



# FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

Journal of Natural and Applied Sciences

agustos



Cilt: 26 Sayı: 02 Volume: 26 Issue: 02 e-ISSN: 1308 6529

2022  
ISPARTA



# SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ

## Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

Cilt 26, Sayı 2, Yıl 2022

---

# SÜLEYMAN DEMİREL UNIVERSITY

## Journal of Natural and Applied Sciences

Volume 26, Issue 2, Year 2022

---

**e-ISSN: 1308-6529 | DOI: 10.19113/sdufenbed**

---

Bu dergi, aşağıda listelenen veri tabanları tarafından taranmaktadır / This journal is indexed by the following abstracting and indexing databases  
BASE, CAB Abstracts, CAS (Chemical Abstracts Service), CNKI Scholar, DOAJ, EBSCO Discovery Service (EDS), Google Scholar, Index  
Copernicus, InfoBase Index, JournalTOCs, ResearchBib, Ulakbim TR Dizin (Mühendislik ve Temel Bilimler), WorldCat (OCLC),  
Zentralblatt MATH

## **DERGİ HAKKINDA**

Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi (SDÜ Fen Bil Enst Der), 1995 yılında kurulmuş bir bilimsel araştırma dergisidir. SDÜ Fen Bil Enst Der, 2001 yılından itibaren mühendislik ve mimarlık bilimleri, tarım ve orman bilimleri ve temel bilimler alanlarında düzenli olarak Nisan, Ağustos ve Aralık aylarında yılda üç sayı yayımlanan ulusal ve uluslararası hakemli-indeksli bir dergidir. Yayımlanmak üzere gönderilen bütün makaleler; hakemler ve editörler tarafından değerlendirilir. Makaleleri değerlendiren hakemlerin isimleri yazarlara bildirilmez. Dergide, Türkçe veya İngilizce dillerinde yazılmış orijinal araştırma makaleleri yayımlanmakta olup; teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve derleme türünde bilimsel çalışmalar yayımlanmamaktadır. İngilizce dilinde yazılmış orijinal araştırma makaleleri yayımlanma önceliğine sahiptir. Dergiye yayımlanmak için gönderilen makalelerden herhangi bir değerlendirme ve başvuru ücreti alınmamaktadır.

---

## **ABOUT THE JOURNAL**

Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences (SDU J Nat Appl Sci) is a scientific research journal founded in 1995. SDU J Nat Appl Sci is a national and international indexed journal with referees, which has been published in the areas of engineering and architecture sciences, agriculture and forestry sciences and fundamental sciences three times in a year including in April, August and December, regularly since 2001. Articles submitted to the journal for publication are evaluated by referees, editorial board and editor. Names of referees evaluating the articles aren't informed to the authors (Blind peer review). The full-length original research articles written in Turkish or English language are published, but technical notes, letters to the editors, expositions and surveys are not published in the journal. The full-length original scientific research articles written in English language have the priority of publication. The Journal of Natural and Applied Sciences does not charge any publication or processing fee.



## SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ

### İMTİYAZ SAHİBİ

**İlker Hüseyin ÇARIKÇI**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi Adına (Rektör)

### BAŞ EDİTÖR

**Şule Sultan UĞUR**, Doç. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi (Enstitü Müdürü)

### EDİTÖRLER

**Tunahan TURHAN**, Doç. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Yasemin COŞKUN**, Doç. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Cengiz GAZELOĞLU**, Doç. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
(Enstitü Müdür Yardımcısı)  
**Banu ESENCAN TÜRKASLAN**, Dr.  
Öğr. Üyesi  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
(Enstitü Müdür Yardımcısı)

**Zehra ÜSTÜN**, Dr. Öğr. Üyesi  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Hakan OĞUZ**, Prof. Dr.  
Kahramanmaraş Sütçü İmam  
Üniversitesi  
**Oğuz YAYLA**, Doç. Dr.  
Hacettepe Üniversitesi  
**Rağbet Ezgi DURAN**, Doç. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Sedat AKLEYLEK**, Doç. Dr.  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

**Ekinhan ERİŞKİN**, Dr. Öğr. Üyesi  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Tunhan DEMİRCİ**, Dr. Öğr. Üyesi  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Yalçın ERZURUMLU**, Dr. Öğr. Üyesi  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Faruk Süleyman BERBER**,  
Öğr. Gör. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi

### DANIŞMA KURULU

**Ahmet Ali İŞILDAR**, Prof. Dr.  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv.  
**Ayşegül ÖKSÜZ**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Bahri KARLI**, Prof. Dr.  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv.  
**Erdoğan KÜÇÜKÖNER**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Ersan AKYILDIZ**, Prof. Dr.  
Orta Doğu Teknik Üniversitesi  
**Ersin YÜCEL**, Prof. Dr.  
Anadolu Üniversitesi

**Gerhard-Wilhelm WEBER**, Prof. Dr.  
Poznan Teknoloji Üniversitesi  
**Güven ÖNBİLGİN**, Prof. Dr.  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
**Mehmet POLAT**, Prof. Dr.  
İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü  
**Metin AYDOĞDU**, Prof. Dr.  
Trakya Üniversitesi  
**Muhsin KONUK**, Prof. Dr.  
Üsküdar Üniversitesi  
**M. Zakir KANBUR**, Doç. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Osman ÇETİNKAYA**, Prof. Dr.  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv.  
**Serdar CARUS**, Prof. Dr.  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv.  
**Serpil PEHLİVAN**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
**Şeref SAĞIROĞLU**, Prof. Dr.  
Gazi Üniversitesi  
**Tolga TAŞDİZEN**, Doç. Dr.  
Utah Üniversitesi  
**Urfat NURİYEV**, Prof. Dr.  
Ege Üniversitesi

### TEKNİK EDİTÖRLER

**Sercan ÖNDER**,  
Arş. Gör.  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv.

**İbrahim Arda ÇANKAYA**,  
Arş. Gör. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi

### BÜRO İŞLERİ

**Uğur KARATEPE**, Memur  
Süleyman Demirel Üniversitesi

### KAPAK TASARIM

**Mehmet ÖZKARTAL**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel Üniversitesi

**Mehmet Nuri KIVRAK**

**PRIVILIGE OWNER**

**İlker Hüseyin ÇARIKÇI**, Prof. Dr.  
On Behalf of Süleyman Demirel University (President)

**EDITOR IN CHIEF**

**Şule Sultan UĞUR**, Assoc. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University (Director of the Institute)

**EDITORS**

**Tunahan TURHAN**, Assoc. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Yasemin COŞKUN**, Assoc. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Cengiz GAZELOĞLU**, Assoc. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
(Associate Director of the Institute)  
**Banu ESENCAN TÜRKASLAN**,  
Asst. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
(Associate Director of the Institute)

**Zehra ÜSTÜN**, Asst. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Hakan OĞUZ**, Prof. Dr.  
Kahramanmaraş Sütçü İmam  
University  
**Oğuz YAYLA**, Assoc. Prof. Dr.  
Hacettepe University  
**Rağbet Ezgi DURAN**, Assoc. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Sedat AKLEYLEK**, Assoc. Prof. Dr.  
Ondokuz Mayıs University

**Ekinhan ERİŞKİN**, Asst. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Tunhan DEMİRCİ**, Asst. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Yalçın ERZURUMLU**, Asst. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Faruk Süleyman BERBER**,  
Teach. Asst. Dr.  
Süleyman Demirel University

**ADVISORY BOARD**

**Ahmet Ali İŞILDAR**, Prof. Dr.  
Isparta University of Applied Sciences  
**Ayşegül ÖKSÜZ**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Bahri KARLI**, Prof. Dr.  
Isparta University of Applied Sciences  
**Erdoğan KÜÇÜKÖNER**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Ersan AKYILDIZ**, Prof. Dr.  
Middle East Technical University  
**Ersin YÜCEL**, Prof. Dr.  
Anadolu University  
**Gerhard-Wilhelm WEBER**, Prof. Dr.  
Poznan University of Technology

**Güven ÖNBİLGİN**, Prof. Dr.  
Ondokuz Mayıs University  
**Mehmet POLAT**, Prof. Dr.  
İzmir Institute of Technology  
**Metin AYDOĞDU**, Prof. Dr.  
Trakya University  
**Muhsin KONUK**, Prof. Dr.  
Üsküdar University  
**M. Zakir KANBUR**, Assoc. Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Osman ÇETİNKAYA**, Prof. Dr.  
Isparta University of Applied Sciences

**Serdar CARUS**, Prof. Dr.  
Isparta University of Applied  
Sciences  
**Serpil PEHLİVAN**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University  
**Şeref SAĞIROĞLU**, Prof. Dr.  
Gazi University  
**Tolga TAŞDİZEN**, Assoc. Prof. Dr.  
University of Utah  
**Urfat NURİYEV**, Prof. Dr.  
Ege University

**TECHNICAL EDITORS**

**Sercan ÖNDER**, Res. Asst.  
Isparta University of Applied Sciences

**İbrahim Arda ÇANKAYA**, Res. Asst. Dr.  
Süleyman Demirel University

**OFFICE WORK**

**Uğur KARATEPE**, Staff  
Süleyman Demirel University

**COVER DESIGN**

**Mehmet ÖZKARTAL**, Prof. Dr.  
Süleyman Demirel University

**Mehmet Nuri KIVRAK**

## Araştırma Makaleleri / Research Articles

Coğrafi Bilgi Sistemleri ve Uzaktan Algılama Teknikleri Kullanılarak Orman Yangını Risk Haritasının Geliştirilmesi: Muğla, Milas Örneği.....	190-199
<i>Development of Forest Fire Risk Map Using Geographical Information Systems and Remote Sensing Technics: Muğla, Milas Case</i>	
<b>Özge IŞIK PEKKAN, Masoud DERAKHSHANDEH, İlker ATMACA, Yavuz Selim TUNCA, Mehtap ÖZENEN KAVLAK, Saye Nihan ÇABUK</b>	
Synthesis and Characterization of NiO Nanoparticles by Using Thermal Decompositions of Ni(II) – ONO and ONNO Type Schiff Base Complexes.....	200-210
<i>Ni(II) – ONO ve ONNO Tipi Schiff Bazı Komplekslerinin Termal Bozunmalarını Kullanarak NiO Nanopartiküllerinin Sentezi ve Karakterizasyonu</i>	
<b>Sevi ÖZ, Pınar Acar BOZKURT, Şaziye Betül SOPACI, Nurcan ACAR, Orhan ATAKOL</b>	
Effects of Top-Pruning Time on Fresh Flower Yield, Rose Oil Content and Compounds in Oil-Bearing Rose ( <i>Rosa damascena</i> Mill.) .....	211-215
<i>Yağ gülü (Rosa damascena Mill.)'nde Çırpma Budama Zamanının Çiçek Verimi, Gül Yağ Oranı ve Bileşenleri Üzerine Etkisi</i>	
<b>Sabri ERBAŞ, Soner KAZAZ, Hasan BAYDAR</b>	
Hidrazon Türevi Yeni Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	216-222
<i>Synthesis and Characterization of New Hydrazone Derivatives Fe(II), Co(II), Ni(II) and Cu(II) Complexes</i>	
<b>Hatice Gamze SOGUKOMEROGULLARI, Eyüp BAŞARAN</b>	
CuBi <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /Elektro-indirgenmiş Grafen Oksit Nanokompozitlerinin Yeni Bir Elektrokimyasal Teknik Kullanılarak Sentezi ve Karakterizasyonu .....	223-228
<i>Synthesis and Characterization of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Electro-reduced Graphene Oxide Nanocomposites using A New Electrochemical Technique</i>	
<b>Hülya ÖZTÜRK DOĞAN, Bingül KURT URHAN</b>	
Nano-elektrokimyasal Biyosensörler Kullanılarak DNA ile Doksorubisin Etkileşiminin Araştırılması .....	229-235
<i>Investigation of Doxorubisin Interactions with DNA by Using Nano-electrochemical Biosensors</i>	
<b>Yeşim Tuğçe YAMAN</b>	
The Effects of Differences such as Variety, Region and Plant Density on the Relationship between Grain Quality Criteria in Faba Bean.....	236-244
<i>Baklada Çeşit, Bölge ve Bitki Yoğunluğu gibi Farklılıkların Tane Kalite Kriterleri Arasındaki İlişkiye Etkileri</i>	
<b>Gulay ZULKADİR, Leyla İDİKUT, Yunus Emre ÇAPAR</b>	
Antalya İli Marul Üretim Alanlarında <i>Mirafiori</i> Marul İri Damar Virüsü (MiLBVV)'nün Belirlenmesi.....	245-251
<i>Detection of Mirafiori Lettuce Big Vein Virus in Lettuce Growing Areas of Antalya Province</i>	
<b>Emine ERDAŞ, Handan ÇULAL KILIÇ</b>	
Buğdayda <i>Pratylenchus thornei</i> ve <i>Rhizoctonia solani</i> Etkileşimi .....	252-259
<i>Interaction of Pratylenchus thornei and Rhizoctonia solani on Wheat</i>	
<b>Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR, Şerife Evrim ARICI</b>	
Kırık Leblebiden Elde Edilen Unun Glutensiz Erişte Üretiminde Değerlendirilmesi.....	260-267
<i>Utilization of Split Roasted Chickpea Flour in Gluten-free Noodle Production</i>	
<b>Merve ŞAHİN, Eylem ODABAŞ, Hülya ÇAKMAK</b>	
Yeni CDK <sub>2</sub> İnhibitörlerinin Keşfedilmesi İçin Bazı Piridazin Türevi Bileşiklerin SAR Analizi ve Kenetlenme Çalışması.....	268-274
<i>SAR Analysis and Molecular Modeling Study of Some Pyridazine Derivatives for Discovery of New CDK<sub>2</sub> Inhibitors</i>	
<b>Vildan ENİSOĞLU ATALAY, Yeşim AYIK</b>	
Relationship of photocatalysis with flavonoids in silver nanowire synthesis with herbal extract ( <i>Lavandula officinalis</i> L.) .....	275-284
<i>Bitki ekstraktı (Lavandula officinalis L.) ile gümüş nanotel sentezinde fotokatalizin flavonoidler ile ilişkisi</i>	
<b>Havva KAYA, Semra KILIÇ</b>	
Predicting Present and Future Distribution Ranges of an Endemic Flea Beetle, <i>Psylliodes anatolicus</i> Gök and Çilbıroğlu 2004 (Coleoptera: Chrysomelidae) in Türkiye .....	285-291
<i>Endemik Yaprak Böceği, Psylliodes anatolicus Gök ve Çilbıroğlu 2004'un (Coleoptera: Chrysomelidae) Türkiye'deki Şimdiki ve Gelecekteki Dağılım Alanının Tahmin Edilmesi</i>	
<b>Ergin TURANTEPE, İsmail ŞEN</b>	

