine emdirilmiş prepreg karbon kumaşlar kullanılmıştır. Prepreg karbon kumaşlardan laminat plaka üretimi için, alüminyum 7075 kalıp malzemeleri kullanılarak ve prepreg karbon elyaf standartlarına göre belirlenen otoklav reçetesi uygulanarak, küreleme işlemi yapılmıştır. Otoklav süreci tamamlanan kompozit plakalar ile 8 kat kumaş kullanılarak 1.9 ± 1 mm kalınlıkta ve yaklaşık %58 lif hacimsel oranına ulaşacak şekilde kompozit karbon elyaf laminatların üretimi gerçekleştirilmiştir. Test işlemleri için 5 adet farklı elyaf dizilimleri içeren kompozit plakaların her birinden 12 adet numune alınmıştır. Toplam olarak 60 numune ASTM D953 standartlarına uygun olarak hazırlanmış ve yine bu standartlara göre test aparatları üretilerek test işlemleri yapılmıştır. Kompozit plakaların içerdikleri elyaf dizilimlerine göre gruplandırılması yapılan numuneler ilk olarak tahribatsız muayeneye tabi tutulmuştur. Tahribatsız muayene işleminde SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) görüntüleri alınan numunelerde serim süreci ve sonrası oluşabilecek hatalar gözlenmiştir. Ayrıca, kompozit malzemelere ASTM D953 standartlarına uygun olarak çekme testi uygulanmış ve dizilim farklılıklarının oluşturduğu grafikler yorumlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda elyaf oryantasyonunun istif açılarının değiştirilmesi ile mekanik dayanımın artırılacağı gösterilmiştir.

The Effects of Fiber Orientation on The Mechanical Joining of Polymer Composites

Highlights

- The importance of fiber array angles in the formation of carbon fiber composite plates.
- Mechanical joining of carbon fiber composite plates.
- Production of carbon fiber reinforced composite plates.
- Test methods of carbon fiber composite plates.

Article Info

Received: 10.05.2021

Accepted: 31.05.2021

Keywords

Prepreg, Composite, Carbon Fiber, Autoclave, Resin

Abstract

In this study, resin-impregnated prepreg carbon fabrics that is a unidirectional carbon fiber material, were used. The curing process was completed by using aluminum alloy 7075 mold materials and applying the autoclave prescription determined according to prepreg carbon fiber standards for laminate plate production from prepreg carbon fabrics. The composite plates, whose autoclave process was completed, were used to produce composite carbon fiber laminates by 8 layers of fabric with a thickness of 1.9 ± 1 mm and a fiber volume ratio of approximately 58%. For testing, 12 samples were taken from different composite plates containing 5 different fiber arrays. A total of 60 samples were prepared in accordance with ASTM D953 standards, and in the same way, test apparatus was produced in accordance with ASTM D953 standards and tested. The samples, which were grouped according to the fiber arrays of the composite plates, were first subjected to non-destructive testing and control. SEM (Scanning Electron Microscopy) images of the samples were taken non-destructively, and errors that may occur during and after the laying process were observed. It was subjected to the tensile test destructively in accordance with ASTM D953 standards and the graphics created by the sequence differences were interpreted one by one. As a result, it has been shown that the mechanical strength can be increased by changing the stacking angles of the fiber orientation.



1. GİRİŞ

Kompozit malzeme insanlık tarihi boyunca yapı malzemelerinin kullanıldığı alanlarda insanoğlunun yıllarca problemlerini çözmek amacı ile farklı malzemelerin makro ölçekte bir araya getirilerek problemlerini çözdükleri malzemeler olmuştur [1]. Kompozit malzemeler; benzer veya benzer olmayan en az iki farklı malzemenin belirli bir amaç ile bir araya gelmesi sonucu oluşur. Bir araya gelen bu malzemeler, her bir bileşenin kendi özelliğini yapıda sergilemesiyle yeni bir malzeme ortaya çıkarmaktadır. Kompozit malzemeler genel olarak iki fazdan oluşmaktadır. Birincil faz matriks fazıdır ve bu faz genel olarak düşük dayanıma sahiptir. Kompozit malzeme içerisinde matriks fazı kompozit elemanlarını bir arada tutma, yükü bileşenlere dağıtma ve çevresel etkilerden koruma görevlerini yerine getirmektedir. İkincil faz ise takviye fazıdır. Bu faz genel olarak takviye fazı olarak bilinir ve oluşturulan kompozit malzemeye yüksek dayanım sağlayan fazdır. Kompozit malzeme makro ölçekte bağdaşık özellik gösterse de mikro boyutlarda ayrışik özellikler göstermektedir [2].

Kompozit malzemelerin sınıflandırılması, matriks fazı ve takviye fazı olarak birçok duruma göre sınıflandırılabilir. Kompozit malzemelerin üretiminde termoset polimerler, termoplastik polimerler gibi birçok matriks fazı kullanılabilirken, takviye fazı olarak da karbon elyaf, aramid elyaf veya cam elyaf gibi de birçok takviye fazı kullanılabilir. Yapısal dayanıma en çok ihtiyaç duyulan sektörler olan, otomotiv ve havacılık sektörlerinde genel olarak termoset polimer kompozit malzemeler kullanılmaktadır. Termoset kompozit malzemelerin tercih edilmesinin ikinci büyük nedenlerinden biri ise atmosferik koşullara olan dayanımı ve uygun koşullarda uzun raf ömrüdür. Epoksi matriksler poliester matrikslere göre daha yüksek çalışma sıcaklıklarına sahiptirler (175°C), bu sebeple yüksek seviyede performans gerektiren alanlarda epoksi matriksli kompozitler tercih edilmektedir [3]. Bu çalışmada, epoksi matriks içerisinde karbon elyaf takviye edilmiş prepregler kullanılarak kompozit malzemelerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Kompozit malzemelerin mekanik olarak birleştirilmesinde mukavemetin araştırılması amaçlanmaktadır. Literatürde bu konu üzerine yapılmış bazı çalışmalar incelenmiş ve gerekli değerlendirmeler aşağıda verilmiştir.

Camanho ve Lambert [4], kompozit laminantlarda mekanik olarak bağlanmış laminantların hasar başlangıcı, hasar ilerlemesi ve hasar sonunun değerlendirildiği bir araştırma yapmışlardır. Bu çalışmada, her bir katmandaki gerilim dağılımı, yarı analitik ve sayısal yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir. Tahminler, pim ve civata yüklü bağlantılarda elde edilen deneysel veriler ile karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçların tahminlerle paralel olarak ilerlediği gözlemlenmiştir. Wang, Lotts ve Davis [5], bağlantı mukavemetini arttırmak amacıyla, bağlantılarda kullanılan civata şeklinin dairesel bir civata yerine eliptik geometride bir civata olarak tasarlanmasının uygulanabilirliğini araştırmışlardır. Analitik yöntem ile tahmin edilebilen delik kenarlarındaki gerilmelerin sonlu elemanlar yöntemi kullanılarak oluşturulan analiz sonuçları ile de uyum gösterdiğini bulmuşlardır. Yapılan çalışmada, farklı dairesel ve eliptik bağlantılar içeren numuneler için testler yapılmış ve civata şeklinin önemli ölçüde mukavemeti değiştirdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, eliptik civata bağlantısının dairesel civata bağlantısına göre kesme yönünde daha fazla mukavemet gösterdiği kanıtlanmıştır. Xiao ve Ishikawa'nın [6], yapmış olduğu çalışmada ise, mekanik olarak birleştirilmiş kompozit parçanın mukavemetinin ve reçine özelliklerinin yatak tepkisi üzerindeki etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu çalışmada, iki farklı tipte polimer matriks bazlı karbon elyaf ile güçlendirilmiş laminantlar üretilmiştir. Statik çekme testi uygulanan numuneler dâhili hasarı ölçmek için X-ışını radyografisi ve SEM analizlerine tabi tutulmuşlardır. Sonuç olarak kullanılan polimer matriksin yoğunluğu ile oluşan hasarın oranının doğru orantılı değiştiğini bulmuşlardır. Zhou ve Fei'nin [7], yaptığı bir diğer çalışmada ise; bir kompozit plakanın yapısal gerilme konsantrasyonunu belirlemek adına üç şekil perçin deliği olan numunelerin sonlu eleman modelleri oluşturulmuştur. Karşılaştırma yapabilmek için optimal dairesel bir şekil, gerilme konsantrasyonunun azaltılmasına bağlı olarak belirlenmiş ve ardından elips şeklindeki deliğin performansını doğrulamak için perçin delikleri içeren kompozit bir plaka ve modelleri oluşturulmuştur. Elips şeklindeki deliklere sahip plakada gerilim konsantrasyonunun dairesel delikli olana göre daha yüksek oranda azaldığı gözlemlenmiştir. Perçin ve civata bağlantı noktaları şiddetli stres nedeniyle yapısal bütünlük açısından elyaf devamlılığını bozduğu için

literatürde hala en zayıf halka olarak bilinmektedir. Perçin deliğinin geometri parametreleri değiştirilerek, perçin bağlantı delikleri etrafındaki yoğunlaşma ve güç değerlerinin değişiminin belirlendiği birçok çalışma yapılmıştır [4-13].