Makarnalık Buğdayda ( <i>Triticum durum</i> L.) Generasyon Süresinin Kısaltılmasında Hızlı Islah Tekniğinin Uygulanabilirliği.....	292-298
<i>Applicability of Speed Breeding Technique in Shorten the Generation Cycle in Durum Wheat (Triticum durum L.)</i>	
<b>Remzi ÖZKAN, Merve BAYHAN, Mehmet YILDIRIM, Cuma AKINCI</b>	
The Effect of Storage Conditions of Monofloral Honeys on Antimicrobial Activity .....	299-304
<i>Monofloral Balların Saklama Koşullarına Göre Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkisi</i>	
<b>Ayşe Sena ENGİN, Özgür CEYLAN, Mehmet Emin DURU</b>	
Determination of Highway Pavement Layer Thickness and Layer Anomalies with GPR in Burdur Section of D330 Highway.....	305-313
<i>D330 Karayolu Burdur Kesiminde GPR ile Karayolu Üstyapı Tabaka Kalınlığı ve Tabakalardaki Anormalliklerin Belirlenmesi</i>	
<b>Sercan SERİN, Mehmet SALTAN, Serdal TERZİ</b>	
Seam Performance of Nonwoven Apparel Fabrics.....	314-320
<i>Dokusuz Yüzey Giysilik Kumaşların Dikim Performansları</i>	
<b>Şükran KARA</b>	
CuCo <sub>2</sub> Parçacıkları ile Yeni Metal Oksit Kompozitlerin Üretimi ve Kirleticilerin Uzaklaştırılmasında Kullanılması.....	321-328
<i>Production of New Metal Oxide Composites with CuCo<sub>2</sub> Particles and Their Use in Pollutant Removal</i>	
<b>Sami DURSUN</b>	



## Coğrafi Bilgi Sistemleri ve Uzaktan Algılama Teknikleri Kullanılarak Orman Yangını Risk Haritasının Geliştirilmesi: Muğla, Milas Örneği

Özge IŞIK PEKKAN\*<sup>1</sup>, Masoud DERAKHSHANDEH<sup>2</sup>, İlker ATMACA<sup>3</sup>, Yavuz Selim TUNCA<sup>1</sup>, Mehtap ÖZENEN KAVLAK<sup>1</sup>, Saye Nihan ÇABUK<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Uzaktan Algılama ve Coğrafi Bilgi Sistemleri A.B.D, 26555, Eskişehir, Türkiye,

<sup>2</sup>İstanbul Gelişim Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, 34310, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Yozgat Bozok Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Şehir ve Bölge Planlama Bölümü, Erdoğan Akdağ Batı Yerleşkesi, 66900, Yozgat, Türkiye

<sup>4</sup> Eskişehir Teknik Üniversitesi, Yer ve Uzak Bilimleri Enstitüsü, 26555, Eskişehir, Türkiye

(Alınış / Received: 23.03.2021, Kabul / Accepted: 05.02.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

CBS,  
UA,  
Frekans Oranı,  
Orman Yangını Risk Haritası,

**Öz:** Olası orman yangınlarının engellenmesi ve erken müdahalenin sağlanması için yangın öncesinde, yangın esnasında ve yangın sonrasında alınacak önlemler oldukça büyük önem taşımaktadır. Bu çalışma kapsamında, CBS ve UA teknolojileri destekli Frekans Oranı tekniğinden yararlanılarak orman yangını konusu irdelenmiştir. Çalışmada yangın riskini sınıflandırmak için üç yıl içinde (2017-2019) meydana gelen 107 orman yangını olayına ait bilgiler kullanılmıştır. Bu kapsamda Milas ilçesi orman alanları orman yangını riski açısından; çok düşük riskli, düşük riskli, orta riskli, yüksek riskli ve çok yüksek riskli olmak üzere beş risk grubunda sınıflandırılmıştır. Frekans oranı yöntemi sonucuna göre çalışma alanında en fazla dağılım gösteren risk sınıfının %55 oran ile orta riskli alanlar olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, Milas ilçesinde orman varlığının yangınlardan korunması için gerekli tedbirlerin acil olarak alınması gerektiğini ortaya koymuştur.

## Development of Forest Fire Risk Map Using Geographical Information Systems and Remote Sensing Technics: Muğla, Milas Case

### Keywords

GIS,  
RS,  
Frequency Ratio,  
Forest Fire Risk Map

**Abstract:** Precautions to be taken before, during and after the fire are of great importance in order to prevent possible forest fires and to provide early intervention. Within the scope of this study, the subject of forest fire was examined by using the Frequency Ratio technique supported by GIS and UA technologies. The information from 107 forest fire occurrences that happened over three years (2017-2019) was used to classify fire risk in the study. In this context, the forest areas of Milas district is classified in five risk groups as very low risk, low risk, medium risk, high risk and very high risk, in terms of forest fires risk. According to the frequency ratio method, it was observed that the risk class with the highest distribution in the study area was medium risk areas with a share of 55% of total forest area. The findings revealed that essential preventions should be taken urgently in order to preserve forest property from fires in Milas district.

### 1. Giriş

Her yıl tüm dünyada hektarlarca orman, yangınlar sebebi ile tahrip olmaktadır. Meydana gelen yangınlar sonucunda çıkan gaz ve partikül emisyonları atmosferin bileşimini dolayısı ile küresel iklimi, insan sağlığı ve güvenliğini olumsuz yönde etkilemektedir

(Patz vd., 2014) Orman yangınları, bitki örtüsü varlığının yok olmasının yanı sıra insan ve hayvan ölümleri, evlerin ve diğer yapıların yok olması gibi sonuçlara sebep olabilmektedir (Modugno vd., 2016). Küresel Yangın İzleme Merkezi, 2008-2015 yılları arasında meydana gelen küresel yangınların, yılda ortalama 297 kişinin (hem siviller hem de

\*İlgili yazar: ozgeisikpekkan@eskisehir.edu.tr

itfaiyeciler) ölümüne sebep olduğunu bildirmiştir (Doerr & Santín, 2016) Orman yangınları, bitki örtüsünü kısmen veya tamamen yok edebilmektedir. Örneğin, 1997 yılının Temmuz ayında meydana gelen bir orman yangını felaketinde Yunanistan'ın Selanik şehri için en büyük oksijen kaynağı olan ormanın üçte ikisi yanmıştır (Siachalou vd., 2009). Yangınlar sonucunda toprak erozyonu, sel ve bitki örtüsünün geri kazanımı gibi süreçler de değiştiğinden birçok ekosistemin ekolojik işleyişi de olumsuz etkilenmektedir (Verma & Jayakumar, 2012). Bu ve bu gibi sebeplerden ötürü orman yangınlarının, önceden tahmin edilmesi, yangın oluşumunun izlenmesi, söndürme çalışmalarının planlanması, yangın sonrası oluşan zararın tespiti için oluşturulacak yöntemler oldukça büyük önem taşımaktadır. Konu, ormanlar gibi çok geniş yüzeylere yayılan bir arazi örtüsü olduğu için yapılacak çalışmalarda geleneksel yöntemlerin kullanılması doğru sonuçlara ulaşılmasını güçleştirecektir. Karar verme aşamasında gerekli bilgilere, hızlı, güvenilir ve ekonomik şekilde ulaşmak için teknolojik araçlara ihtiyaç duyulmaktadır (Kadioğulları ve Başkent., 2006). Orman yangınlarının yönetimine ilişkin bu işlemler, UA verilerinin CBS ile birlikte kullanılmasıyla sistemli ve sağlıklı bir şekilde yapılabilmektedir (Cleve vd., 2008).

Literatürde yapılan çalışmaların genelinde UA ve CBS tekniklerinden yararlanılsa da kullanılan girdiler veya analiz tekniği ile ilgili fikir birliği bulunmamaktadır. Orman meşceresi, topoğrafik yapı, insan faktörleri ve iklim gibi orman yangını risk oranını etkileyen çok sayıda parametre bulunmaktadır (Carmel vd., (2009), Gao vd., (2011)). Örneğin Chuvieco ve Salas, (1996) yangın tehlikesi endeksini tahmin etmek için yakıt tipi, sıcaklık, nem, kapalılık, bitki nemi, topoğrafya ve insan aktivitesini dikkate almışlardır. Kavlak vd., 2021 yılında yapmış oldukları çalışmada; ağaç türü, ağaç yaşı, bitki örtüsü kapalılığı, otoyol, orman yolu, köy yolu, eğim, bakı, kuru dereler ve yerleşim yeri katmanlarını kullanarak orman yangını risk haritasını geliştirmişlerdir. Ayrıca risk haritaları oluşturmak için kullanılan teknikler arasında; ağırlıklı çakıştırma (Kavlak vd., 2021), lojistik regresyon (Catry vd., 2009), makine öğrenmesi (Tien Bui vd., 2017) ve frekans oranın (Arca & Kutoğlu, 2017; Balaban & Becer, 2017; Javad vd., 2014), yoğun olarak kullanıldığını söylemek mümkündür.

Bitki örtüsünün özellikleri topoğrafik yapı ve kültürel özellikler literatürde sıkça kullanılan ve orman yangınlarını etkileyen en önemli unsurlardandır. Kızılçam gibi iğne yapraklı ve kuru karakterdeki türler yangının başlaması ve yayılması için uygun koşullar oluştururken, kayın gibi geniş yapraklı ve nemli türler zor yanan ve yangını engelleyici özellik gösterirler (Karabulut vd., 2013). Yaşlı meşcerelerde bulunan yanıcı maddeler, boyutları ve kalınlıkları sebebi ile bünyelerindeki nemi daha geç bırakırlar.

Dolayısı ile yaşlı meşcerelerin tutuşmaları için daha çok ısıya ve yanmaları için daha çok zamana ihtiyaç gösterdiği literatürden anlaşılmaktadır (Bilgili, 2014). Yangın, ince yanıcı maddelerde, kalın yanıcı maddelere oranla daha hızlı yayılır (Bilgili, 2014). Meşcerelerin bütünlük arz ettiği alanlarda başlayan bir yangına ilk müdahalenin gecikmesi durumunda büyük alan kayıpları kaçınılmaz olmaktadır (Akkaş vd., 2008). Yanıcı maddenin çok sıkışık olduğu durumda, yanıcı madde yoğunluğunun fazla ve gözenekliliğin az olmasından dolayı yanıcı maddenin nem miktarı daha fazla olacağından tutuşma daha uzun bir sürede gerçekleşecektir (Bilgili, 2014). Yanıcı maddenin çok seyrek olması durumunda ise, yanıcı madde parçacıkları birbirine yeterince yakın olmadıklarından dolayı yanan parçacıkların oluşturdukları enerji henüz yanmaya başlamamış materyali tutuşturmaya yetecek derecede olamayacağından yangının ilerlemesi mümkün olmayacaktır (Bilgili, 2014). Meşcerelerde kapalılığın düşük olması ve meşcere içerisinde yer yer boşlukların bulunması rüzgarın meşcere içerisine rahatlıkla girmesini sağlayarak, yangının hızla ilerlemesine sebep olmaktadır (Akkaş vd., 2008).

Birçok çalışma, topoğrafik yapının yangının yayılması açısından kritik bir bileşen olduğunu göstermektedir (Viegas, 2004, Butler vd., 2007). Fazla eğimin, yangının yokuş yukarı yayılımını hızlandırdığı konusunda fikir birliği bulunmaktadır (Dupuy, 1995). Güneye bakan yamaçlar Kuzey Yarımküre'de daha fazla güneşe maruz kalmaktadır ve bu durum tutuşmaya daha meyilli, daha kuru alanların bulunmasına sebep olmaktadır (Noanan, 2003). Yükseklik; sıcaklık, nem ve rüzgar ile ilişkili önemli bir topoğrafik faktördür. Bu nedenle yangının yayılmasında önemli bir rolü vardır (Jaiswal vd., 2002). Yükseklik vejetasyon yapısını, yakıt nemini ve hava nemini etkiler. Yangın davranışının, yağış nedeniyle yüksek rakımda daha az şiddetli olduğu bildirilmektedir (Chuvieco & Congalton, 1988).

Yollar ve yerleşim yerleri gibi insan kaynaklı özellikler doğrudan orman yangınlarıyla bağlantılıdır. Araştırmalar, insan ve araç hareketinin bulunduğu alanlarda yangın riskinin daha yüksek olduğunu belirtmektedir (Rogan, 2014). Yollara yakın olan orman bölgeleri, yerel halkın, çobanların ve turistlerin ormana girmesine ve yangına neden olmasına olanak sağlamaktadır (Jaiswal, 2002). Ormanların yakınında bulunan insan yerleşimleri ormanı tehdit edebilecek diğer faktörler arasındadır. Orman yangınları konusunda rol oynayan diğer bir faktör de kuru derelerdir. Kuru dereler, içerisinde barındırdığı yüksek orandaki kuru yakıt sebebi ile yangının başlaması ve yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Dereler ayrıca rüzgarın diğer alanlara göre daha hızlı yoğunluğa sahip olduğu yerlerdir ve rüzgar derelerden dağlara veya tepelere kadar yükselir; bu da yangının çok hızlı yayılmasına ve daha fazla hasara neden olur.

Son yıllarda farklı doğal afet konularında risk haritalarının oluşturulmasına yönelik hem ulusal hem de uluslararası kapsamda yapılan çalışmalar büyük bir önem ve hız kazanmıştır. Bu çalışma kapsamında, CBS ve UA teknolojileri desteği ile Frekans Oranı tekniğinden yararlanılarak Muğla ili Milas ilçesinde yangın riskinin belirlenmesi ve haritalanması üzerinde çalışılmıştır. Frekans oranı tekniği genellikle çoğunlukla heyelan riski analizlerinde kullanılan bir teknik olup orman yangınları konusunda kullanımı yaygın değildir.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Çalışma alanı

Muğla iline bağlı Milas ilçesi ülkemizde yaşanan orman yangınlarında oldukça yüksek bir paya sahip olduğu için çalışma alanı olarak seçilmiştir. Milas, Muğla'nın ikinci en büyük büyük ilçesi olup 27°30' ile 28°30' doğu boylamları ve 37°00' ile 37°38' kuzey enlemleri arasında yer almaktadır (Şekil 1). Milas ilçesi 2.067 km<sup>2</sup>'lik yüz ölçümüne sahiptir. İlçenin kuzeyinde; Bafa Gölü ve Beşparmak Dağları ile Çomakdağı'nı da kapsayan Batı Menteşe Dağları yer almaktadır. Doğusunda; Kurukümes Dağı, Akdağ ve Marçalı Dağları yükselmektedir. Güneyinde; Gökova (Kerme) Körfezi ile körfezin karşı kıyısında Datça

(Reşadiye) Yarımadası vardır. Batısında ise Güllük (Mandalya) Körfezi ile Bodrum Yarımadası bulunmaktadır. Milas'ın komşuları; Kuzey'de Aydın'ın Söke, Koçarlı ve Çine ilçeleri, Doğu'sunda Muğla'nın Yatağan ve Muğla merkez ilçeleri, Batı'sında ise Bodrum ilçesidir (Anonim, 2020).

Akdeniz ikliminin hâkim olduğu Milas'da yazlar sıcak ve kurak, kışlar ılık ve yağışlı geçer. Yaz aylarında, ortalama sıcaklık 32°C ila 34°C arasındadır ve bazen 40°C'yi aşan sıcaklıklar yaşanmaktadır. Milas çoğunlukla Kuzey ve Güney rüzgârlarına sahiptir (Anonim,2021). Orman Genel Müdürlüğü istatistiklerine göre Muğla, yüzölçümünün %66'sı ormanlarla kaplıdır ve bu oran Türkiye ormanlarının %4'ünü oluşturmaktadır.

### 2.2. Materyal

Çalışma kapsamında orman yangını risk faktörlerini belirlemek için, Muğla Orman Bölge müdürlüğünden temin edilen Meşcere haritası ve USGS ESPA'dan ücretsiz temin edilen ALOS PALSAR DEM kullanılmıştır. Ayrıca Orman Bölge Müdürlüğü'nden sayısal ortamda temin edilen yangın noktaları verisi ile Sentinel uydu görüntüleri kullanılarak 2017, 2018 ve 2019 yıllarında meydana gelen orman yangınlarının alanları tespit edilmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Çalışma kapsamında kullanılan veriler

Veri tipi	Tarih	Kaynak	Açıklama
Meşcere haritası	2013 2023	Muğla Orman Bölge Müdürlüğü	Ölçek:1/25000
Sentinel Uydu Görüntüsü	2018 2019	Copernicus Data Hub	Mekansal çözünürlük:12.5m
ALOS PALSAR DEM	2018 2017	USGS ESPA	Mekansal çözünürlük:12.5m
Yangın Noktaları Verisi	2018 2019	Orman Genel Müdürlüğü	Format: xls



**Şekil 1.** Çalışma alanı, Milas ilçesinin coğrafi konumu

**Tablo 2.** Veri katmanlarının hazırlanması

Yapılan analiz	Veri Katmanı	Veri Kaynağı
Veri tabanından veri seçimi	Ağaç türü	Meşcere haritası
	Ağaç yaşı	Meşcere haritası
	Ağaç kapallığı	Meşcere haritası
Topoğrafik analiz	Eğim	Alos Palsar DEM
	Bakı	Alos Palsar DEM
	Yükseklik	Alos Palsar DEM
Tampon bölge analizi	Yola uzaklık	Meşcere haritası
	Yerleşim	Meşcere haritası
	Yerlerine Uzaklık	Meşcere haritası
	Kuru Derelere uzaklık	Meşcere haritası

### 2.3. Veri hazırlama

Çalışma kapsamında kullanılacak katmanların hazırlanması için gerçekleştirilen analizler Tablo 2’de verilmektedir. Muğla Orman Bölge Müdürlüğü’nden temin edilen sayısal meşcere haritası kullanılarak ağaç türü, ağaç yaşı ve ağaç kapallığı katmanları veri seti içerisinde ayrıştırılmıştır. Buna ek olarak meşcere haritası içerisinde bulunan “yollar, yerleşim yeri ve kuru dereler” verileri ayrıştırılmış ve bu verilere tampon bölge analizi uygulanmıştır. Ayrıca ALOS PALSAR DEM verisi ile topoğrafik analizler yapılarak eğim, bakı ve yükseklik katmanları elde edilmiştir. Yapılan analizlerin tümü için ArcGIS 10.7 programından yararlanılmıştır.

Yapılan analizler ile elde edilen veri katmanları Tablo 3’de gösterilen alt katmanlara ayrılmıştır. Veri katmanları için belirlenen tampon bölge sınıfları; Kavlak vd.’nin, orman yangını risk haritası geliştirmek için 2021 yılında yaptıkları çalışmaya göre belirlenmiştir.

### 2.4. Metot

Frekans oranı, belirli bir vakanın ortaya çıkma olasılığı olarak tanımlanmaktadır (Lee vd., 2004; Lee & Evangelista, 2005). Geçmişte meydana gelen olayların gelecekte meydana gelecek olaylar ile aynı koşullar altında gerçekleşeceği varsayımına dayanmaktadır (Jadda vd., 2009). Yüksek Frekans oranı ağırlıklarına sahip parametrelerin, vakanın gerçekleşmesi ile ilgili yüksek bir ilişki olduğunu gösterir (Ozdemir & Altural, 2013). Bu sebeple geçmişte meydana gelen orman yangını konumları ile orman yangınına etkileyen parametreler (veri katmanları) arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için Frekans oranı tekniğinden yararlanılmıştır. Frekans oranı için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$FO_i = (YP_{pix}/(\sum Y_{pix})) / (P_{pix}/(\sum pix)) \quad (1)$$

YP<sub>pix</sub>: Yanan alanın parametre alt sınıfındaki piksel sayısı  
 $\sum Y_{pix}$ : Yanan alanın toplam piksel sayısı  
 P<sub>pix</sub>: Parametre alt sınıfındaki piksel sayısı  
 $\sum pix$ : Çalışma alanındaki toplam piksel sayısını ifade etmektedir.

**Tablo 3.** Çalışma kapsamında kullanılan veri katmanları

Veri Tipi	Veri Katmanı	Alt Katmanlar
Meşcere tipi	Ağaç türü	Kızılcıçam
		Karaçam
		Fıstık çamı
		Yapraklı ağaçlar
	Ağaç yaşı	0
		1
		2
		3
		4
		5
		6
		7
	Ağaç kapallığı	8
		%1 -%10
%10 - %40		
%40 - %70		
Topoğrafik özellikler	Eğim	>60 derece
		45-60 derece
		30-45 derece
		15-30 derece
	Bakı	0 -15 derece
		Güney
		Güney batı
		Güney doğu
		Kuzey batı
		Kuzey doğu
		Kuzey
		Doğu
	Yükseklik	Batı
		Düz
0 - 200 m.		
200 - 400 m.		
400 - 600 m.		
600 - 800 m.		
Kültürel özellikler	Yola uzaklık	800 - 1000 m.
		1000 - 1200 m.
		1200 - 1400 m.
		0 - 50 m.
		50 - 100 m.
		100 - 200 m.
	Kuru derelere uzaklık	200 - 300 m.
		300 - 400 m.
		400-7000 m
		0 - 50 m.
		50 - 100 m.
		100 - 200 m.
	Yerleşim yerine uzaklık	200 - 300 m.
		300 - 400 m.
400 - 500 m.		
500 - 1000 m.		
1000 - 9000m		
1000 - 9000m		

Çalışma kapsamında bahsi geçen parametreler Tablo 3’de verilen veri katmanlarını, parametre alt sınıfı ise alt katmanları ifade etmektedir.

Şekil 2’de verilen yöntem şemasından da anlaşılacağı üzere, Orman Bölge Müdürlüğü’nden temin edilen yangın noktaları verisi ve Sentinel uydu görüntüleri

kullanılarak yangın alanları tespit edilmiştir. Bu işlem için Sentinel uydu görüntüleri kullanılarak NDVI analizleri yapılmıştır ve farklı zaman periyodundaki NDVI analizlerine görüntü çıkarma tekniği uygulanmıştır. Bitki örtüsü analizleri ile ilgili çalışmalarda oldukça yaygın olarak kullanılan NDVI, yakın kızılötesi bant (NIR) ve kırmızı bant (R) farkı ve toplamının birbirine oranıdır (Rouse vd., 1974).

$$NDVI = (NIR - R) / (NIR + R) \quad (2)$$

Görüntü çıkarma tekniği ise basit bir tanımlama ile; farklı zaman periyodundaki iki görüntünün birbiri üzerine denk gelen piksel değerlerinin birbirinden çıkartılması işlemidir. Böylece iki zaman periyodunda negatif ve pozitif yönde değişen ve değişmeyen alanlar saptanır.

Yangınlardan önceki ve sonraki tarihlere ait NDVI analizlerinin farkı alınarak yangın noktaları verisi ile çakıştırılmış ve noktaların konumunda meydana gelen yangının alanları saptanmıştır. Raster formatında elde edilen yangın alanları, her bir piksel verisinin elde edilmesi için, piksellerin orta noktasına denk gelecek şekilde, 12.5 m x 12.5 m aralıklarında nokta veriye çevrilmiştir (Şekil 3b). Derlenen bu veriler Frekans Oranı tekniğinde kullanılmak üzere; yanan alanın parametre alt sınıfındaki piksel sayısı ve yanan alanın toplam piksel sayısı hesaplamalarının yapılmasında kullanılmıştır. Elde edilen veriler ile Frekans Oranına ait formül kullanılarak her bir parametrenin frekans oranları hesaplanmıştır (EKA.).