Elyaf takviyeli ve epoksi matrisli kompozit malzemeler için elyaf istif açıları, yapısal dayanım için çok büyük önem arz etmektedir. Elyaf istif yöneliminin doğrultusunda plaka mukavemeti en yüksek iken, 90° aksi yönde ise plaka mukavemetinin en zayıf olduğu yapılan çalışmalarca kanıtlanmıştır [14-23]. Dano, Gendron ve Picard [17], yapmış oldukları çalışmalarda, elyaf takviyeli kompozit malzemelerde tek bir bağlantı noktası olacak şekilde birleştirilmiş plakalarda yayınlanan makaleleri gözden geçirmişlerdir. Elde ettikleri bilgiler ışığında, pim yüklü kompozit laminantların tepkisini tahmin etmek için bir sonlu eleman modeli geliştirmişlerdir. Çalışmanın amacı, doğrusal olmayan bir kesme davranışının tahmini ve yük pimi yer değiştirme eğrisine dahil edilebilirliğini göstermektir. Kurt, Yeşil ve Atlı [24] yaptıkları çalışmada ise polimer matrisli kompozit malzeme parçalarının farklı yöntemlerle birleştirilmesinin ardından birleşme bölgesinin çekme kuvvetine olan etkilerini incelenmişlerdir. Kompozit numune üretiminde elle yatırma sonrası sıcak presleme yöntemini kullanmışlardır. Numuneler tam ortadan ikiye bölünerek farklı yöntemlerle birleştirilmiştir. Birleştirme yöntemi olarak vida ile vidalama, piyasada yaygın olarak bulunabilen az maliyetli bir çift bileşenli yapıştırıcı ile yapıştırma, kompozit malzemenin üretildiği laminasyon reçine ile yapıştırma ve aynı laminasyon reçinesinin karbon elyaf tozu ile katkılandırılarak yapıştırılması yöntemlerini kullanmışlardır. Yapıştırılan numuneler çekme testine tâbi tutularak birleşme kuvvetleri karşılaştırılmıştır. Vida ile birleştirilen bölgenin kopma kuvveti en az mukavemet değerini verirken, piyasada yaygın olarak bulunabilen az maliyetli çift bileşenli yapıştırıcı ile yapıştırılan bölgelerin kopma mukavemeti en yüksek değeri vermiştir. Bu değerler sırasıyla 2278,67 Newton (N) ve 12062 Newton (N) olarak bulunmuştur. Yapılan çalışma kapsamında en düşük mukavemet değeri vidalama tekniği ile birleştirilen numunelerde, en yüksek değer ise çift bileşenli yapıştırıcı ile birleştirilen numunelerde gözlenmiştir. Collings ve arkadaşları [25] üç farklı elyaf ve reçine sisteminden yapılan elyaf istif açıları (0°±45°), (0°, 90°), ve (90°±45°) olan üç grup laminant üzerinde taşıma mukavemeti ölçümlerini yapmışlardır. Bu çalışmada, delik kenarındaki kusurları meydana getiren fiziksel koşullar göz önünde bulundurularak yarı ampirik bir yaklaşım kullanılıp kısıtlı pim yüklü deliklerin nihai yatak dayanımlarını tahmin etmek amacıyla kullanılacak denklemler türetilmiş ve deneysel sonuçlar sunulmuştur. Elde edilen veriler doğrultusunda, kullanılan laminant konfigürasyonlarının, elyaf ve reçine sistemlerinin her biri için teorik verilerle uyumlu sonuçlar tespit edilmiştir. Beauchamp ve arkadaşlarının [26] rulman yatakları için yapmış oldukları çalışmada ise, rulman yatağının sapma davranışını belirlemek için yapılan testlerde elyaf istif açıları (0° 90 °), (0°+45 °) ve (90°+45°) olan, sabit bir tork değeri ile sıkıştırılmış cıvata laminantların davranışı açıklanmaktadır. Mükemmel eklem gücü özelliklerini sergileyen optimum yatağın (0°+45°) istif açısındaki laminant konfigürasyonunda olduğunu tespit etmişlerdir.

Mevcut çalışma, literatür değerlendirmeleri yapıldıktan sonra var olan çalışmalara yenilikçi bir bakış açısı katacak şekilde karbon elyaf takviyeli epoksi matrisli kompozit yapıların istif açılarının mekaniksel bağlantı mukavemetine olan etkilerini araştırmaktadır. Bu sayede fazladan cıvata bağlantı şeklinin değiştirilmesi ve/veya farklı yapıştırıcı malzeme kullanımı gibi tasarım ve uygulamada sade kullanım sunabilecek malzemelerin üretilmesi hedeflenmektedir. Bu sadeleştirmenin aynı zamanda kompozit malzeme üretimindeki hata payını ve maliyet oranlarını düşüreceği öngörülmektedir.

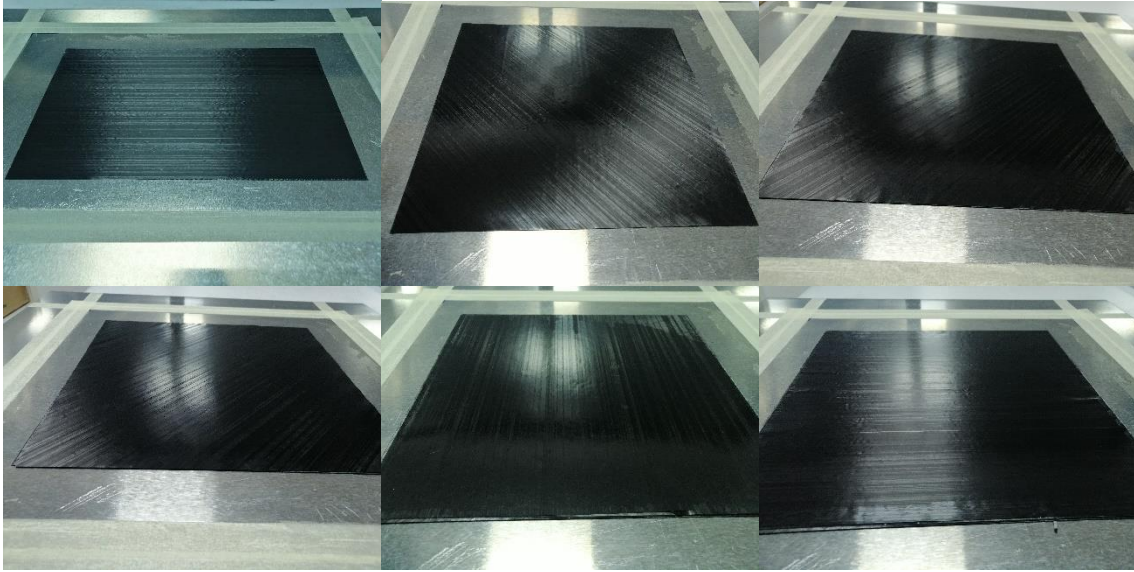
2. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada tek yönlü (UD) elyaf karbon malzeme olan reçine emdirilmiş karbon kumaşlar kullanılmıştır. Kalıp malzemesi olarak seçilen Al 7075 plaka başlangıçta 22 mm olarak temin edilmiş ve taşlama işlemi ile 20±0.005 mm hassasiyetle işlenmiştir. İşlenen kalıp malzemesi polisaj işlemine tabi tutularak yüzey parlaklığı sağlanmıştır. Toplam olarak 5 adet üretimi yapılan kalıplara, her birine daha önce belirlenen açılarda serimler yapılmıştır. Serim açıları derecelendirilerek gruplandırılan numunelerin ihtiva ettikleri dizilim yönleri *Tablo 1*'de gösterilmektedir.

	A GRUBU AÇI DEĞERİ	B GRUBU AÇI DEĞERİ	C GRUBU AÇI DEĞERİ	D GRUBU AÇI DEĞERİ	E GRUBU AÇI DEĞERİ
1. KAT	0	-60	-45	-30	90
2. KAT	90	30	45	60	0
3. KAT	45	75	0	-75	-45
4. KAT	-45	-15	90	15	45
5. KAT	-45	-15	90	15	45
6. KAT	45	75	0	-75	-45
7. KAT	90	30	45	60	0
8. KAT	0	-60	-45	-30	90

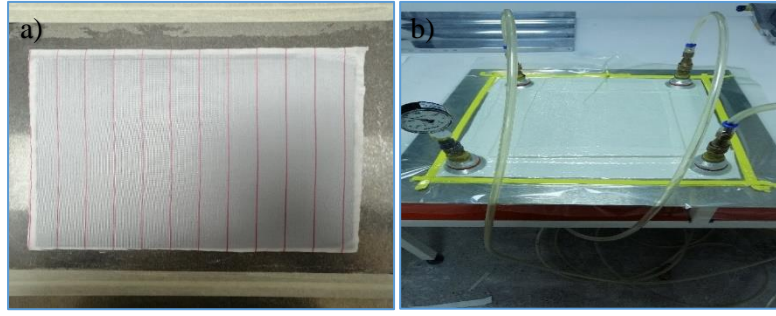
Tablo 1. Değerlendirilen numunelerin açı değerleri

Serim işlemi için KORDSA'dan tedarik edilmiş olan OM10 reçine özelliklerine sahip olan reçine emdirilmiş kumaş soğuk odadan çıkarıldıktan sonra 18 saat oda koşullarında bekletilmiştir. Bekleme işlemi tamamlandıktan sonra hazırlanan metal kalıba kalıp ayırıcıları uygulanarak temiz odaya alınmış ve serim işlemine başlanmıştır. Farklı açı yönelimlerine sahip serim işlemleri aşağıda görülen *Resim 1*'de verilmiştir.



Resim 1. Serim İşlemi

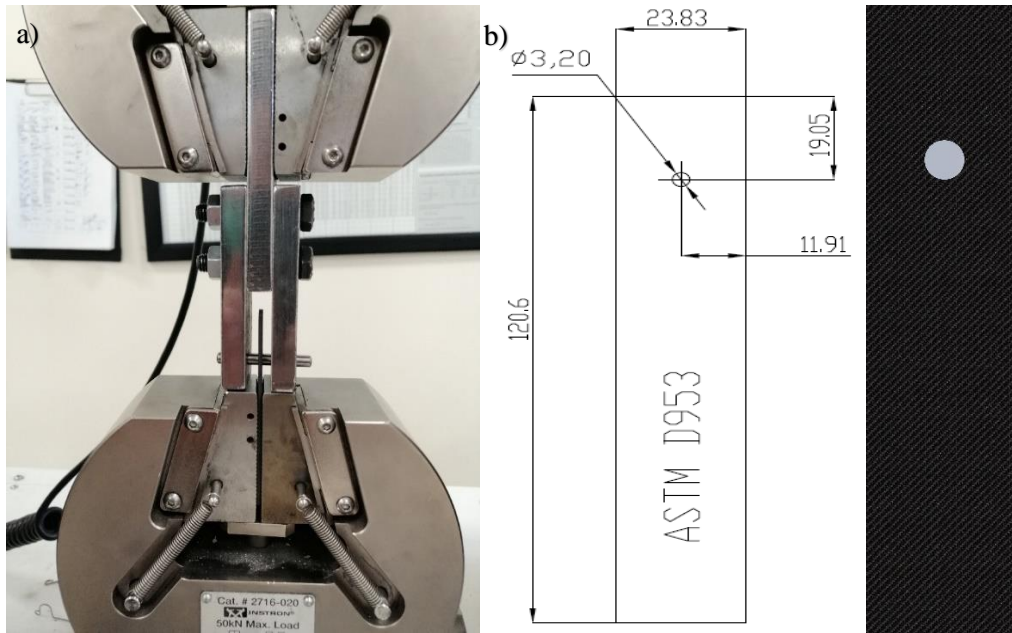
Serim işlemleri tamamlanan kompozit plakalar için, serim işleminin kusursuz olması ve laminantlar arasında hava kabarcıklarının kalmasını önlemek amacıyla her bir lamina seriminden sonra vakum alınmıştır. Serim işlemi tamamlanan kompozit laminant plakalar için, Al 7075 kalıp malzemesinin oluşturduğu pürüzsüz yüzeyin bozulması ve numunelere uygulanacak olan mekanik test işlemlerinin yapılabilmesi için karbon elyaf malzemesinin alt yüzeyine ve üst yüzeyine yönü 0° olacak şekilde soyma kumaşı (peel ply) serme işlemleri yapılmıştır. Kompozit laminant plakalara soyma kumaşının uygulandığı görsel *Resim 2 a*'da gösterilmektedir.



Resim 2. a) Soyma kumaşı (peel ply) uygulaması b) Vakum işlemi ve kontrolü

Soyma kumaşının uygulanmasından sonra laminantların vakum işlemine başlanmıştır. Vakum süreci, vakum portları numune köşelerinde olacak şekilde yerleştirilerek gerçekleştirilmiştir. Vakum portunun 4 adet olmasının amacı, numunenin tamamen homojen bir şekilde vakum işlemine tabi olması, numune kalınlığının her bir bölgede eşit olarak dağılması ve hacimsel olarak reçine akışının eşit olmasını sağlamaktır. Vakum işlemi için GAMAK marka motor ve AKAR MAKİNA marka vakum motoru kullanılmıştır. Numune üzerine otoklav süreci boyunca kesintisiz olarak 50 mm bar bir kuvvet uygulanmıştır. Vakum işlemi yapılan bir kompozit laminant *Resim 2 b*'de gösterilmektedir.

Otoklav süreci, kumaş parametrelerine uygun olacak şekilde kür döngüsünde hazırlanmıştır. Belirlenmiş olan bu döngü ile kür işlemi tamamlanan kompozit plakalar yaklaşık %58 lif hacimsel oranına ulaşacak şekilde üretilmişlerdir. Test işlemleri için 5 adet farklı elyaf dizilimleri içeren farklı kompozit plakalar üretilmiş ve her bir kompozit plakadan 12 adet numune alınmıştır. Toplam olarak 60 numune ASTM D953 standartlarına uygun olarak hazırlanmıştır. Numunelerin test edilebilmesi için ASTM D953 standartlarına uygun olarak test aparatının tasarımı ve üretimi sağlanmıştır [27]. Standartlara uygun olarak üretimi yapılan numune ve test aparatı *Resim 3 a*'da gösterilmektedir. Üretilen laminant plakalardan her biri ebat olarak aynı olan 60 adet numune alınmıştır. Alınan bu numunelere ilişkin olarak ölçüsel gösterim *Resim 3 b*'de gösterilmektedir.



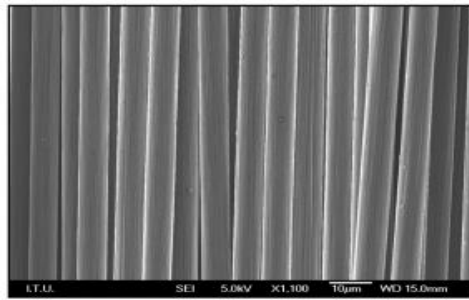
Resim 3. a) Çekme cihazı, test aparatı ve numune b) Numune ve ölçüsel gösterimi

Kompozit plakaların içerdikleri elyaf dizilimlerine göre gruplandırılması yapılan numuneler ilk olarak tahribatsız muayene işlemi olan elektron mikroskobu ile analiz edildi. SEM görüntüleri alınan

numunelerde, serim süreci ve sonrası oluşabilecek porozite ve delaminasyon gözlenmiştir. Ayrıca, ASTM D953 standartlarına uygun olacak şekilde İnstron 3369 Universal test makinesi kullanılarak, hazırlanan numunelere tahribatlı muayene yöntemlerinden biri olan çekme testi yapılmıştır ve dizilim farklılıklarının oluşturduğu çekme grafikleri yorumlanmıştır.

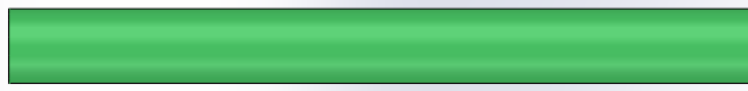
2.1. Açık Değerlerinin SEM ile Değerlendirilmesi

Açık değerlerini analiz ederken bakılması gereken, bakış açısı yönünde karbon elyaf ipliklerin duruş şeklidir. Elyaf ipliğin görünmeyecek şekilde durması, o ipliğin bakış açısına 0° olarak durması anlamındadır. Kesit alanın karşısından bakıldığında ipliklerin eliptik bir biçimde durması, eliptik düzlemin uzunluğu ve elyaf iplik kalınlığına bağlı olarak ipliklerin açısı tespit edilir. Elyaf ipliklerin duruş şekli tam olarak bakış açısının yönünde çubuk şeklinde olması, o ipliğin 90° de bulunması anlamına gelmektedir. Bu durumu daha net anlatabilmek için aşağıda verilen gösterimlerden faydalanılmıştır. *Resim 4'*de elyaf ipliklere ait olan X1100 büyütmede alınmış bir SEM görüntüsü verilmektedir.

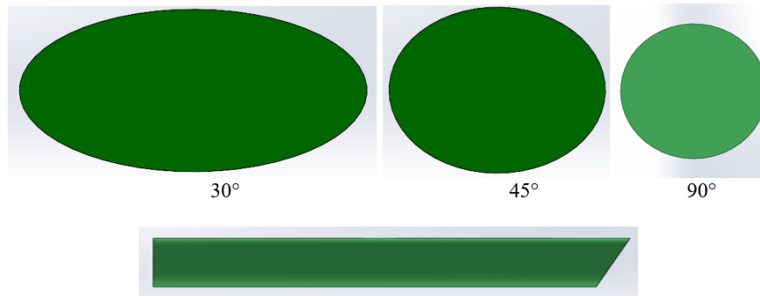


Resim 4. X1100 büyütülmüş karbon elyaf iplik

Resim 5 ve *Resim 6*'da sırasıyla bir elyaf ipliğin ve açılı olarak kesilmiş bir ipliğin sembolik olarak gösterimini temsil etmektedir. 30° açı birimine sahip olan iplik kesitinin eliptik yönde daha uzun olması sahip olduğu açı değerinin küçük olması ile alakalı olarak eliptik uzunluk 45° 'ye göre daha fazladır. Aynı durum 45° için ise eliptik uzunluk daralarak 90° 'ye ulaşıldığında tam bir dairesel kesit görünümüne ulaşılmaktadır.



Resim 5. Elyaf iplik sembolik gösterimi

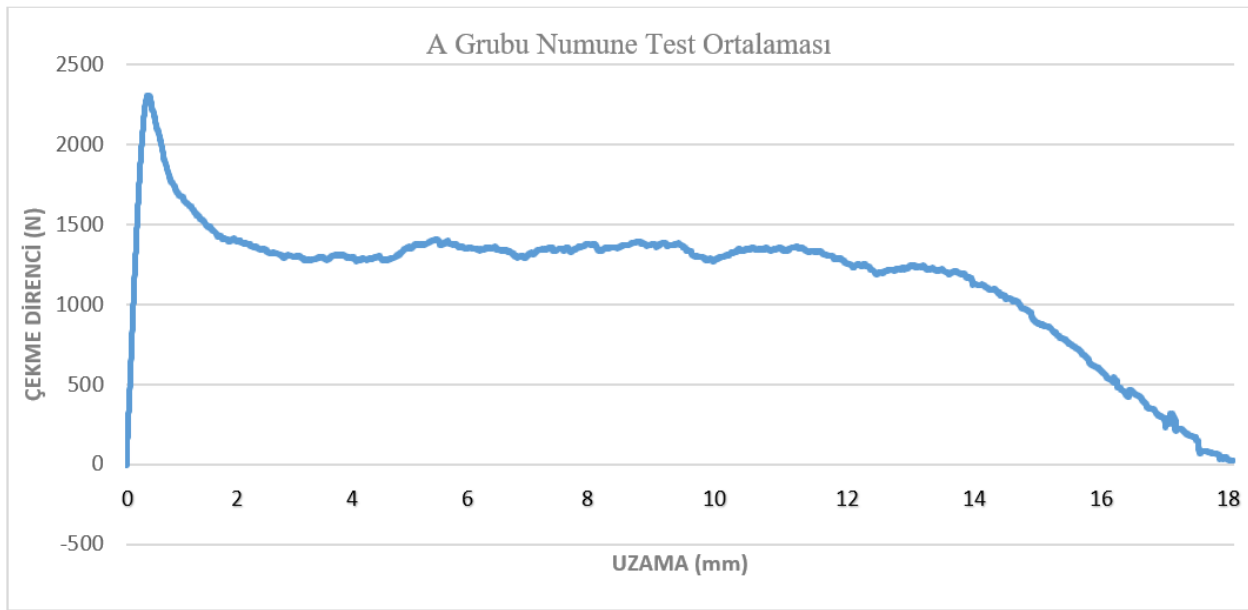


Resim 6. Açılı kesilmiş bir elyaf iplik

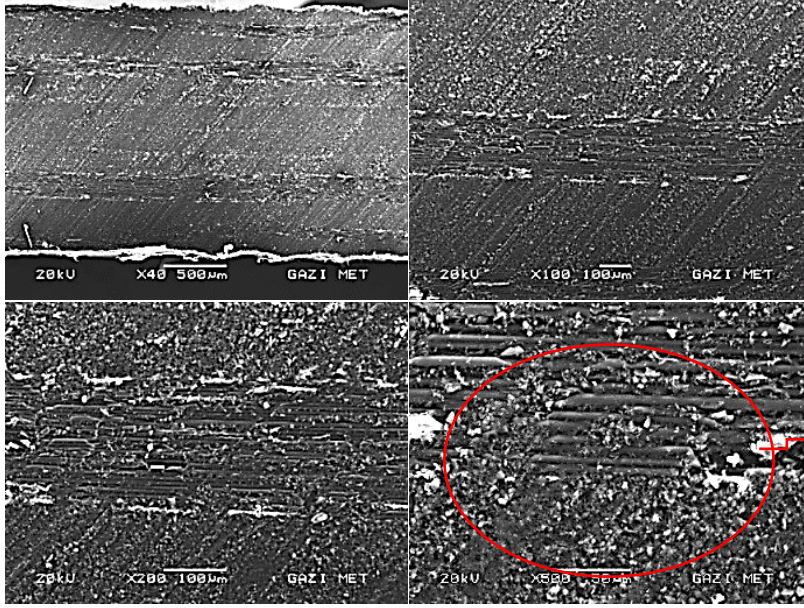
3. BULGULAR

3.1. A Grubu Numune Sonuçları

A grubu test numunelerin sahip oldukları serim açısı değerleri: 0, 90, 45, -45, -45, 45, 90, 0'dır. Bu testler sürecinde öncelikle, kompozit laminant plakalardan alınan 12 adet numunenin her birine ait yük altında uzama davranışları ölçülmüştür. Ardından, genel bir değerlendirme yapabilmek amacıyla yük altındaki uzama davranışlarının ortalaması hesaplanmış ve tek bir grafikte (*Grafik 1*) verilmiştir. Serim açlarına bağlı, A grubu numuneleri ortalama olarak 2334 N'luk çekme mukavemeti sergilemişlerdir. Uzama değerleri ise ortalama olarak 1380 N değerinde seyretmekte ve 18 mm değerinde tamamen kopma gözlenmektedir. Kopma uzamasındaki linear durum ortalama olarak 12,7 mm sürmektedir. Bu aralıkta test edilen numune 1380 N değerinde 12,7 mm değerinde linear bir durum göstermektedir. Grafikten de anlaşılacağı gibi laminant plakanın kopma eğilimi 5,4 mm'den düşük bir mesafede gerçekleşmiştir.