Çalışma kapsamında, orman yangınının saptanması için önem derecesi birbirinden farklı 9 adet veri

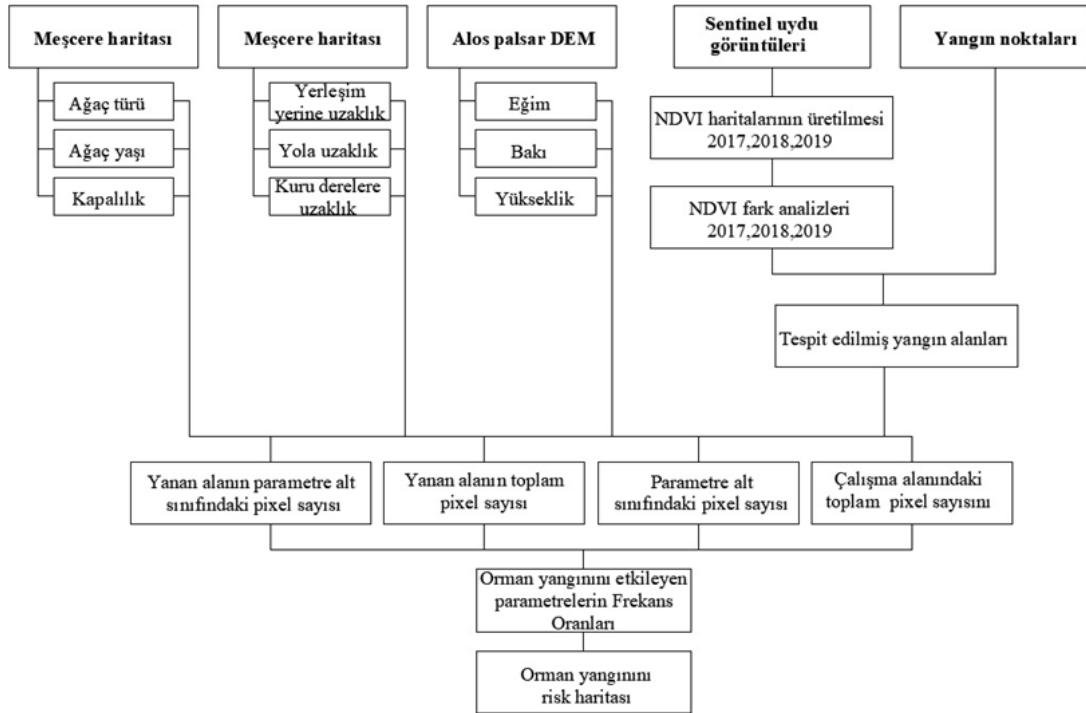
katmanı ve bu veri katmanlarının çok sayıda alt katmanı bulunmaktadır. Bu katmanların hepsi kullanılarak anlamlı bir analiz elde edilebilmesi için her bir pikselde bulunan alt katmanın sahip olduğu, Frekans Oranı sonucu elde edilen puanlar piksel bilgisi olarak kaydedilmiştir. Sonrasında elde edilen puanlar toplanarak her bir piksel için orman yangını risk puanı elde edilmiştir. Bu işlemler için ArcMap'in Map algebra fonksiyonu kullanılmıştır.

### 3. Bulgular

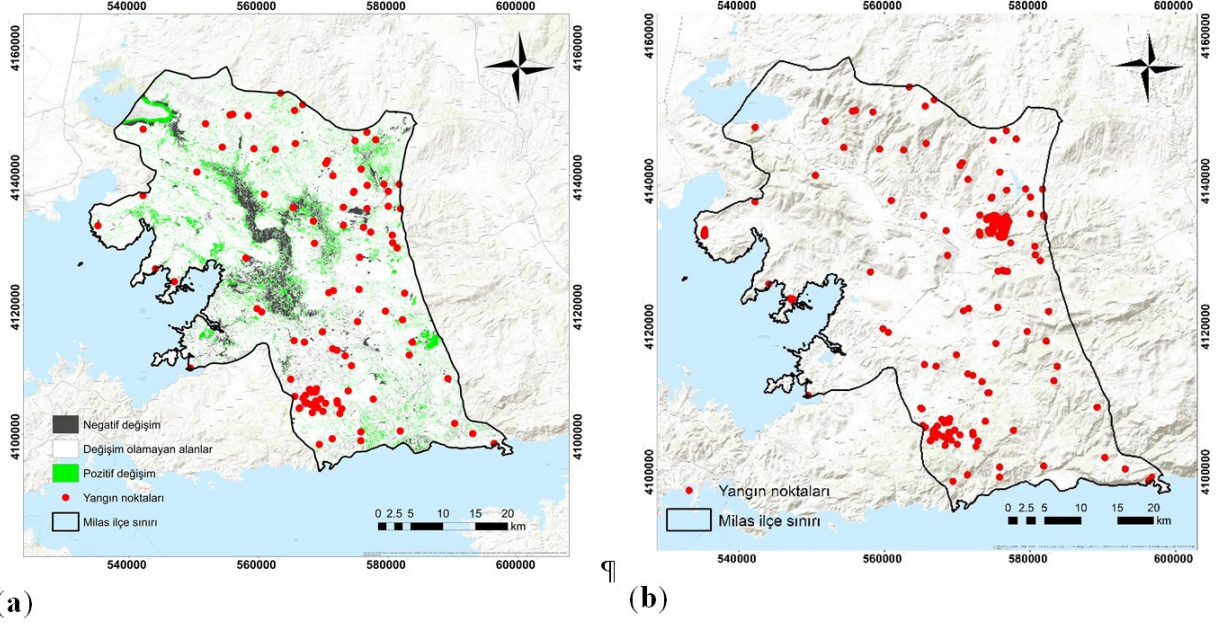
Muğla Orman Bölge Müdürlüğü'nden alınan yangın verisi tek bir noktayı işaret etmekte olup yangının hasar verdiği alana dair bilgi içermemektedir. Yapılan NDVI analizleri ile meydana gelen hasarın tespit edilmesi sağlanmıştır. Böylece yangının gerçekleştiği alan kapsamında çalışma yapılmıştır.

Veri hazırlama kısmında anlatıldığı üzere ilk olarak NDVI analizleri gerçekleştirilmiş ve Milas orman alanlarında negatif ve pozitif değişim gösteren NDVI değerlerine sahip olan alanlar tespit edilmiştir (Şekil 3a). Sonrasında negatif değişim gösteren alanlar ile yangın noktaları çakıştırılmış ve yangının kapladığı alanlar çıkartılmıştır. Yangının kapladığı alanlar nokta veriye dönüştürülmüş ve yanan alanın parametre alt sınıfındaki piksel sayısı ve yanan alanın toplam piksel sayısı hesaplamalarında kullanılmıştır.

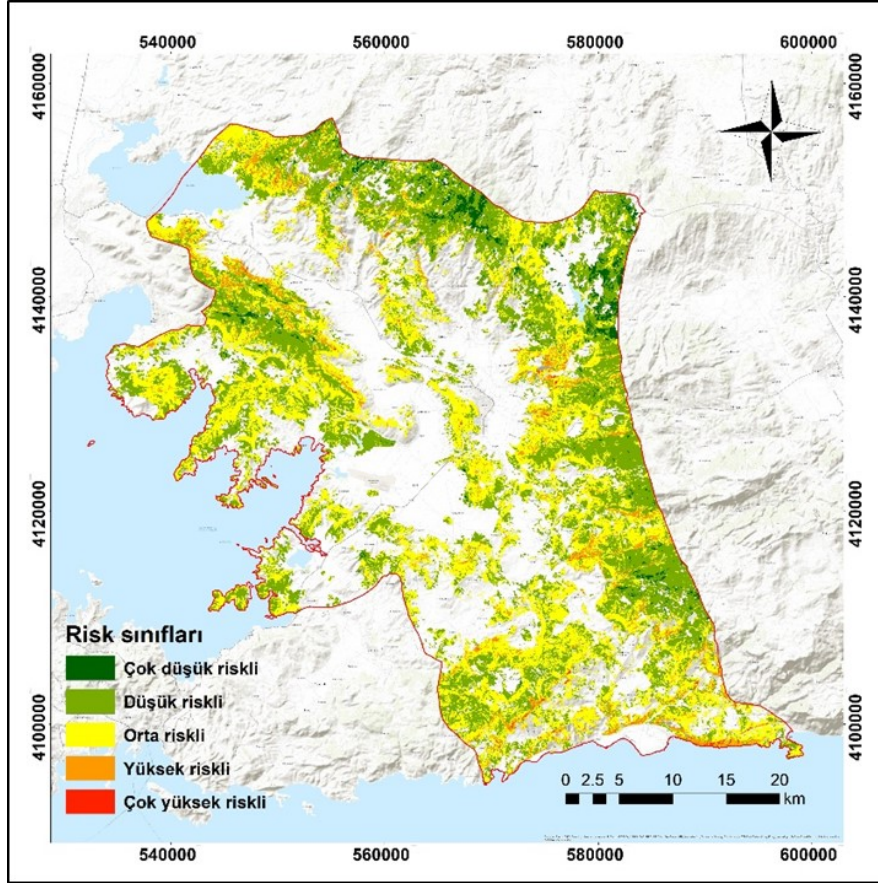
Şekil 3b'de gösterilen noktasal veriler ile bu noktalara ait parametre alt sınıfı verileri kullanılarak saptanan alt veri katmanlarına dair frekans oranları EKA.'da verilmektedir.



Şekil 2. Yöntem şeması



Şekil 3. (a) NDVI analizi sonucu elde edilen değişim paftası ve Muğla Orman Bölge Müdürlüğünden temin edilen yangın noktaları (b) NDVI analizi sonucu elde edilen yangın noktaları



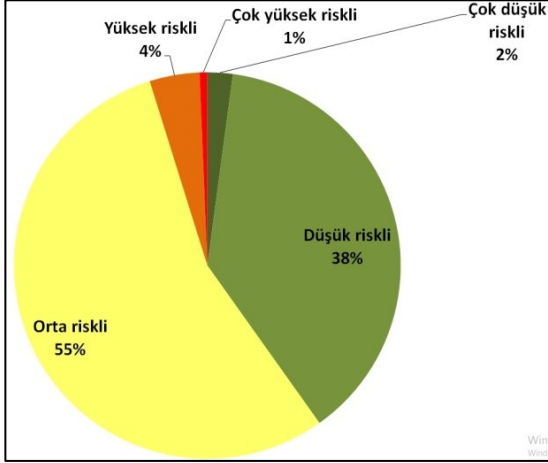
Şekil 4. Frekans oranı yöntemi ile elde edilen orman yangını risk haritası

Frekans oranı, kullanılan parametrelerin ilişki değerlerine göre yorumlanmaktadır. Hesaplanan frekans oranı 1 den ne kadar yüksek ise o parametrenin orman yangınları ile o kadar yüksek ilişkili; 1'den ne kadar küçük ise o kadar alçak ilişki gösterdiği söylenebilir (Akıncı & Sedat Doğan, 2011). Çalışma alanı kapsamında orman yangınları ile en

yüksek ilişki gösteren parametre eğim sınıfında bulunmaktadır. Buna göre %45-60 derece eğim gösteren alanlar en yüksek frekans oranına sahiptir. Ayrıca hesaplamalara göre yaşlı ağaçların ve yüksek rakımda bulunan ormanların orman yangını açısından en düşük frekans oranına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Frekans oranları kullanılarak elde edilen orman yangını risk haritası çok düşük riskli, düşük riskli, orta riskli, yüksek riskli ve çok yüksek riskli olmak üzere 5 grupta sınıflandırılmıştır (Şekil 4).

Çalışma alanında en fazla dağılım gösteren risk sınıfının %55 oran ile orta riskli alanlarda olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5). Çalışma alanında en az görülen risk sınıfı %1'lik oran ile çok yüksek riskli alanlardadır.



Şekil 5. Frekans oranı yöntemi ile elde edilen orman yangını risk sınıfları dağılımı

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Orman yangınlarının çeşitli coğrafi faktörlere bağlı olması, çok sayıda veri kümesinin aynı anda işlenmesini gerekli kılmaktadır. CBS, karmaşık veri kümelerini aynı ölçekte değerlendirebildiğinden, orman yangını risk analizleri açısından oldukça verimli bir araç olarak kullanılmaktadır. Bu çalışma kapsamında orman yangını risk haritasının oluşturulması için frekans oranı yöntemi kullanılmıştır.

Ağaç türleri açısından elde edilen sonuçlara bakıldığında kızılçam türünün frekans oranının en yüksek olduğu yani Kızılçam türünün orman yangınları ile ilişkisinin yüksek olduğu görülmektedir. Çalışma alanı sınırlarında gerçekleşen yangınların hepsi kızılçam ağaç tipi özelliği gösteren ormanlarda meydana gelmiştir. Bunun sebeplerinden biri alandaki hakim bitki örtüsü türünün kızılçam olması sayılabilir. Ayrıca literatürde bulunan bilgilere göre, özellikle kızılçam gibi iğne yapraklı ve kuru karakterdeki türler yangın için uygun koşullar oluştururken, kayın gibi geniş yapraklı ve nemli türler zor yanan ve yangını engelleyici bir özellik gösterirler (Karabulut vd., 2013).

Frekans Oranı yöntemi ile elde edilen verilere göre, orman yangınları ile en düşük ilişki gösteren alt parametreler 1200 m. yükseklikteki ve 8. yaş sınıfında bulunan yaşlı meşcereler olduğu tespit

edilmiştir. Yangın davranışı eğilimi, yüksek rakımlı alanlarda gerçekleşen yağış miktarındaki artış ve sıcaklığın düşmesine bağlı olarak daha az şiddetlidir (Chuvieco & Congalton, 1988). Ayrıca yaşlı meşcerelerde bulunan yanıcı maddeler boyutları ve kalınlıkları sebebi ile bünyelerindeki nemi daha geç bıraktıklarından dolayı tutuşmaları için daha çok ısıya ve yanmaları için daha çok zamana ihtiyaç duymaktadırlar (Bilgili, 2014).

Çalışmada orman yangınları ile en yüksek ilişki gösteren alt parametrelere bakıldığında ise %45-60 derece eğime sahip alanların bu kapsama girdiğini göstermektedir. Yüksek eğimin, yangının yokuş yukarı yayılımını hızlandırdığı konusunda fikir birliği bulunmaktadır (Dupuy, 1995; Van Wagner, 1988)

Baki katmanı açısından bakıldığında orman yangınları ile en düşük ilişkinin düz alanlarda görüldüğünü söylemek mümkündür. Daha önce de ifade edildiği gibi; eğimli arazilerde yangının daha hızlı ilerlediği bilinmektedir (Dupuy, 1995; Van Wagner, 1988).