Grafik 1. A Grubu test numuneleri ortalama kuvvet-uzama grafiği



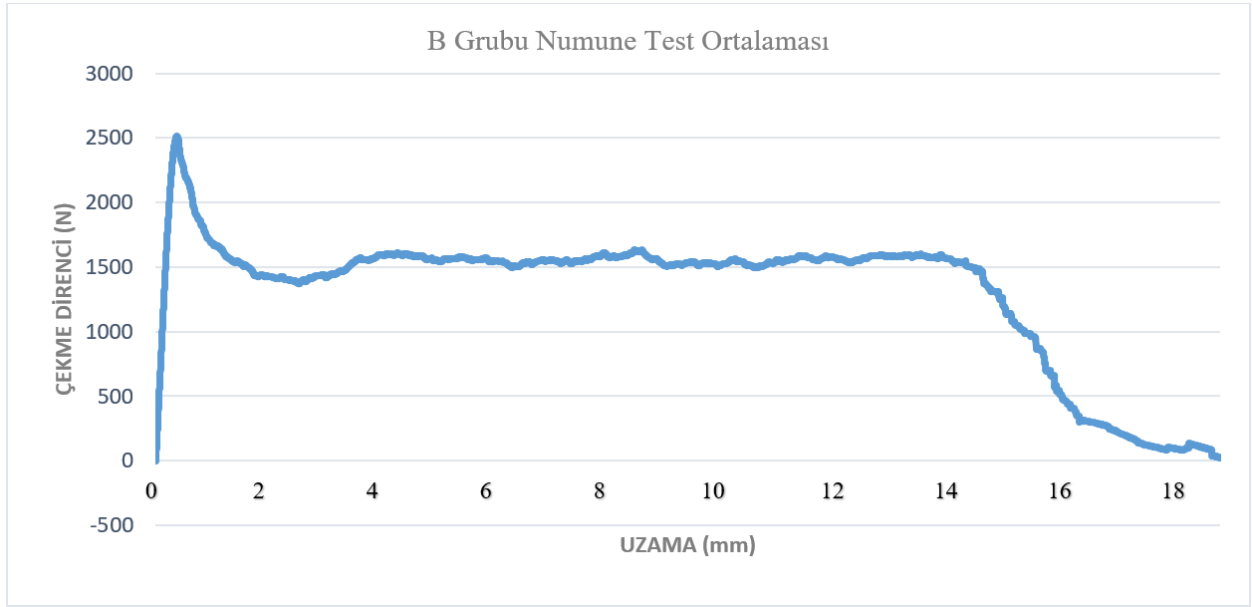
Bakış açısına göre çubuk şeklinde görünmekte olan bu karbon fiber elyaf iplik 90°'lik bir serim açısına sahip olduğu anlamına gelmektedir.

Resim 7. A Grubu numuneye ait farklı büyütmelerde alınmış elektron mikroskobu görüntüleri

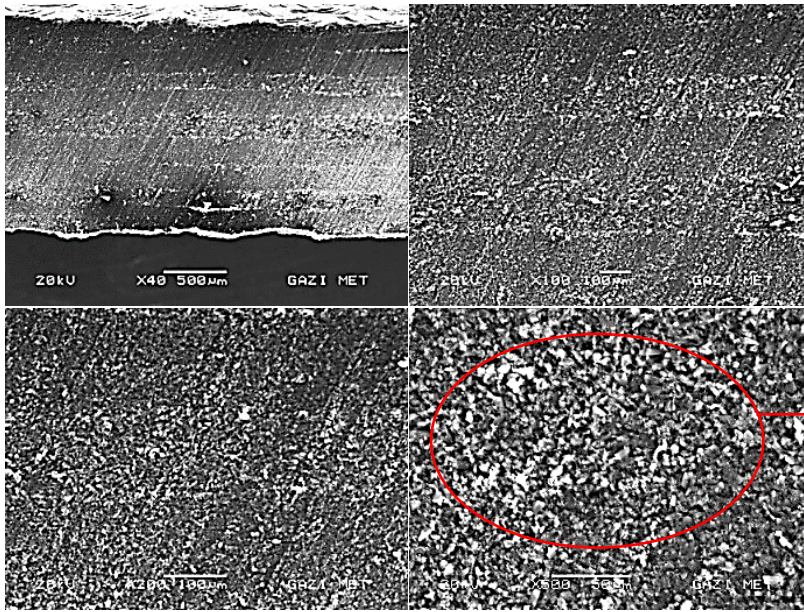
Resim 7'de SEM görüntüsü olan numune için dizilim kusuru ve belirlenen açı değerlerinin doğru olup olmadığı için görüntüler alınmıştır. Değerlendirilen SEM görüntüleri sonucunda, açı değerlerinde yanlışlık ve dizilim kusuru olmadığı anlaşılmıştır.

3.2. B Grubu Numune Sonuçları

B grubu test numunelerin sahip oldukları serim açısı değerleri: -60, 30, 75, -15, -15, 75, 30, -60°'dir. Bu testler sürecinde öncelikle, kompozit laminant plakalardan alınan 12 adet numunenin her birine ait yük altında uzama davranışları ölçülmüştür. Ardından, genel bir değerlendirme yapabilmek amacıyla yük altındaki uzama davranışlarının ortalaması hesaplanmış ve tek bir grafikte (Grafik 2) verilmiştir. Serim açısına bağlı, B grubu numuneleri ortalama olarak 2512 N'luk çekme mukavemeti sergilemişlerdir. Uzama değerleri ise ortalama olarak 1518 N değerinde seyretmekte ve 18,9 mm değerinde tamamen kopma gözlenmektedir. Kopma uzamasındaki lineer durum ortalama olarak 10,8 mm sürmektedir. Bu aralıkta test edilen numune 1518 N değerinde 10,8 mm değerinde lineer bir durum göstermektedir. Grafikten de anlaşılacağı gibi laminant plakanın kopma eğilimi 6,3 mm'den düşük bir mesafede gerçekleşmiştir.



Grafik 2. B Grubu test numuneleri ortalama kuvvet-uzama grafiği



Bakış açısına göre dairesel ve eliptik duran bu karbon fiber iplikler, eliptik mesafenin uzunluğuna bağlı olarak açı değerleri belirlenir. Örn: Eliptik mesafe ne kadar çok ise içerdiği açı değeri o kadar küçüktür.

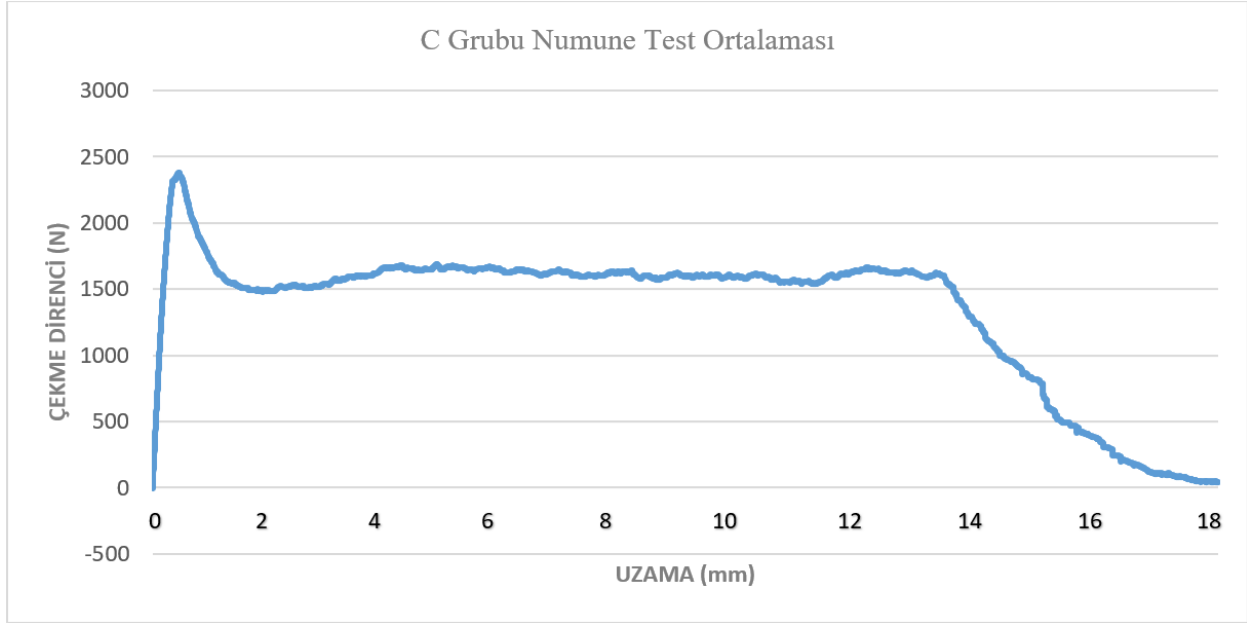
Resim 8. B grubu numuneye ait farklı büyütmede alınmış elektron mikroskobu görüntüleri

Resim 8'de SEM görüntüsü olan numune için dizilim kusuru ve belirlenen açı değerlerinin doğru olup olmadığı için görüntüler alınmıştır. Değerlendirilen SEM görüntüleri sonucunda, açı değerlerinde yanlışlık ve dizilim kusuru olmadığı anlaşılmıştır.