Frekans oranı yöntemi ile elde edilen sonuçların, literatürde bulunan orman yangınları risk faktörlerine dair bilgiler ile uyum gösterdiği saptanmıştır. Genel olarak irdelendiğinde ise Milas İlçesi'nin %60'ının yangın riski açısından orta, yüksek ve çok yüksek riskli olan alanlardan oluştuğu dikkat çekicidir. Bu oran, Milas ilçesi için orman varlığını tehlikeye atan ciddi bir riske işaret etmektedir. Orman yangınları çoğunlukla telafisi mümkün olmayan can ve mal kayıplarına sebep olabilmektedir. Orman yangınlarıyla mücadele için koruyucu önlemlerin risk haritaları da dikkate alınarak oluşturulması oldukça önemlidir. Koruyucu önlemlerin gerektirdiği şekilde, vatandaşlar orman yangınlarının nasıl önleneceği ve nasıl azaltılacağı konusunda eğitilmelidir. Ayrıca yangın riskinin yüksek olduğu alanlarda yanıcı madde miktarını azaltmak için yol kenarları temiz tutulmalıdır, rekreasyon alanlarının kullanımına ilişkin düzenlemeler gözden geçirilmeli, yerel halk kurullar ve kullanımlar hakkında bilgilendirilmelidir. Bu çalışma kapsamında dinamik olmayan yani kısa zaman aralığında değişmeyecek olan faktörler (meşcere, topoğrafya, kültürel veriler) ele alınmış olup geniş bir zaman periyoduna hitap eden orman yangını risk haritası üretilmiştir. Yağış, sıcaklık nem gibi iklimsel faktörlerin de çalışma yöntemine dahil edildiği, farklı zaman periyotları için üretilecek dinamik risk haritaları ise çalışmayı bir adım öteye taşıyacaktır.

#### Teşekkür

Yazarlar Orman Genel Müdürlüğü'ne ve Muğla Orman Bölge Müdürlüğü'ne veri teminine olan katkılarından dolayı teşekkür ederler.

## Etik Beyanı

*Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.*

## Kaynakça

- [1] Akkaş, M.E., Bucak, C., Boza, Z., Eronat, H., Bekereci, A., Erkan, A., Cebeci, C. (2008). Büyük Orman Yangınlarının Meteorolojik Veriler Işığında İncelenmesi, T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Ege Ormancılık Araştırma Müdürlüğü, Yayın No:333, Müdürlük Yayın No: 048.
- [2] Akıncı, H., & Sedat Doğan, C. K. (2011). Frekans Oranı Metodu Kullanılarak Samsun İl Merkezinin Heyelan Duyarlılık Haritasının Üretilmesi. TMMOB Harita ve Kadastro Mühendisleri Odası 13. Türkiye Harita Bilimsel ve Teknik Kurultayı.
- [3] Arca, D., & Kutoğlu, Ş. H. (2017). Frekans Oranı Metodu ile Heyelan Duyarlılık Haritasının Üretilmesi. TMMOB Harita ve Kadastro Mühendisleri Odası, 16. Türkiye Harita Bilimsel ve Teknik Kurultayı, 16, 3-6.
- [4] Balaban, B., & Becer, M. M. (2017). Frekans Oranı Metodu Kullanılarak Heyelan Duyarlılık Haritası Hazırlanması: Gölpazarı ( Bilecik , Güney Marmara ) Örneği. Ulusal Mühendislik Jeolojisi ve Jeoteknik Sempozyumu. Adana, 12-14.
- [5] Bilgili, E. (2014). Orman koruma dersi geçici ders notları. (Yayınlanmamış), 1-155.
- [6] Butler, B., W. Anderson, and E. Catchpole. (2007). Influence of slope on fire spread rate. in In: Butler, Bret W.; Cook, Wayne, comps. The fire environment--innovations, management, and policy; conference proceedings. Destin, FL. Proceedings RMRS-P-46CD. Fort Collins, CO: US Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. CD-ROM. p. 75-82. 2007.
- [7] Carmel, Y., Paz, S., Jahashan, F., & Shoshany, M. (2009). Assessing fire risk using Monte Carlo simulations of fire spread. Forest Ecology and Management, 257(1), 370-377.
- [8] Catry, T., Ramos, J. A., Le Corre, M., & Phillips, R. A. (2009). Movements, at-sea distribution and behaviour of a tropical pelagic seabird: The wedge-tailed shearwater in the western Indian Ocean. Marine Ecology Progress Series, 391, 231-242. <https://doi.org/10.3354/meps07717>
- [9] Chuvieco, E., & Congalton, R. G. (1988). Mapping and inventory of forest fires from digital processing of tm data. Geocarto International. <https://doi.org/10.1080/10106048809354180>
- [10] Chuvieco, E. and J. Salas, (1996). Mapping the spatial distribution of forest fire danger using GIS. International Journal of Geographical Information Science, 10(3): p. 333-345.
- [11] Cleve, C., Kelly, M., Kearns, F. R., & Moritz, M. (2008). Classification of the wildland-urban interface: A comparison of piksel- and object-based classifications using high-resolution aerial photography. Computers, Environment and Urban Systems, 32(4), 317-326. <https://doi.org/10.1016/j.compenvurbsys.2007.10.001>
- [12] Doerr, S. H., & Santín, C. (2016). Global trends in wildfire and its impacts: Perceptions versus realities in a changing world. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 371(1696). <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0345>
- [13] Dupuy, J. L. (1995). Slope and fuel load effects on fire behaviour :Laboratory experiments in pine needles fuel beds. International Journal of Wildland Fire. <https://doi.org/10.1071/WF9950153>
- [14] Gao, X., Fei, X., & Xie, H. (2011, June). Forest fire risk zone evaluation based on high spatial resolution RS image in Liangyungang Huaguo Mountain Scenic Spot. In Proceedings 2011 IEEE International Conference on Spatial Data Mining and Geographical Knowledge Services (pp. 593-596). IEEE.
- [15] Jadda, M., Shafri, H. Z. M., Mansor, S. B., Sharifikia, M., & Pirasteh, S. (2009). Landslide susceptibility evaluation and factor effect analysis using Probabilistic-Frequency Ratio model. European Journal of Scientific Research.
- [16] Jaiswal, R. K., Mukherjee, S., Kumaran, D. R., Saxena, R., (2002) . Forest fire risk zone mapping from satellite imagery and GIS. International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation, 4(1): p. 1-10.
- [17] Javad, M., Baharin, A., Barat, M., & Farshid, S. (2014). Using frequency ratio method for spatial landslide prediction. Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology, 7(15), 3174-3180. <https://doi.org/10.19026/rjaset.7.658>
- [18] Javier, E. C. (1996). Mapping the spatial distribution of forest fire danger using GIS. Geographical Information Systems, 10(3), 333-345. <https://doi.org/10.1080/026937996138070>
- [19] Kadioğulları, A. İ., Başkent, E. Z., Üniversitesi, K. T., Fakül, O., Mühendisliği, O., & Trabzon, B. (2009). Orman Kaynaklarının Konumsal ve Zamansal Değişiminin Coğrafi Bilgi Sistemleri ve Uzaktan Algılama Teknikleri İle İrdelenmesi:



- İnayet ve Yenice Örneği. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(3), 378-390.  
<https://doi.org/10.19113/sdufbed.83192>
- [20] Karabulut, M., Karakoç, A., Gürbüz, M., & Yakup, K. (2013). Coğrafi Bilgi Sistemleri Kullanarak Başkonuş Dağında ( Kahramanmaraş ) Orman Yangını Risk Alanlarının Belirlenmesi. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, January, 6(24), 171-179.
- [21] Kavlak, M. O., Çabuk, S. N., & Çetin, M. (2021). Development of forest fire risk map using geographical information systems and remote sensing capabilities: Ören case. *Environmental Science and Pollution Research*.  
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-13080-9>
- [22] Lee, S., Choi, J., & Min, K. (2004). Probabilistic landslide hazard mapping using GIS and remote sensing data at Boun, Korea. *International Journal of Remote Sensing*.  
<https://doi.org/10.1080/01431160310001618734>
- [23] Lee, S., & Evangelista, D. G. (2005). Landslide susceptibility mapping using probability and statistics models in Baguio City, Philippines. *Proceedings, 31st International Symposium on Remote Sensing of Environment, ISRSE 2005: Global Monitoring for Sustainability and Security*.
- [24] Modugno, S., Balzter, H., Cole, B., & Borrelli, P. (2016). Mapping regional patterns of large forest fires in Wildland-Urban Interface areas in Europe. *Journal of Environmental Management*, 172(February), 112-126.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.02.013>
- [25] Noonan, E.K. A., (2003) . Coupled model approach for assessing fire hazard at point Reyes national seashore: FlamMap and GIS. in *Second international wildland fire ecology and fire management congress and fifth symposium on fire and forest meteorology*, Orlando, FL. *American Meteorological Society*.
- [26] Ozdemir, A., & Altural, T. (2013). A comparative study of frequency ratio, weights of evidence and logistic regression methods for landslide susceptibility mapping: Sultan mountains, SW Turkey. *Journal of Asian Earth Sciences*.  
<https://doi.org/10.1016/j.jseaes.2012.12.014>
- [27] Patz, J. A., Frumkin, H., Holloway, T., Vimont, D. J., & Haines, A. (2014). Climate change: Challenges and opportunities for global health. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 312(15).  
<https://doi.org/10.1001/jama.2014.13186>
- [28] Rogan, J., Miller, J., Wulder, M. A., (2014). Integrating GIS and remotely sensed data for mapping forest disturbance and change. *Understanding forest disturbance and spatial pattern: Remote sensing and GIS approaches*, p. 133-172.
- [29] Siachalou, S., Doxani, G., & Tsakiri-Strati, M. (2009). Integrating Remote Sensing Processing and GIS to Fire Risk Zone Mapping: a Case Study for the Seih-Sou Forest of Thessaloniki. *Proceedings of the 24th International Cartographic Conference (ICC)*, January 2016, 1-10.  
[http://icaci.org/documents/ICC\\_proceedings/IC\\_C2009/html/nonref/6\\_10.pdf](http://icaci.org/documents/ICC_proceedings/IC_C2009/html/nonref/6_10.pdf)
- [30] Tien Bui, D., Bui, Q. T., Nguyen, Q. P., Pradhan, B., Nampak, H., & Trinh, P. T. (2017). A hybrid artificial intelligence approach using GIS-based neural-fuzzy inference system and particle swarm optimization for forest fire susceptibility modeling at a tropical area. *Agricultural and Forest Meteorology*, 233.  
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2016.11.002>
- [31] Van Wagner, C. E. (1988). Effect of slope on fires spreading downhill. *Canadian Journal of Forest Research*.
- [32] Verma, S., & Jayakumar, S. (2012). Impact of forest fire on physical, chemical and biological properties of soil: A. *Proceedings of the International Academy of ...*, 2(3), 168-176.  
[http://www.iaees.org/publications/journals/piaees/articles/2012-2\(3\)/impact-of-forest-fire.pdf](http://www.iaees.org/publications/journals/piaees/articles/2012-2(3)/impact-of-forest-fire.pdf)
- [33] Viegas, D.X., (2004). Slope and wind effects on fire propagation. *International Journal of Wildland Fire*, 13(2): p. 143-156.
- [34] Anonim, 2020.<http://www.milas.gov.tr/milasin-tarihcesi> (Erişim tarihi: 21.05.2020)
- [35] Anonim,2021.<https://mugla.ktb.gov.tr/TR270754/cografya-konum-iklim-ulasim.html> (Erişim tarihi: 01.05.2021)