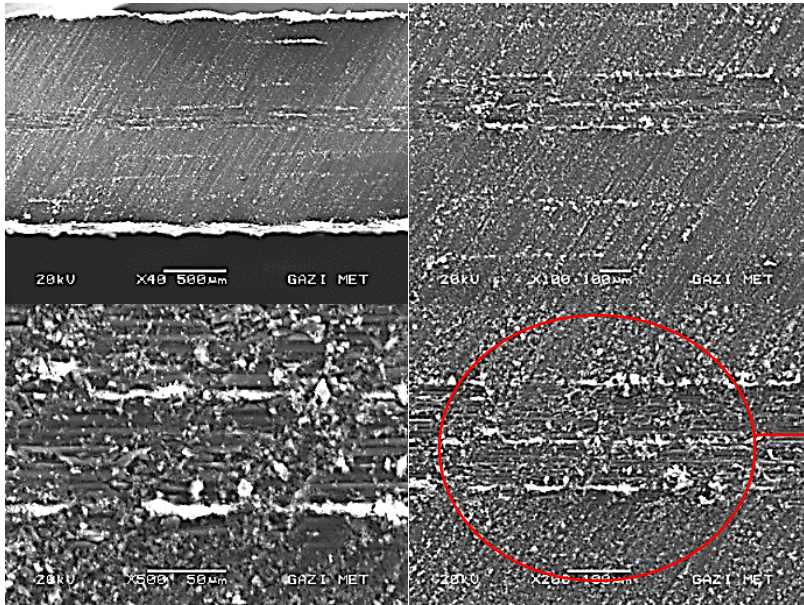
3.3. C Grubu Numune Sonuçları

C grubu test numunelerin sahip oldukları serim açısı değerleri: -45, 45, 0, 90, 90, 0, 45, -45, 'dir. Bu testler sürecinde öncelikle, kompozit laminant plakalardan alınan 12 adet numunenin her birine ait yük altında uzama davranışları ölçülmüştür. Ardından, genel bir değerlendirme yapabilmek amacıyla yük altındaki uzama davranışlarının ortalaması hesaplanmış ve tek bir grafikte (Grafik 3) verilmiştir. Serim açlarına bağlı, C grubu numuneleri ortalama olarak 2375 N'luk çekme mukavemeti sergilemişlerdir. Uzama

değerleri ise ortalama olarak 1524 N değerinde seyretmekte ve 18,2 mm değerinde tamamen kopma gözlenmektedir. Kopma uzamasındaki lineer durum ortalama olarak 11,3 mm sürmektedir. Bu aralıkta test edilen numune 1524 N değerinde 11,3 mm değerinde lineer bir durum göstermektedir. Grafikten de anlaşılacağı gibi laminant plakanın kopma eğilimi 5,7 mm'den düşük bir mesafede gerçekleşmiştir.



Grafik 3. C Grubu test numuneleri ortalama kuvvet-uzama grafiği



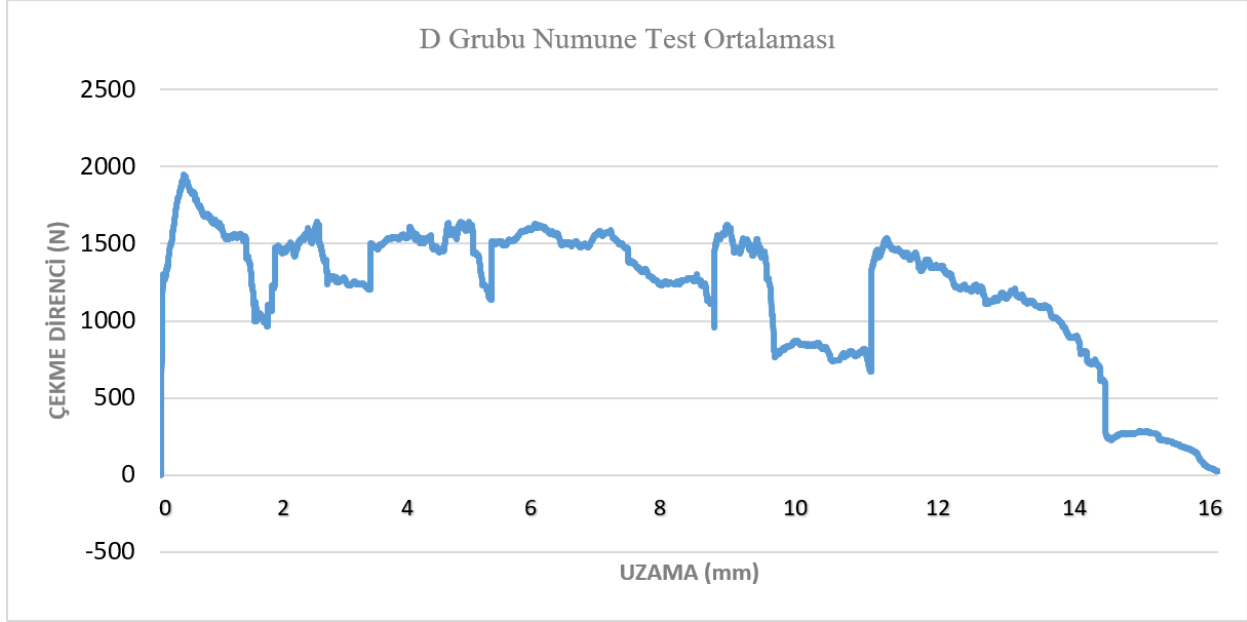
Bakış açısına göre karbon fiber iplikler küçük elptik yapılar ve dairesel yapılar oluşturmaktadır. Bunun anlamı: parça içerisinde genel olarak 90° ve 45°'lik açıların mevcut olması.

Resim 9. C Grubu numuneye ait farklı büyütmede alınmış elektron mikroskobu görüntüleri

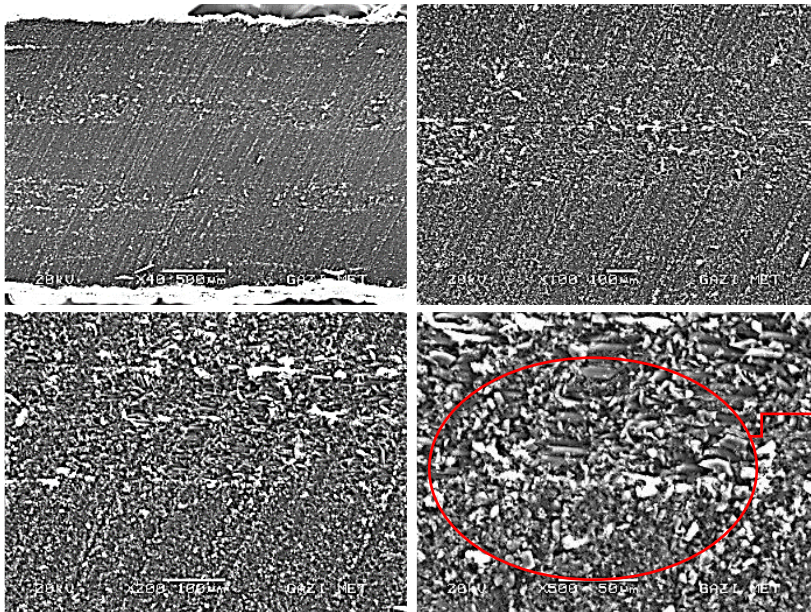
Resim 9'da SEM görüntüsü olan numune için dizilim kusuru ve belirlenen açı değerlerinin doğru olup olmadığı için görüntüler alınmıştır. Değerlendirilen SEM görüntüleri sonucunda, açı değerlerinde yanlışlık ve dizilim kusuru olmadığı anlaşılmıştır.

3.4. D Grubu Grubu Numune Sonuçları

D grubu test numunelerin sahip oldukları serim açısı değerleri: -30, 60, -75, 15, 15, -75, 60,-30'dur. Bu testler sürecinde öncelikle, kompozit laminant plakalardan alınan 12 adet numunenin her birine ait yük altında uzama davranışları ölçülmüştür. Ardından, genel bir değerlendirme yapabilmek amacıyla yük altındaki uzama davranışlarının ortalaması hesaplanmış ve tek bir grafikte (*Grafik 4*) verilmiştir. Serim açlarına bağlı, D grubu numuneleri ortalama olarak 1971 N'luk çekme mukavemeti sergilemişlerdir. Uzama değerleri ise ortalama olarak 1324 N değerinde seyretmekte ve 16,1 mm değerinde tamamen kopma gözlenmektedir. Kopma uzamasındaki lineer durum olmayışı, tartışmalar kısmında detaylıca incelenmiştir.



Grafik 4. D Grubu test numuneleri ortalama kuvvet-uzama grafiği



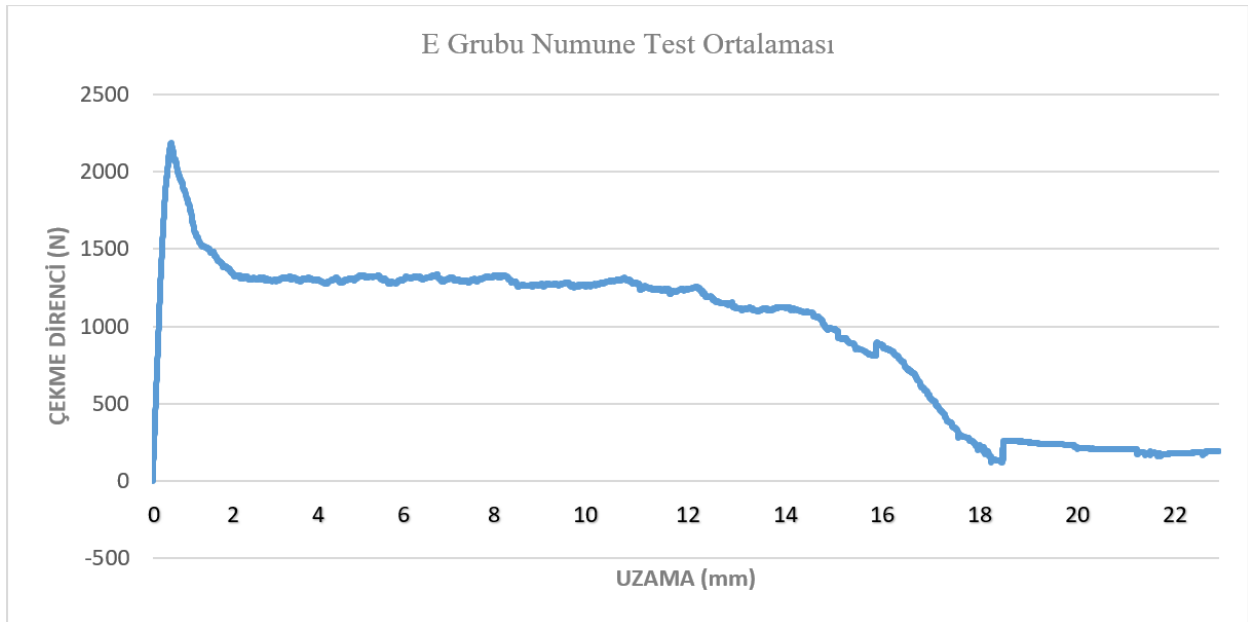
Bakış açısında göre görünen küçük eliptik yapılar ve büyük eliptik yapılar mevcut. Bunun anlamı yapı içerisinde tamamen açılı bir dizilimin olması . En uzun eliptik yapı 15° gibi dar açılardan mevcudiyetinden kaynaklanmaktadır.