## Ekler

### Ek A. Veri katmanları frekans oranları

Ağaç Yaşı				Ağaç türü				Ağaç kapallığı			
	Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı		Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı		Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı
0	3080558	12473	1.06	Kızılcıam	6614219	27330	1.08	%1 -%10	3080558	12473	1.06
1	504798	1305	0.68	Karaçam	69442	1	0.00	%10 - %40	1468478	5428	0.97
2	567505	3864	1.78	Fıstık çamı	444076	3	0.00	%40 - %70	1506712	4128	0.72
3	556303	1106	0.52	Yapraklı Ağaçlar	31750	4	0.03	%70 üzeri	1103739	5305	1.26
4	1198035	6795	1.49								
5	579850	1108	0.50								
6	255711	82	0.08								
7	247343	594	0.63								
8	169384	7	0.01								
Kuru derelere uzaklık				Yerleşim yerine uzaklık				Yola uzaklık			
	Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı		Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı		Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı
0 - 50 m.	674588	2031	0.79	0 - 50 m.	32115	92	0.75	0 - 50 m.	390393	1422	0.95
50-100 m.	701395	2075	0.77	50-100 m.	38480	120	0.82	50-100 m.	365227	1630	1.17
100-200 m.	1388093	4522	0.85	100-200 m.	103333	304	0.77	100-200 m.	684266	2797	1.07
200-300 m.	1225192	4495	0.96	200-300 m.	135782	647	1.25	200-300 m.	629382	2451	1.02
300-400 m.	970208	3615	0.98	300-400 m.	165974	494	0.78	300-400 m.	583442	1607	0.72
400-700 m.	2200012	10596	1.26	400-500 m.	188772	410	0.57	400-12500 m.	4506777	17427	1.01
				500-1000 m.	1215211	2730	0.59				
				1000-1500 m.	1359091	9129	1.76				
				1500-10000 m.	3920729	13408	0.90				
Yükseklik				Bakı				Eğim			
	Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı		Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı		Tüm alandaki piksel sayısı	Yangınlı alandaki piksel sayısı	Frekans oranı
0-200m	1116978	3665	0.86	Düz alanlar	21752	34	0.41	0-15 derece	3344776	7095	0.56
200-400m	1736506	9564	1.44	Kuzey	439835	1222	0.73	15-30 derece	3348879	13733	1.07
400-600m	1525951	7916	1.36	Kuzeydoğu	719056	3219	1.17	30-45 derece	441836	6061	3.59
600-800m	1647756	5474	0.87	Doğu	697869	2830	1.06	45-60 derece	22718	428	4.93
800-1000m	795860	701	0.23	Güneydoğu	893804	5036	1.48	>60 derece	1278	17	3.48
100-1200m	297070	14	0.01	Güney	1073259	3327	0.81				
1200-1400m	39366	15	0.10	Güneybatı	1064894	2377	0.58				
				Batı	934639	2724	0.76				
				Kuzeybatı	916204	5241	1.50				
				Kuzey	398174	1324	0.87				

## Synthesis and Characterization of NiO Nanoparticles by Using Thermal Decompositions of Ni(II) – ONO and ONNO Type Schiff Base Complexes

Sevi ÖZ<sup>1</sup>, Pınar Acar BOZKURT<sup>2</sup>, Şaziye Betül SOPACI<sup>3</sup>, Nurcan ACAR<sup>2</sup>, Orhan ATAKOL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi, Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 06300, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 06530, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 40100, Kırşehir, Türkiye

(Alınış / Received: 16.09.2021, Kabul / Accepted: 24.01.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Keywords

ONO type Schiff base,  
ONNO type Schiff base,  
Schiff base complexes,  
Thermal decomposition,  
NiO nanoparticles

**Abstract:** Five different Nickel (II) complexes were prepared using a ONNO type Schiff base bis-N,N'(salicylidene)-1,3-propanediamine (LH<sub>2</sub>) and an ONO type Schiff base N(2-hydroxy)salicylaldimine (SAPH<sub>2</sub>) in the presence of NH<sub>3</sub> or amine and NiO nanoparticles were obtained with thermal decomposition of this complexes in air. The prepared complexes and Schiff bases have been characterized by element analysis, IR spectroscopy, Thermogravimetry (TG), <sup>1</sup>HNMR and <sup>13</sup>CNMR spectroscopy, Mass Spectrometry (MS), Atomic absorption spectrometry (AAS), and Scanning Electron Microscopy (SEM). The surface area of the obtained nanoparticle NiO material was measured by the Brunauer-Emmett-Teller (BET) method. The thermal decomposition products NiO nanoparticles were investigated with XRD, and SEM technics. SEM investigations showed that due to the very little solubility of the prepared two complexes and consequently they were precipitated in the form of nanoparticles. In addition, it observed that this very insoluble complexes are converted to NiO nanoparticles a result of thermal decomposition.

## Ni(II) – ONO ve ONNO Tipi Schiff Bazı Komplekslerinin Termal Bozunmalarını Kullanarak NiO Nanopartiküllerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

### Anahtar Kelimeler

ONO tipi Schiff bazı,  
ONNO tipi Schiff bazı,  
Schiff bazı kompleksleri,  
Termal bozunma,  
NiO nanoparçacıkları

**Öz:** Bir ONNO tipi Schiff bazı olan bis-N,N'(salisiliden)-1,3-propandiamin (LH<sub>2</sub>) ve ONO tipi Schiff bazı olan N(2-hidroksi)salisilaldimin (SAPH<sub>2</sub>) kullanılarak beş farklı Nikel (II) kompleksi NH<sub>3</sub> veya amin varlığında hazırlandı ve bu komplekslerin havada termal bozunması ile NiO nanoparçacıkları elde edildi. Hazırlanan kompleksler ve Schiff bazları, element analizi, IR spektroskopisi, Termogravimetri (TG), <sup>1</sup>HNMR ve <sup>13</sup>CNMR spektroskopisi, Kütle Spektrometrisi (MS), Atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS), ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile karakterize edildi. Elde edilen nanoparçacık NiO malzemenin yüzey alanı Brunauer-Emmett-Teller (BET) yöntemi ile ölçüldü. NiO nanoparçacıklarının termal bozunma ürünleri XRD ve SEM teknikleri ile incelendi. SEM incelemeleri, hazırlanan iki kompleksin çözünürlüğünün çok az olması nedeniyle nanopartiküller halinde çöktüğünü gösterdi. Bu sebepten dolayı çözünmeyen komplekslerin termal bozunma sonucunda NiO nanoparçacıklarına dönüştüğü gözlemlendi.

### 1. Introduction

Bis-N,N'(salicylidene)-1,3-diaminopropane (LH<sub>2</sub>) Schiff base has long been known is a ONNO type tetradentate ligand and this Schiff base gives many mono and polynuclear complexes with some first and second series transition elements [1-21]. The structure of mononuclear complexes given by Ni (II) and Cu (II) ions have been known since 1985, [(NiL) and [CuL]] [22]. Especially, the mononuclear Ni (II)

complex of this ligand can create homo- and hetero-dinuclear [1-3], trinuclear [4-17], tetranuclear [18] and polynuclear [19] complexes with square pyramid or octahedral coordination spheres along with coligands such as picoline, acetate, nitrate and N,N'-dimethylformamide.

The general formula of the dinuclear complexes prepared using the NiL complex is in the form of [NiL.MX<sub>2</sub>.(DMF)<sub>2</sub>] (M=Cd(II), Zn(II), X= Cl<sup>-</sup> or Br<sup>-</sup>) and

the trinuclear complexes in the  $[(NiL)_2.MX_2.S_z]$  ( $M=Mn(II), Fe(II), Cu(II), Ni(II), Cd(II), Zn(II), X= Cl, AcO^-, NO_2^-, NO_3^-, S= Solvent \text{ or } DMF, z= 0 - 2$ ) form [1-17]. The  $[NiL]$  mononuclear complexes are diamagnetic complexes of which molecular structures are illuminated in 1985, and they are soluble in polar solvents at hydrothermal conditions. When a small amount of  $H_2O$  is added to this solution, the complex of  $[NiL.H_2O]$  is obtained as solid green crystals [21]. In addition, if  $NH_3$  used as coligand with the Schiff base  $LH_2$ , the complexes in the stoichiometry of  $[Ni_2L_2(NH_3)_3]$  and  $[Ni_2L_2.NH_3]$  is obtained. These complexes can be obtained if we add  $NH_3$  to the  $NiL$  complex dissolved in polar solvents. These  $NH_3$  complexes are not found in the literature. The decomposition order of  $[Ni_2L_2(NH_3)_3]$  is shown in Fig. 1.

$N(\text{salicylidene})\text{-}2\text{-hydroxyaniline}$  ( $SAPH_2$ ) is a tridentate ligand in the type of ONO and this ligand gives mononuclear complexes with I and II. series transition elements like  $LH_2$ , [23-27]. However, in particular, the  $Ni(II)$  complex of this Schiff base is dinuclear coordinated and in crystal lattice supra-molecular structure called pseudo-octahedral in solid state [24, 26]. This supramolecular structure is converted with an amine addition, which is transformed into mononuclear complexes in square plane coordination. The  $NiSAP$  complex is a complex that has been studied for many years. It is hardly ever soluble in solvents and could be dissolved, if  $NH_3$ ,  $Et_2NH$  or  $C_5H_{11}N$  (piperidine) is added and it gives the mononuclear and diamagnetic complexes in the stoichiometry of  $[NiSAP.NH_3]$ ,  $[NiSAP.Et_2NH]$  or  $[NiSAP.C_5H_{11}N]$  (or  $[NiSAP.pip]$ ). In this complex,  $NH_3$  or amine are connected to the metal atom in a coordinated manner. Between 180 – 320 °C, this amine or  $NH_3$  is removed from the structure and transformed into a  $[NiSAP]$  complex again, according to the reactions given in Fig. 2 [23-27].

It is known that the  $[NiSAP]$  and  $[NiL.NH_3)_2.NH_3]$  are very low soluble complexes and they are precipitated as extremely fine particles. The proposed study was carried out in order to be able to produce  $NiO$  nanoparticles from these less soluble complexes. Since they are likely to precipitated as nanoparticles, it was investigated that if these nanoparticles are produced as a result of thermal decomposition of precipitation of these low soluble complexes. In this respect, all the complexes were prepared and examined by thermogravimetric (TG) analysis and in addition made thermokinetic analysis using the results of thermogravimetric analysis. Similarly, we also investigated final product of thermal decomposition  $[NiSAP.NH_3]$ ,  $[NiSAP.Et_2NH]$  and  $[NiSAP.pip]$  complexes. Numerous studies have been reported in the literature to prepare nanoparticles in this way [28-39]. The particle sizes of low soluble complexes were identified by Scanning Electron Microscope (SEM). Also the complexes produced as a result of thermal degradation in the air by heating up to 450 °C and the obtained  $NiO$  was examined with SEM again. Along with the SEM, the X-Ray powder diffraction (XRD) method has been used to examine insoluble complexes and obtained  $NiO$  and the particle dimensions were calculated. The surface area of less-soluble complexes and obtained  $NiO$  were calculated with the Brunauer-Emmet-Teller (BET) method and the obtained results were compared.

## 2. Material and Method

The TG-DTA studies were actualized with Shimadzu DTG-60H and these analyses were carried out in Pt pans at different heating rates under nitrogen atmosphere. The IR spectra of the ligands and complexes were actualized by the use of Shimadzu Infinity model FTIR. C, H and N analyses were carried out by Eurovector 3018 CHNS analyzer. Ni analyses of the complexes were made by GBC Avanta PM Model

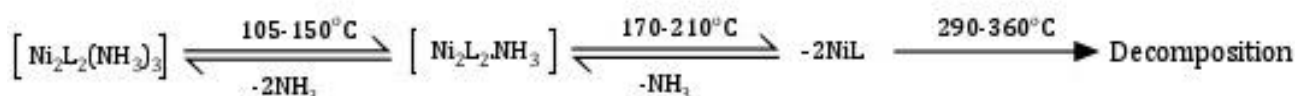


Figure 1. Decomposition order of  $[Ni_2L_2(NH_3)_3]$

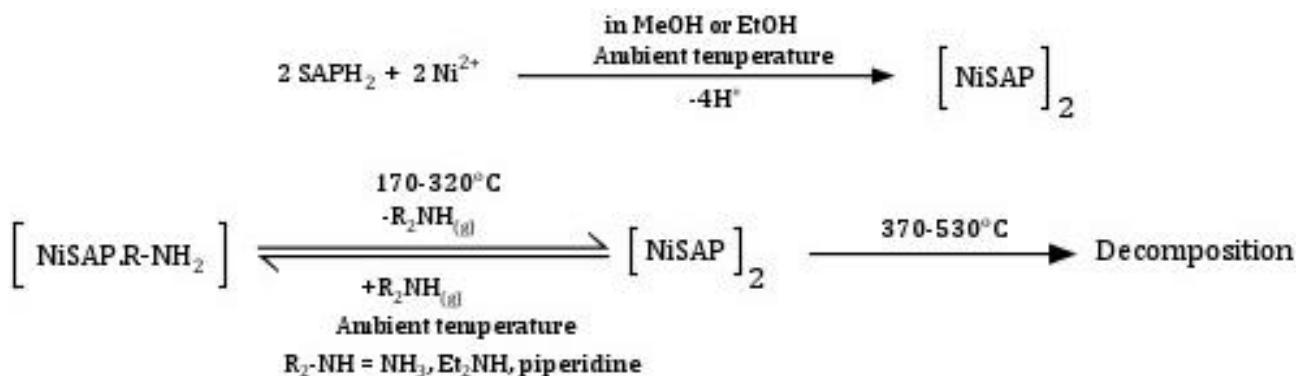


Figure 2. Decomposition of  $[NiSAP.R-NH_2]$

flame atomic absorption (FAAS) device. The NMR spectra of the ligands were recorded with a Varian brand Mercury model 400MHz NMR spectrophotometer in  $d_6$ -DMSO. Similarly, were recorded the Mass spectra of the ligands using Shimadzu 2010 Plus GCMS included Direct Inlet (DI) unit. The surface area of complexes and pyrolyzed product NiO were measured by Brunauer-Emmet-Teller method in Quantachrome Nova 2200e device using  $N_2$  with 18 hours degassing time at 110 °C equilibrium temperature

## 2.1. Ligands

*Preparation of Bis-N,N'(salicylidene)-1,3-diaminopropane (LH<sub>2</sub>):* 2-Hydroxy-benzaldehyde (0.1 mol) has been dissolved in 120 cm<sup>3</sup> of warm EtOH. After 0.05 mol of 1, 3-diaminopropane has been added to this solution, heated up to the boiling point. After cooling, it was air-dried and the yellow crystals were filtered. Yield: 90–95%, Melting Point (mp): 58°C.