Resim 10. D Grubu numuneye ait farklı büyütmelerde alınmış elektron mikroskopu görüntüleri

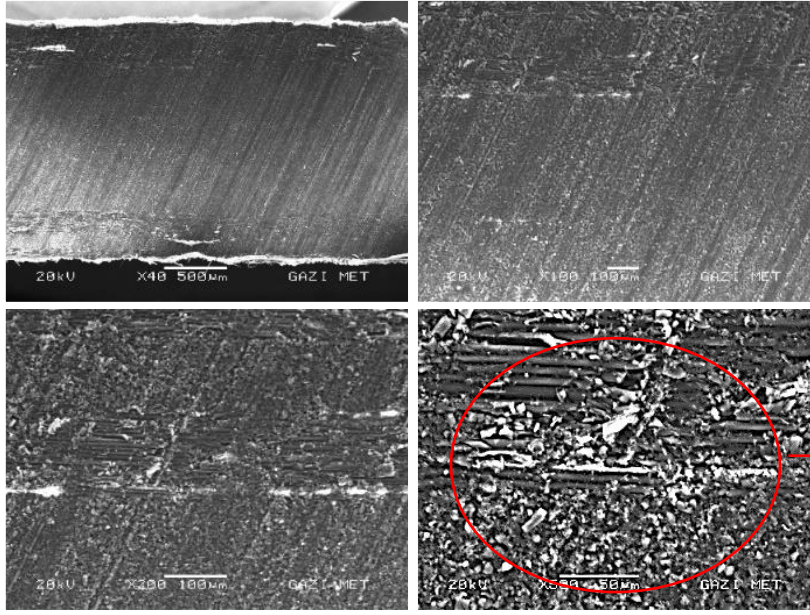
Resim 10'da SEM görüntüsü olan numune için dizilim kusuru ve belirlenen açı değerlerinin doğru olup olmadığı için görüntüler alınmıştır. Değerlendirilen SEM görüntüleri sonucunda, açı değerlerinde yanlışlık ve dizilim kusuru olmadığı anlaşılmıştır.

3.5. E Grubu Numune Sonuçları

E grubu test numunelerin sahip oldukları serim açısı değerleri: 90, 0, -45, 45, 45, -45, 0, 90'dır. Bu testler sürecinde öncelikle, kompozit laminant plakalardan alınan 12 adet numunenin her birine ait yük altında uzama davranışları ölçülmüştür. Ardından, genel bir değerlendirme yapabilmek amacıyla yük altındaki uzama davranışlarının ortalaması hesaplanmış ve tek bir grafikte (Grafik 5) verilmiştir. Serim açlarına bağlı, E grubu numuneleri ortalama olarak 2217 N'luk çekme mukavemeti sergilemişlerdir. Uzama değerleri ise ortalama olarak 1338 N değerinde seyretmekte ve 23,4 mm değerinde tamamen kopma gözlenmektedir. Kopma uzamasındaki lineer durum ortalama olarak 9,27 mm sürmektedir. Bu aralıkta test edilen numune 1338 N değerinde 9,27 mm değerinde lineer bir durum göstermektedir. Grafikten de anlaşılacağı gibi laminant plakanın kopma eğilimi 13,7 mm'den düşük bir mesafede gerçekleşmiştir.



Grafik 5. E Grubu test numuneleri ortalama kuvvet-uzama grafiği



Bakış açısında; tam çubuk görünümü, eliptik görünüm ve dairesel görünümlerin varlığı, yapı içinde bulunan dizilim açılarının 90°, 0° ve 45° olmasından kaynaklanmaktadır.

Resim 11. E Grubu numuneye ait farklı büyütmede alınmış elektron mikroskobu görüntüleri

Resim 11’de SEM görüntüsü olan numune için dizilim kusuru ve belirlenen açı değerlerinin doğru olup olmadığı için görüntüler alınmıştır. Değerlendirilen SEM görüntüleri sonucunda, açı değerlerinde yanlışlık ve dizilim kusuru olmadığı anlaşılmıştır.

	NUMUNE KALINLIĞI	MAKSİMUM KUVVET (N)	KOPMA NOKTASINDA UZAMA (mm)	MAKSİMUM UZAMA (%)	ABSORBLANAN ENERJİ (J)	KOPMA DAYANIMI (MPa)
A GRUBU	1.9±1	2334	18.00	15.92	19.57	5.33
B GRUBU	1.9±1	2512	18.90	16.13	22.24	8.31
C GRUBU	1.9±1	2375	18.20	15.61	23.42	5.53
D GRUBU	1.9±1	1971	16.10	13.39	24.17	1.1
E GRUBU	1.9±1	2217	23.40	19.25	18.68	5.9

Tablo 2. Değerlendirilen numunelerin açı değerleri

Tablo 2’de kompozit malzemelere ait olan çekme testi sonuçlarında elde edilen veriler göstermektedir. Tüm numeler arasında bir değerlendirme yapıldığında D grubu numunesinin kopma noktasındaki uzama 16.1 mm iken maksimum yüzde uzaması 13,39 olarak belirlenmiştir. Absorblanan enerji miktarı da değerlendirildiğinde bu malzemenin en fazla enerjiyi absorbe ettiği görülmektedir. Ancak, grafikten de görüldüğü üzere lineer bir uzama davranışı sergilemeyişi ve kopma dayanımına gösterdiği zayıf mukavemet diğer malzemelerden farklılığını ortaya koymuştur.

Üretimi gerçekleştirilmiş farklı tasarımlara sahip malzemeler birbirlerine göre değerlendirildiğinde; **A Grubu** tasarımında üretilen numunelerinden analiz değerleri incelendiğinde tüm gruplar arasında en fazla lineer *yer değiştirme* değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu değerler kompozit parçanın kullanım alanını genişletmekle beraber güvenlik katsayısı olarak düşünülen parametrelerin yüksek olması anlamı taşımaktadır. Ayrıca A grubu tasarımının ilk hata başlangıcının hassas olmadığı fakat hata ilerleme oranının yüksek olduğu alanlarda kullanımının tercih edilmesinin uygun olacağı söylenebilir. **B Grubu** tasarımlı numunelerin diğer gruplardan farklı olarak *çekme mukavemetinin* daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir ve bu da onun ilk hata başlangıcının yüksek hassasiyet gerektirdiği yerlerde kullanım potansiyelini

arttırmaktadır. B grubu malzemeye ait ilk hata başlangıç toleransı ve aynı zamanda çekme mukavemeti değerlerinin üstünlüğü bu numunelerin A Grubu yerine tercih edilebilir bir kompozit malzeme olması anlamına gelmektedir. Üretilen parçanın boyutsal hiçbir değişiklik göstermeden sadece istif açısı değerlerinin değiştirilmesiyle elde edilen bu fark; B grubu tasarıma sahip epoksi matriksli elyaf takviyeli kompozit malzemelerin birçok alanda tercih sıralamasını üst sıralara taşımaya temel oluşturacağı beklenmektedir. **C Grubu** tasarımındaki numunelerin analiz sonuçları, B Grubu numuneler ile hemen hemen benzer özellikler gösterdiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, C Grubu numunelerin istif açısı değerlerinin (45, -45, 0, 90) üretim kolaylığı açısından tercih edilebilir tasarım olduğunu unutmamak ve yüksek mukavemet değerlerinin uygulama potansiyelini göz önünde bulundurmak gerekmektedir. **D Grubu** tasarımdaki numunelerinin elde edilen veriler doğrultusunda *en zayıf* olan tasarım olduğu belirlenmiştir. Buna rağmen, D Grubu tasarımlı numunelerinin özel durum gerektiren, doğrudan bir kullanıcının kullandığı ve hasar başlangıcında malzemenin *mekanik değişiminin hissedilebilir* olduğu sağlık (kompozit protez malzemeler v.b.) alanında kullanımı çok uygundur. Bu tip tasarıma sahip olan bir kompozit malzeme, kullanımı sırasında hasar başlangıcının belli olması ile birlikte, kullanıcının bu durumu fark etmesi ve tedbir alması bakımından önem arz etmektedir. Mekanik değişimin hissedilebilir oluşu sayesinde bir anda oluşabilecek hasar sonucunda protez kullanıcısının sağlığına zarar verici durumların önüne geçilebilir. **E Grubu tasarımlı** numunelerin *çekme mukavemetinin* ortalama olduğu gözlemlenmiştir. Bu özellik; ilk hata başlangıcının orta ve düşük hassasiyet gerektirdiği yerlerde göz önünde bulundurulmalıdır. Sadece serim açılarının yani tasarımın değiştirilmesi ile elde edilen yüksek ilk hata başlangıç toleransı ve aynı zamanda kabul edilebilir bir akma mukavemeti değeri, B grubu tasarımlı numuneleri E Grubu numunelerinin yerine tercih edilebilir bir kompozit malzeme haline getirmektedir.

Bu çalışmada elde edilen verileri kıyaslayabilmek adına mümkün olan en yakın literatür çalışmalarına göre bir değerlendirme yapılmaya çalışılmış ve elde edilen veriler ayrıca aşağıda sunulmuştur. Konu ile ilgili çalışmalar incelendiğinde, yapılan araştırmaların çoğunun bağlantı noktasının güçlendirilmesi için yapıştırıcı kullanımı, bağlantı noktalarında kullanılan cıvata ve somun malzemelerinin geometrik değişiminin üzerine olduğu görülmüştür. T. Collings, and M. Beauchamp [26] yapmış oldukları çalışmada, rulman yataklarının bulunduğu kompozit malzemelerin, rulman yatak kısmında oluşturulacak hassasiyet toleransı nedeniyle kullanılabilir olan en iyi açı istif değerini 0° ve 45° olduğunu tespit etmişlerdir. B. Agarwal, ve J. Waszczak, and T. Cruse [28] yaptıkları çalışmada, bağlantı noktasında kullanılan cıvata ve somun parçaların geometrik şekillerini değiştirerek bir başarı elde etmeye çalışmışlardır. Dairesel somun ve dairesele cıvata yerine eliptik bir geometri bulduran bağlantı elemanlarının kullanılmasının, mekanik bağlantı noktasını güçlendirdiklerini keşfetmişlerdir. Literatür çalışmalarına ek olarak bu çalışmada, mekanik olarak bağlantı noktasının güçlendirilmesi amacıyla kompozit parça üretiminde sadece istif açılarının doğru bir şekilde uygulanması neticesinde harici bir cıvata, somun veya farklı bir yapıştırıcı kullanımı gerekmeden mukavemet artırılmasının mümkün olabileceği görülmektedir. Sonuçta, bu çalışmanın yenilikçiliği olarak özel bağlantı elemanlarının kullanımına gerek olmayan, aynı zamanda kalınlığı arttırılmadan mekanik birleştirilme kabiliyetinin yükseltilebildiği kompozit plakaların tasarımı ve üretiminin gerçekleştirilebildiği görülmektedir.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, kompozit malzeme üretiminde, malzeme özelliklerini geliştirmek amacıyla alternatif elyaf dizilimleri tasarlanmıştır. Tasarımlar neticesinde, polimer matriksli kompozit malzemelerin mekanik birleştirilmesinde karşılaşılan mukavemet yetersizliklerinin giderilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla kompozit malzemenin yapısı; farklı katmanlarda farklı yönelimlere sahip olan kompozit laminantlar içerecek şekilde tasarlanmış ve üretimleri gerçekleştirilmiştir. Ardından üretimi yapılan bu kompozit malzemelerin yük altında göstermiş oldukları dayanımları incelenmiştir. Beş çeşit dizilim (açı) tasarımı içeren laminant plakaların her birinden numuneler alınarak, dizilimde oluşabilecek problemlerin tanımlanması için Taramalı Elektron Mikroskopu ile farklı büyütme oranlarında yüzey analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda planlanan tasarımlarla üretimi gerçekleştirilen malzemelerin morfolojik

özelliklerinin uyumlu olduğu belirlenmiştir. Analizi yapılan laminant numunelerin hiçbirisinde dizilim ve açı kusurlarına rastlanmamıştır. Testler sonucunda, farklı gruplardaki kesimi yapılan on ikişer numunenin sahip olduğu ortalama çekme mukavemeti, kopma noktasındaki maksimum uzama, maksimum uzama yüzdesi, absorblanan enerji, kopma dayanımı ve lineer uzama miktarı belirlenmiş ve analiz edilmiştir. Genel bir değerlendirme yapıldığında, aynı sayıda katman karbon elyaf sayılarına sahip olan numuneler için mekanik özellik farklılıkların dizilim açılarının tasarımından kaynaklı olduğu açıkça gözlenmiştir. **B grubu** numunelerinden alınan sonuçlar, mekanik birleştirme için içerdikleri açılar (-60, 30, 75, -15, -15, 75, 30, -60) nedeniyle en iyi yapısal mekanik dayanıma sahip oldukları tespit edilmiştir. D grubu numunelerinin analiz sonuçları bu malzemenin en yüksek absorblanan enerji miktarı ve en düşük kopma dayanımına sahip olması nedeniyle malzemenin lineer bir davranış göstermediğini ortaya koymaktadır. D grubu numunelerinin çekirdeğinde bulunan 15° istif açısında çekme mukavemeti yönünde zayıf bir dizilim açısını işaret etmektedir. En dış katmanda bulunan -30° istif açısındaki elyafların 15° açılardaki elyaflara destek olamadığı için lineer bir davranış ortaya koyamadığı düşünülmektedir. B grubu malzemelerin çekirdeğinde bulunan benzer dizilimde bu davranışın görülmemesinin sebebi olarak en dış katmanında yer alan -60°'lik negatif serim açılarının çekirdekte bulunan negatif -15°'lik serim açılara destek sağlaması sebebiyle yapıyı kuvvetlendirdiği düşünülmektedir. Bu durum, serim tasarımında en dış katmandan iç katmanlara gidildikçe birbirlerini destekleyici serim tasarımının önemini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, çeşitli tasarımlarda üretilen her malzemenin kendine has yüzey ve mukavemet özelliklerinin bu malzemelerin her birini farklı uygulama alanlarında kullanıma uygun kompozit malzemeler haline getirdiği belirlenmiştir. Bu tercih edilebilirlik sadece kompozit malzeme üretiminde kullanılan istif açılarının değiştirilerek istenilen alanda istenilen hassasiyeti elde edebilecek şekilde uygun istif açılarının kullanımıyla mekanik mukavemet artırımının sağlanabileceğini ve bunun için fazladan maliyet gereksinimine gerek olmadığını ortaya koymuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

TEŞEKKÜR

Çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Cemil ÇETİNKAYA' ya ve desteklerinden ötürü Meryem POLAT GÖNÜLLÜ'ye sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

KAYNAKLAR

- [1] Karagöz, S. (2008). *Malzeme Bilgisi*, Adnan Menderes Üniversitesi, AYMYO Yayınları Ders Notu No: 00, Aydın.
- [2] Sönmez, M. (2009). *Polimer matrisli kompozitlerin endüstri ürünleri tasarımında önemi ve geleceği: Türkiye'den dört örnek firma üzerine bir inceleme*, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [3] Mills, N. (2007). *Polymer foams handbook: engineering and biomechanics applications and design guide*.: Elsevier.
- [4] Camanho, P.P. and Lambert, M. (2006). *A design methodology for mechanically fastened joints in laminated composite materials*. Composites Science and Technology. 66(15): p. 3004-3020.
- [5] Wang, J., Lotts, C., and Davis Jr, D.D. (1993). *Analysis of bolt-loaded elliptical holes in laminated composite joints*. Journal of reinforced plastics and composites. 12(2): p. 128-138.
- [6] Xiao, Y. and Ishikawa, T. (2005). *Bearing strength and failure behavior of bolted composite joints (part I: Experimental investigation)*. Composites Science and Technology. 65(7-8): p. 1022-1031.
- [7] Zhou, Y. and Fei, Q. (2017). *Evaluation of opening-hole shapes for rivet connection of a composite plate*. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C: Journal of Mechanical Engineering Science. 231(20): p. 3810-3817.
- [8] Akil, H., Omar, M.F., Mazuki, A.M., Safiee, S.Z.A.M., Ishak, Z.M. and Bakar, A.A. (2011). *Kenaf fiber reinforced composites: A review*. Materials & Design. 32(8-9): p. 4107-4121.
- [9] Deborah, D.C. (1994). *Carbon fiber composites*. Waltham, MA: Butterworth-Heinemann Publisher.

- [10] Durgun, İ. (2014). *El Yatarma Yöntemi İle Kompozit Parça Üretimi*, 7. Mühendislik ve Teknoloji Sempozyumu, Ankara.
- [11] Işık, A. (2008). *Kompozit malzemeden imal edilmiş bir takviye elemanının eğilme ve burulma yükü altında deneysel ve sayısal olarak incelenmesi*. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [12] Kaya, A.İ. (2016). *Kompozit malzemeler ve özellikleri*. Putech & Composite Poliüretan ve Kompozit Sanayi Dergisi. 29: p. 38-45.
- [13] Uusitalo, K. (2013). *Designing in carbon fibre composites*.
- [14] Aktaş, A. (2005). *Bearing strength of carbon epoxy laminates under static and dynamic loading*. Composite Structures. 67(4): p. 485-489.
- [15] Aktas, A. and Dirikolu, M.H. (2004). *An experimental and numerical investigation of strength characteristics of carbon-epoxy pinned-joint plates*. Composites science and technology. 64(10-11): p. 1605-1611.
- [16] Bardakçi, R. (2020). *Ortasında eliptik yarık bulunan cam-karbon/epoksi hibrit kompozit plakların burkulma davranışının incelenmesi*. Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [17] Dano, M.-L., G. Gendron, and A. Picard. (2000). *Stress and failure analysis of mechanically fastened joints in composite laminates*. Composite structures. 50(3): p. 287-296.
- [18] Dursun, T. and Özbay, M. (2008). *Tabakalı kompozit levhalarda hasar ilerleme modellemesi*. Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi. 23(1).
- [19] Echavarría, C., Haller, P. and Salenikovich, A. (2007). *Analytical study of a pin-loaded hole in elastic orthotropic plates*. Composite Structures. 79(1): p. 107-112.
- [20] İçten, B.M. and Sayman, O. (2003). *Failure analysis of pin-loaded aluminum-glass-epoxy sandwich composite plates*. Composites Science and Technology. 63(5): p. 727-737.
- [21] McCarthy, M.A., McCarthy, C.T., Lawlor, V.P. and Stanley, W.F. (2005). *Three-dimensional finite element analysis of single-bolt, single-lap composite bolted joints: part I—model development and validation*. Composite structures. 71(2): p. 140-158.
- [22] Tserpes, K.I., Papanikos, P. and Kermanidis, T. (2001). *A three-dimensional progressive damage model for bolted joints in composite laminates subjected to tensile loading*. Fatigue & Fracture of Engineering Materials & Structures. 24(10): p. 663-675.
- [23] Turan, K., Kaman, M.O. and Gür, M. (2010). *Pim bağlantılı tabakalı kompozit levhalarda fiber takviye açısının hasar tipine etkisi*. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi. 16(2): p. 213-220.
- [24] Atlı, İ., Kurt, R., Yeşil, M. (2020). *Karbon Fiber Takviyeli Epoksi Matrisli Kompozitlerin Bağlantı Bölgelerinin Mekanik Davranışlarının İncelenmesi*. Journal of Materials and Mechatronics: A. 1(2): p. 66-75.
- [25] Collings, T., (1982). *On the bearing strengths of CFRP laminates*. Composites. 13(3): p. 241-252.
- [26] Collings, T. and Beauchamp, M. (1984). *Bearing deflection behaviour of a loaded hole in CFRP*. Composites, 15(1): p. 33-38.
- [27] Kiral, B.G. (2010). *Effect of the clearance and interference-fit on failure of the pin-loaded composites*. Materials & Design. 31(1): p. 85-93.
- [28] Agarwal, B. (1980). *Static strength prediction of bolted joint in composite material*. AIAA journal. 18(11): p. 1371-1375.

Yazım Kuralları

Araştırma Makalesi: Orijinal bir araştırmayı bulgu ve sonuçlarıyla yansıtan yazılardır. Çalışmanın özgün ve ulusal bilime katkısı olmalıdır.

Derleme Makalesi: Yeterli sayıda bilimsel makaleyi tarayıp, konuyu bugünkü bilgi ve teknoloji düzeyinde özetleyen, değerlendirme yapan ve bulguları karşılaştırarak yorumlayan yazılardır. Derleme makalelerde, ağırlıklı olarak son 5 yıla ait kaynaklar kullanılmalıdır.

Makale başvurusu yapılırken beş dosyanın yüklenmesi gerekmektedir:

1- Kapak sayfası:

Makale başlığı her kelimenin ilk harfi büyük ve diğerleri küçük harflerle sayfaya ortalı olarak yazılmalıdır. Yazar ya da yazarlarının adı – soyadı ve ORCID numaraları yazılmalıdır. Şablona, “Kapak Sayfası” bağlantısına tıklayarak ulaşabilirsiniz.

2- **Kontrol Sayfası:** “Makale Kontrol Formu” doldurulmalıdır. İlgili Forma, Kontrol Listesi Formu bağlantısına tıklayarak ulaşabilirsiniz. Bu formun doldurulmadığı ve Dergi formatına uygun olmayan makaleler değerlendirilmeye alınmayacaktır.

3- **Makale metni:** Dergi yazım kurallarına ve makale şablonuna uygun olarak hazırlanan makale metni yüklenmelidir. İlgili şablona ulaşmak için “Makale şablonu” bağlantısına tıklanmalıdır.