*Elemental Analysis for (LH<sub>2</sub>) C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:* Anal. Calcd. %: C 72.32; H 6.43; N 9.92; Found % C 71.95; H 6.33; N 10.09.

*Important IR data (cm<sup>-1</sup>):*  $\nu_{O-H}$ : 2627,  $\nu_{C-H(Ar)}$ : 3021-3019,  $\nu_{C-H(Aliph)}$ : 2929-2862,  $\nu_{C=N}$ : 1629,  $\nu_{C=C(ring)}$ : 1608,  $\nu_{C-O(Phenol)}$ : 1274- 1151,  $\delta_{C-H(Ar)}$ : 762.

$\lambda_{max}$ =243nm,  $\epsilon$ =7045 dm<sup>3</sup>mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> in DMSO,  $\lambda_{max}$ =242 nm,  $\epsilon$ =7865 dm<sup>3</sup>mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> in MeOH.

*<sup>1</sup>HNMR data in  $d_6$ -CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> ( $\delta$ , ppm):* 13.51 (s) (O-H), 8.60 (s) (-CH=), 7.43 (d) (H<sub>Ar</sub>), 7.32(t) (H<sub>Ar</sub>), 6.88 (t) (H<sub>Ar</sub>), 3.68 (t) (N-CH<sub>2</sub>-), 2.01 (p) (-CH<sub>2</sub>-).

*<sup>13</sup>CNMR data in  $d_6$ -CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> ( $\delta$ , ppm):* 166.6, 161.1, 132.7, 132.1, 119.1, 118.9 (C<sub>Ar</sub>), 116.9 (-C=N), 58.5 (N-CH<sub>2</sub>-), 31.9 (-CH<sub>2</sub>-).

*MS m/z:* 282 [M]<sup>+</sup>, 161 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH=N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 148 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH=N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (BP), 134 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH=N-CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 120 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH=N]<sup>+</sup>, 107 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 77 [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>.

*Preparation of N(salicylidene)-2-hydroxyaniline (SAPH<sub>2</sub>):* This Schiff base was prepared from 0.04 mol salicylaldehyde and 0.04 mol 2-hydroxyaniline in EtOH as given above. Yield: 80%, mp: 183 °C.

*Elemental Analysis for C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>* Anal. Calcd. %: C: 73.26, H: 5.20, N: 6.56; Found %: C: 72.57, H: 4.79, N: 6.48.

*Important IR data (cm<sup>-1</sup>):*  $\nu_{O-H}$ : 2692-2553,  $\nu_{C-H(Ar)}$ : 3047,  $\nu_{C-H(imin)}$ : 2839,  $\nu_{C=N}$ : 1624,  $\nu_{C=C(ring)}$ : 1589,  $\nu_{C-O(Phenol)}$ : 1219- 1111,  $\delta_{C-H(Ar)}$ : 747.

*<sup>1</sup>HNMR data in  $d_6$ -CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> ( $\delta$ , ppm):* 13.80 (s, 1H) (OH), 9.93(s, 1H) (OH), 8.78 (s, 1H) (-CH=), 7.63-6.81 (m, 8H) (H<sub>Ar</sub>).

*<sup>13</sup>CNMR data in  $d_6$ -CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> ( $\delta$ , ppm):* 162.2 (C=N), 160.5, 151.2 (C-O), 134.9, 132.9, 132.2, 128.1, 122.3, 119.7, 119.0, 118.9 116.7, 116.4 (C<sub>Ar</sub>).

*MS m/z:* 213 [M]<sup>+</sup> (Base peak), 196 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH=N-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 120 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH=N]<sup>+</sup>, 107 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 93 [HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 77 [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>.

## 2.2. Complexes

*Preparation of [Ni<sub>2</sub>L<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]:* 0.05 mol LH<sub>2</sub> has been dissolved in 100 mL EtOH by mixing in 3 different beakers. To these solutions were added 4.0, 10.0 and 20.0 mL concentrated ammonia respectively and heated to boiling point. Then was added a solution of 0.05 mol NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O in 50 mL MeOH to these solutions respectively. After 3-4 hours a light green precipitates have been filtered and dried in air. Yield: 98%, mp: not detected.

*Elemental Analysis for C<sub>34</sub>H<sub>41</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>Ni<sub>2</sub>:* Anal. Calcd. %: C:56.01, H:5.66, N:13.44, Ni:16.01; Found % C: 55.45, H:5.29, N:13.09, Ni:15.73.

*Important IR data (cm<sup>-1</sup>):*  $\nu_{N-H}$ :3309-3219-,  $\nu_{C-H(Ar)}$ : 3045-3022,  $\nu_{C-H(imin)}$ : 2941-2854,  $\nu_{C=N}$ :1616,  $\nu_{C=C(ring)}$ : 1583-1535,  $\nu_{C-O(Phenol)}$ : 1195- 1124,  $\delta_{C-H(Ar)}$ : 750.

*Thermogravimetric Analysis:* Calculated mass loss of removed NH<sub>3</sub> %: 6.99, found %: 6.95±0.12

*Preparation of [NiL]:* The [NiL] complex can be prepared in ethanol in the form of NiCl<sub>2</sub> and LH<sub>2</sub> at pH 9, but NiL prepared by this method is obtained as big needle crystals [21]. In this study, NiL was obtained as a result of ammonia loss of [Ni<sub>2</sub>L<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] light brown complex at 170-190 °C [20,21].

*Elemental Analysis for C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Ni:* Anal. Calcd. %: C: 60.23, H: 4.76, N: 8.33, Ni: 17.33; Found % C: 59.84, H: 4.51, N: 7.99, Ni: 17.19.

*Important IR data (cm<sup>-1</sup>):*  $\nu_{C-H(Ar)}$ : 3051-3033,  $\nu_{C-H(Aliph)}$ : 2965-2922,  $\nu_{C=N}$ : 1608,  $\nu_{C=C(ring)}$ : 1595-1542,  $\delta_{CH_2}$ : 1475,  $\nu_{C-O(Phenol)}$ : 1199- 1082,  $\delta_{C-H(Ar)}$ : 744-725.

*Preparation of [NiSAP]:* 0.002 mol SAPH<sub>2</sub> was dissolved in 80 mL EtOH under stirring and heating [24]. To this solution, 0.002 mol NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O in 20 mL hot MeOH was added and yellow precipitate filtered and dried in an oven at 80°C. Yield 80%

*Elemental Analysis for C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>Ni:* Anal. Calcd. %: C: 57.20, H: 3.26, N: 5.36, Ni: 21.82; Found % C: 57.64, H: 3.83, N: 5.22, Ni: 21.98.

*Important IR data (cm<sup>-1</sup>):*  $\nu_{C-H(Ar)}$ : 3047-3025,  $\nu_{C=N}$ : 1605,  $\nu_{C=C(ring)}$ : 1595-1541,  $\nu_{C-O(Phenol)}$ : 1190- 1137,  $\delta_{C-H(Ar)}$ : 751.

*Preparation of [NiSAP.NH<sub>3</sub>], [NiSAP.Et<sub>2</sub>NH], [NiSAP.pip]:* For the [NiSAP.NH<sub>3</sub>], 0.002 mol SAPH<sub>2</sub>

was dissolved in 80 mL EtOH under stirring and heating. To this solution was added firstly 5 mL concentrated  $\text{NH}_3$  then a solution of 0.002 mol  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  in 20 mL hot MeOH. The mixture was refluxed half an hour. After crystallization, the brown crystals were filtered and dried in air [24-26]. Yield approximately 50%, mp: not determined.

*Elemental Analysis for  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{Ni}$ :* Anal. Calcd. %: C: 53.71, H: 4.05, N: 9.28, Ni: 20.42; Found % C: 54.41, H: 4.18, N: 9.76, Ni: 20.48.

*Important IR data ( $\text{cm}^{-1}$ ):*  $\nu_{\text{N-H}}$ :3330-3223-,  $\nu_{\text{C-H(Ar)}}$ : 3052-3018,  $\nu_{\text{C=N}}$ :1603,  $\nu_{\text{C=C(ring)}}$ :1587-1545,  $\nu_{\text{C-O(Phenol)}}$ :1192- 1088,  $\delta_{\text{C-H(Ar)}}$ :756.

*Thermogravimetric Analysis:* Calculated mass loss of removed  $\text{NH}_3$  %: 5.93, found %: 5.85±0.08

For  $[\text{NiSAP.Et}_2\text{NH}]$  preparation 0.002 mol  $\text{SAPH}_2$ , 0.002 mol  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  and 2.0 mL diethylamine, for  $[\text{NiSAP.pip}]$  complex 0.002 mol  $\text{SAPH}_2$ , 0.002 mol  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  and 2.0 mL piperidine were used and obtained square planar diamagnetic complexes.

For  $[\text{NiSAP.Et}_2\text{NH}]$  was found the yield approximately % 25, mp: not determined.

*Elemental Analysis for  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Ni}$ :* Anal. Calcd. %: C: 59.55, H: 5.87, N: 8.16, Ni: 17.12; Found % C: 58.93, H: 5.12, N: 7.75, Ni: 16.54.

*Important IR data ( $\text{cm}^{-1}$ ):*  $\nu_{\text{N-H}}$ :3346-3257-,  $\nu_{\text{C-H(Ar)}}$ : 3055-3019,  $\nu_{\text{C=N}}$ :1606,  $\nu_{\text{C=C(ring)}}$ :1595-1541,  $\nu_{\text{C-O(Phenol)}}$ :1208- 1097,  $\delta_{\text{C-H(Ar)}}$ :756.

*Thermogravimetric Analysis:* Calculated mass loss of removed  $\text{Et}_2\text{NH}$  %: 21.50, found %: 21.50±0.06.

For  $[\text{NiSAP.pip}]$  was found the yield approximately % 30, mp: not determined.

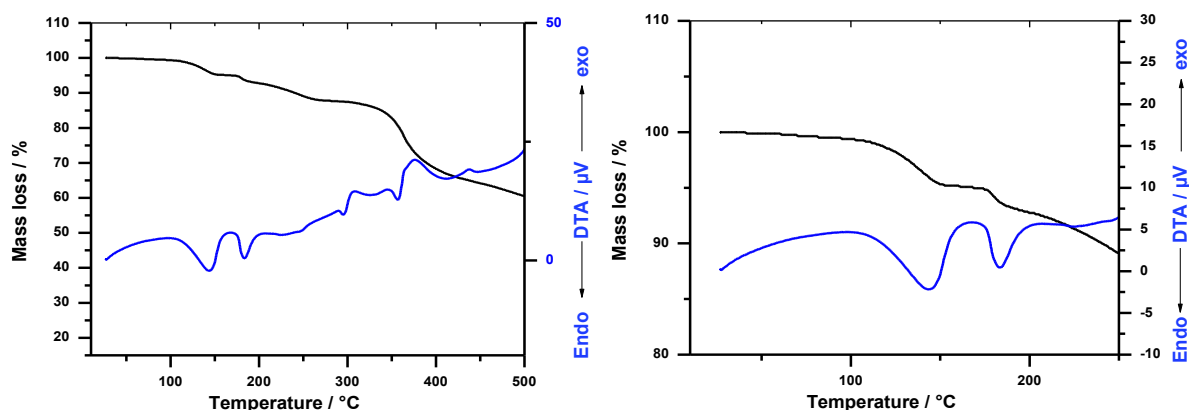
*Elemental Analysis for  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Ni}$ :* Anal. Calcd. %: C: 60.63, H: 5.69, N: 7.80, Ni: 16.79; Found % C: 60.89, H: 5.63, N: 7.89, Ni: 16.15.

*Important IR data ( $\text{cm}^{-1}$ ):*  $\nu_{\text{N-H}}$ :3341-3253-,  $\nu_{\text{C-H(Ar)}}$ : 3053-3017,  $\nu_{\text{C=N}}$ :1605,  $\nu_{\text{C=C(ring)}}$ :1590-1543,  $\nu_{\text{C-O(Phenol)}}$ :1195- 1084,  $\delta_{\text{C-H(Ar)}}$ :751.

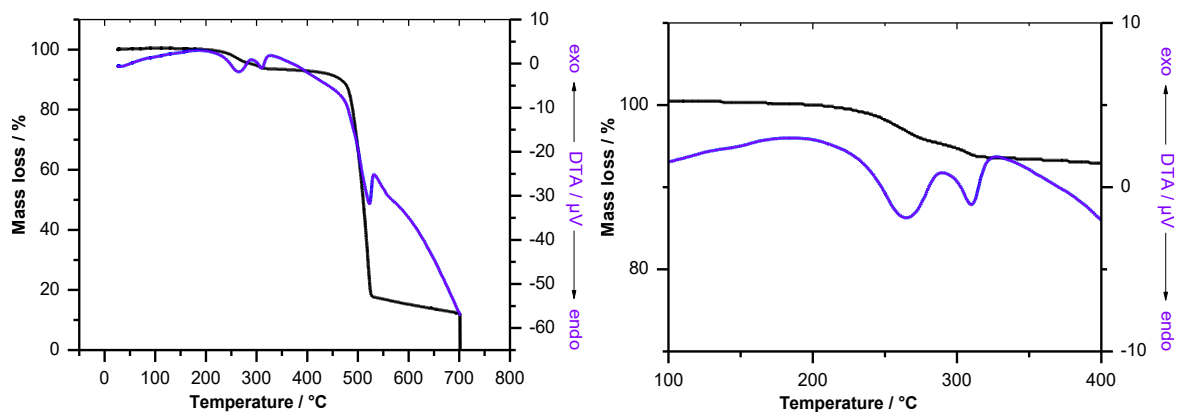
*Thermogravimetric Analysis:* Calculated mass loss of removed  $\text{Et}_2\text{NH}$ : 24.20%, found %: 23.87±0.44.