4- **Telif Hakkı Devir Formu:** Makalelerin telif hakkı devri için doldurulması gereken Telif hakkı devir formunun tüm yazarlar tarafından imzalanması gerekmektedir. Forma, “Telif Hakkı Devir Formu” bağlantısına tıklayarak ulaşabilirsiniz. Yazarlar tarafından imzalandıktan sonra tarayıcıdan geçirilmeli ve elektronik dosya olarak yüklenmelidir. Bu formun farklı kopyaları başka şehirlerde yaşayan yazar(lar) tarafından ayrı ayrı imzalanıp sisteme yüklenebilir. Makale basım için kabul edilmezse, telif devir formunun yasal bir önemi kalmaz ve hükümsüz olarak kabul edilir.

5. Hakem Öneri Formu: En az 2 en fazla 4 hakem önerilmesi gerekmektedir.

Makale Yazım Kuralları

MAKALENİN HAZIRLANMASI

- Başvuru yapılan eserlerde yazarlarla ilgili bilgiler hariç, diğer tüm bölümler “Makale Hazırlama” bölümünde verilen detaylar göz önünü alınarak hazırlanmalıdır.

Dergiye gönderilecek makaleler, Microsoft Office Word 2010 ve üzeri bir kelime işlemci ile hazırlanması gerekmektedir. Tüm bölümler Times New Roman karakterinde 11 punto ile, sağa ve sola dayalı olarak satır aralıkları tek olarak ayarlanmalı **Kaynaklar** ise Times New Roman karakterinde 10 punto sağa ve sola dayalı olarak satır aralıkları tek olarak ayarlanmalıdır. Her paragraf arasında bir satır boşluk bırakılmalı, paragraf başlarında içerden başlanmamalıdır (Tab tuşu kullanılmamalıdır). Araştırma makaleleri, çizelge ve şekiller dâhil toplam 22 sayfayı, derleme makaleler de 30 sayfayı geçmemelidir. Editör, makalelerin kısaltılmasını isteyebilir.

Türkçe Makale başlığı; Times New Roman, 14 punto (koyu olmayacak) ile başlığın sadece ilk harfi büyük olacak şekilde sayfa ortalanarak yazılmalıdır. Yazar adı veya adları; ünvan belirtilmeden, İsim ve Soyad’ın tamamı büyük harf ile, birden fazla yazarlarda aralarına virgül konularak, Times New Roman, 11 punto, koyu ve sayfa ortalanarak yazılmalıdır. Yazarın/ların adresi/leri; Yazar adının hemen altına boşluk bırakılmadan, Times New Roman, 10 punto ve italik olarak yazılmalıdır. Adresleri aynı olan yazarlar için tek adres, farklı yazar adresleri alt alta boşluk bırakılmadan yazılmalıdır. Sorumlu

yazarının bilgileri; Ünvanlı Ad SOYAD ve e-mail adresi, aralarına virgül konularak 1. sayfanın altına dipnot olarak, Times New Roman, 8 punto ile yazılmalıdır.

Makale Metni:

Türkçe özet; Çalışmanın amacını, temel ve önemli sonuçlarını içermelidir. Özet ve Abstract metni Times New Roman yazı karakterinde, 8 punto ve *italik* olarak yazılmalıdır. En fazla 200 kelime olmalıdır. Özet/Abstract, Öne çıkanlar/Highlights başlıkları ve İngilizce Makale Adı (Manuscript Title) Times New Roman, 11 punto ve **koyu** olarak yazılmalıdır. Makale Bilgileri/Article Info, Anahtar kelimeler/Keywords başlıkları Times New Roman, 8 punto ve **koyu** olarak, içerikleri ise Times New Roman, 8 punto ve *italik* olarak yazılmalıdır. En az 2 en fazla 5 adet anahtar kelime verilmeli, ilk harfleri büyük yazılmalıdır. Makalelerin İngilizce özetinin (Abstract), anadili İngilizce olan ve konuya hâkim bir bilim insanı tarafından kontrol edilmesi önerilir.

Makale, farklı ana başlıklarla bölümlere ayrılmalı ve her bölüm başlığı numaralandırılmalıdır. Bölüm adlandırılmaları Kalın Yazı Tipine dönüştürülmelidir. Numaralandırma işlemleri ana bölümler için 1'den başlamalı ve tüm ana başlıklar (Özet, Teşekkür ve Kaynaklar hariç) 2., 3., ... olarak devam etmelidir. İkincil başlıklar ana bölüm numaralandırmasına uygun olarak 1.1., 1.2., 1.3., ... şeklinde devam etmelidir. Tüm başlıklar sola dayalı Times New Roman, 11 punto, koyu ve büyük harf ile yazılmalıdır. Aşağıda bir örnek verilmiştir:

ÖZET

ABSTRACT

1. GİRİŞ

2. MATERYAL VE YÖNTEM /

2.1. Materyal

2.2. Karakterizasyon

3. BULGULAR

4. TARTIŞMA

TEŞEKKÜR

KAYNAKLAR

EKLER

Şekiller/ Resimler/ Fotoğraflar

Sayfa sınırlarını aşmayacak şekilde ortalanarak, net ve okunaklı olmalıdır. Sıra ile numaralandırılmalıdır. Şekil numara ve adları şeklin altında ortalanarak ve sadece ilk kelimenin ilk harfi büyük olarak *italik* verilmelidir. Şekiller ya bir çizim programı ile çizilmiş olmalı ya da en az 300 dpi çözünürlükte taranmış olmalıdır. Şekil olarak gösterilen grafik, resim ve metin kutularında yer alan yazı ve sayıların büyüklüğü makale içinde Times New Roman karakteri ile yazılmış 9 punto boyutundaki bir yazının büyüklüğünden az olmamalıdır. Şekilden önce, şekil adından önce ve sonra birer satır boşluk bırakılmalıdır. Şekiller metin içine yerleştirilirken mutlaka şekilden önce atıfta bulunulmalıdır.

Çizelgeler

Sayfa sınırlarını aşmayacak şekilde ortalanarak konulmalıdır. Sıra ile numaralandırılmalıdır. Çizelge numara ve adları, çizelgenin üstünde tek satır boşluk ile sadece ilk kelimenin ilk harfi büyük olacak şekilde ortalanarak **italik** yazılmalıdır. Çizelge adı yazılırken üstte ve altta birer satır, çizelgeden sonra yine bir satır boşluk bırakılmalıdır. Çizelgelerde çizelgeden önce mutlaka metin içerisinde atıfta bulunulmalıdır. Çizelge satır ve sütunlarındaki rakam ve yazılar Times New Roman 11 punto ile yazılmalıdır. Ancak zorunlu kalınan durumlarda yazı boyutu yazı sınırlarını geçmeyecek şekilde en az 9 puntoya kadar düşürülebilir.

Denklemler

Metin içerisine yazılacak denklemler, Word yazım programındaki Mathtype ile sola dayalı olarak yazılmalı ve eşitliklere sağa dayalı olarak parantez içerisinde sıra ile numara verilmelidir.

Semboller

Makale çok sayıda sembol içeriyor ya da makaledeki sembollerin açıklanması gerekiyorsa uluslararası standarda uygun olarak, semboller, kaynaklardan önce, Times New Roman 11 punto ile **italik** yazılmalıdır. Makalede ondalık gösterimde virgül kullanılmalı, binlikleri ayırırken virgül veya nokta kullanılmamalı gerekiyorsa tek boşluk kullanılmalıdır.

Kaynaklar

Metin İçinde Kaynak Gösterimi:

Kaynak Numara ile gösterilmeli ve köşeli parantez kullanılmalıdır. Kaynak numarası doğrudan verilir.

1. “Probiyotikler, bireylerin intestinal mikrobiyal dengesini koruyarak veya geliştirerek tüketici sağlığına yararlı olan mikrobiyal yem ve gıda katkıları olarak tanımlanmaktadır” [1].
- 2.
3. Gürsoy vd., “probiyotikleri, bireylerin intestinal mikrobiyal dengesini koruyarak veya geliştirerek tüketici sağlığına yararlı olan mikrobiyal yem ve gıda katkıları olarak tanımlanmaktadır” [1].
- 4.

Numaralandırmada; ilk kaynağa köşeli parantez içerisinde [1] numarası verilir, nokta parantez dışına konulur. Daha sonra gelen kaynaklara bir sonraki sayı verilerek devam edilir. Kaynak numaraları birbirini takip ediyorsa, birincisi ve sonuncusunun numaraları aralarına çizgi [-] konularak yazılır. Örneğin; 3’ten 8’e kadar olan kaynaklar birbirinin devamı ve ayrıca 13. kaynaktan alıntı yapılmış ise bu durum metin içinde aşağıdaki gibi gösterilir.

Örnek

[3-8, 13].

Kaynaklar Listesinin Hazırlanması

Kaynak listesinde dergi adı verilirken kesinlikle kısaltma yapılmayacaktır. Kitap ve dergi isimleri italik olarak yazılmalıdır. Kaynak gösteriminde uluslararası kurallar dikkate alınmıştır.

Kaynak bir makale ise;

Yazarın Soyadı, Adının Baş Harfi. (Tarih). Makalenin adı. *Derginin Adı*, Cilt (sayı), Sayfa No.

[1] Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N., ve Ünal, F. (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *Gıda*, 39 (3), 179-186.

[2] Yuksekdağ, Z. N., Sahin, N., and Aslim, B. (2014). *In vitro* evaluation of the suitability potential probiotic of lactobacilli isolates from the gastrointestinal tract of chicken. *European Food Research and Technology*, 239(2), 313-320.

Kaynak bir kitap ise;

Yazarın Soyadı, Adının Baş Harfi. (Yıl). Kitabın Adı. (Baskı sayısı). Yayın Yeri: *Yayınevi*, Sayfa aralığı.

[3] Denizli, A. (2009). Biyoayırma ve Polimerik Taşıyıcılar. *TÜBA Yayınları*, 25-36.

Kaynak bir kitap bölümü ise;

Yazarın Soyadı, Adının Baş Harfi. (Yıl). Kitap Bölümünün Adı. Kitabın adı. (Baskı sayısı). Yayın Yeri: *Yayınevi*, Sayfa aralığı.

[4] Çekim, B. and Erkuş-Duman, E. (2013). On the g-Jacobi Matrix Functions. *Advances in Applied Mathematics and Approximation Theory. Springer Proceedings in Mathematics & Statistics*. 73-84.

Kaynak basılmış tez ise;

Yazarın soyadı, adının baş harf(ler)i. (tezin yılı). Tezin adı. Tezin cinsi (Yüksek lisans, doktora). Tezin sunulduğu enstitü. Sunulduğu yer. Toplam sayfa.

Örneğin;

Asar, T. (2010). IngGaAs kızılötesi fotodedektör üretimi ve karakterizasyonu. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 202.

İnternet Kaynağı için örnek;

İnternet: Agarwal, C. A Review and Assessment of Land-Use Change Models Dynamics of Space, Time, and HumanChoice. Cipec.URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fhero.geog.psu.edu%2Farchives%2FAgarwalEtALInPress.pdf&date=2014-03-17>, Son Erişim Tarihi: 17.03.2014.