### 3. Results and Discussion

The results of the element analysis confirm the stoichiometry of the complexes. In addition, the results of thermogravimetric analysis support the stoichiometry of the co-ligand mass losses. The TG curves of the prepared complexes and the thermoanalytical data from these curves were given in Fig. 3-6 and in Table 1. Fig. 3a shows the thermal decomposition of the complex, the  $[\text{NiL}]$  complex remaining after two-step ammonia loss up to 300 °C. Mass loss due to thermal decomposition of the  $[\text{NiL}]$  complex is observed after 340 °C. The  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  is a paramagnetic complex. The molecular model of this complex has not been determined due to not being able to obtain suitable single crystal and there is no study available about this complex in the literature. The 13.09% of nitrogen were found according to the element analysis of this complex. It is difficult to explain this result. However, sometimes TG is more helpful than element analysis to determine the stoichiometry of complexes [40]. According to TG the  $\text{NH}_3$  in the complex  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  is separated into two steps as seen in Fig. 3. There is a mass loss of 6.95% in total, 4.50% of  $\text{NH}_3$  removed in the first step, and 2.45% of it leave the structure in the second step and the remaining structure is the  $[\text{NiL}]$  mononuclear complex. The total ammonia mass loss indicates that the complex stoichiometry is  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  and the mass loss of 4.50% in the first step shows that the two moles ammonia in this step are separated from the structure and the residual mass is  $[\text{Ni}_2\text{L}_2.\text{NH}_3]$ , the expected theoretical mass loss for this first step is 4.66%. The mass loss of 2.45% in the second step shows the last ammonia leaves the structure and the expected mass loss for this first step is 2.33%. In this case, the residual mass is diamagnetic  $\text{NiL}$  mononuclear complex.

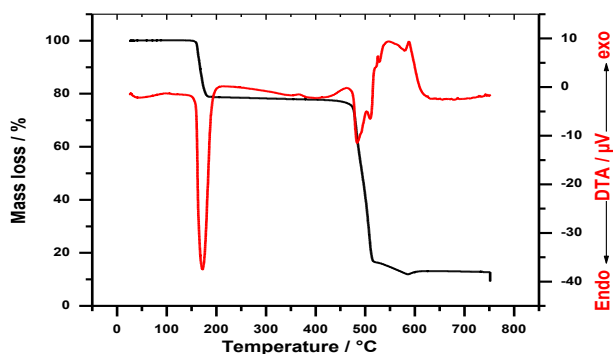


**Figure 3.** The TG-DTA curves of  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  and zoomed view of  $\text{NH}_3$  removal zone.



**Figure 4.** TG-DTA curves of  $[\text{NiSAP.NH}_3]$  and zoomed view of the  $\text{NH}_3$  removal zone.

In the intermediate product,  $[\text{Ni}_2\text{L}_2.\text{NH}_3]$  complex, it is difficult to estimate the coordination but one similar complex structure has been reported in the literature [41]. The structure of the reported complex  $[\text{Ni}_2\text{L}_2.\text{NH}_2\text{-CH}_3]$  has been given in the literature. In this complex, the place of  $\text{NH}_3$  has been replaced by methylamine. Similarly, the co-ligands of the structures of complexes  $[\text{NiSAP.NH}_3]$ ,  $[\text{NiSAP.Et}_2\text{NH}]$  and  $[\text{NiSAP.pip}]$  are thermally separated from the structure at the 160-320 °C temperature range Fig. 4-6. As given in Table 1, the mass loss of the co-ligands are expected values and residual mass is corresponds to expected  $[\text{NiSAP}]$  mass. The residual  $[\text{NiSAP}]$  is thermal decomposed after 370 °C. The  $[\text{NiSAP.NH}_3]$ ,  $[\text{NiSAP.Et}_2\text{NH}]$  complexes and very similar complex of  $[\text{NiSAP.pip}]$  have been reported in the literature and the X-rays diffraction studies show that their coordination is determined to be square planar [42-44]. Square planar Ni(II) complexes are known as diamagnetic complexes [45]. In the TG curves of these complexes it is seen that approximately between 160-320 °C, the amines or  $\text{NH}_3$  which found in the structure, were separated and the mass loss found as it is expected and the residue is paramagnetic  $[\text{NiSAP}]$ .

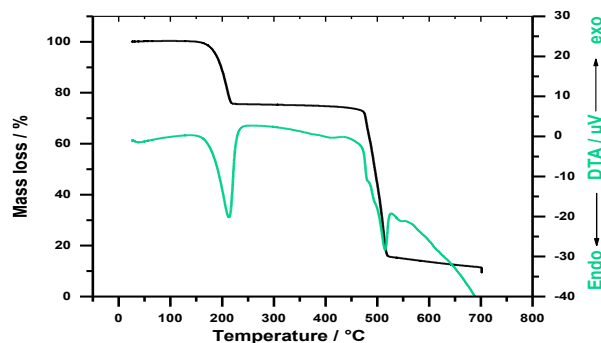


**Figure 5.** TG-DTA curves of  $[\text{NiSAP.Et}_2\text{NH}]$

As seen in Fig. 4, TG signal of the  $[\text{NiSAP.NH}_3]$  complex shows that ammonia removing realized in two steps and DTA signals confirms this result. From the element analysis data and the thermoanalytical data given in Table 1, the ratio of  $[\text{NiSAP}]/\text{NH}_3$  in the  $[\text{NiSAP.NH}_3]$  complex is about 1 and in this case, it is difficult to estimate the structure of the intermediate

product in  $\text{NH}_3$  separation observed in thermogravimetric analysis. As can be seen from Fig. 4 and 5, the co-ligands separated from the structure in the  $[\text{NiSAP.Et}_2\text{NH}]$  and  $[\text{NiSAP.pip}]$  complexes give a single step mass loss of  $\text{Et}_2\text{NH}$  and piperidine and it is seen from Table 1 that these mass losses are expected values. The first aim of this study was to obtain nanoparticle NiO as a result of thermal decomposition in the oxygenated environment of prepared complexes.

It is known that the  $[\text{NiSAP}]$  and  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  complexes are insoluble in common solvents, for this reason, it was thought that these complexes to be form in nano-sized, so this study was planned because it is highly probable that the metal oxide compound formed as a result of thermal degradation of the particles obtained in the nanostructure is also nanoparticle.



**Figure 6.** TG-DTA curves of  $[\text{NiSAP.pip}]$

The  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  complex was prepared in 3 different  $\text{NH}_3$  concentration. The  $\text{NH}_3$  concentration adjusted as to be approximately 0.5, 1.5, and 3.0 M to determine the appropriate precipitate. The complexes obtained from these media were examined by the method of Brunauer-Emmett-Teller (BET) and their surface areas were found as 25.910, 25.264 and 22.407  $\text{m}^2/\text{g}$  respectively. Due to the largest surface area was obtained in 0.5 M  $\text{NH}_3$  concentration. Similarly, NiSAP was precipitated directly or the formed from thermal decomposition of the  $[\text{NiSAP.NH}_3]$ ,  $[\text{NiSAP.Et}_2\text{NH}]$  and  $[\text{NiSAP.pip}]$  complexes.

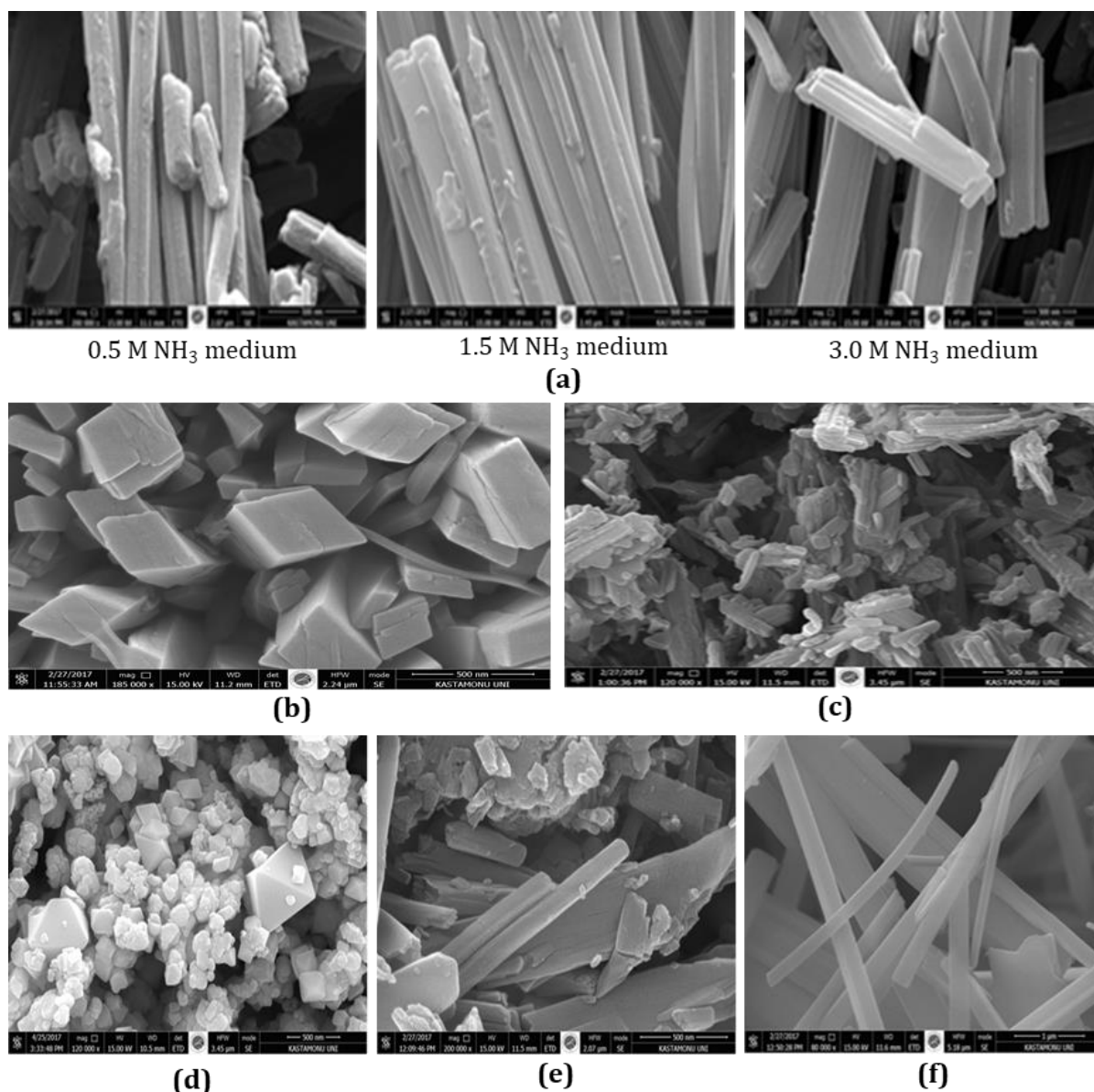
**Table 1.** Thermoanalytical data of the prepared complexes

Complex	Thermal reaction of amine loss or first step of ammonia loss			Thermal reaction of second step ammonia loss NH <sub>3</sub> loss stepwise or degradation of complex			Thermal reaction of the residual complex degradation
	Temperature range/ °C	Calculated mass loss / %	Found mass loss / %	Temperature range/ °C	Calculated mass loss / %	Found mass loss / %	Temperature range/ °C
[Ni <sub>2</sub> L <sub>2</sub> (NH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ]	5 °C/min. 106.47- 148.72	4.66	4.58-4.49- 4.45-4.48 <b>Average:</b> 4.50±0.06	5 °C/min. 160.11- 200.00	2.33	2.47- 2.19- 2.56- 2.59 <b>Average:</b> 2.45±0.18	5 °C/min. 317.88-382.97
	10 °C/min. 108.65- 164.41			10 °C/min. 166.84- 197.36			10 °C/min. 327.63-388.39
	15 °C/min. 115.78- 172.85			15 °C/min. 179.84- 207.32			15 °C/min. 335.37-398.54
	20 °C/min. 120.85- 186.09			20 °C/min. 199.64- 248.77			20 °C/min. 342.16-403.45
							<b>Melting of NiL:</b> 293-294 °C
							<b>Calculated % NiO:</b> 22.05
							<b>Found NiO:</b> 20.93±1.31
[NiSAP.NH <sub>3</sub> ]	10 °C/min. 185.76- 320.80	5.92	5.81-5.97- 5.78 <b>Average:</b> 5.85±0.08	--	--	--	10 °C/min. 471.72- 531.20
	20 °C/min. 192.86- 338.50			--	--	--	20 °C/min. 483.53- 547.86
	30 °C/min. 223.60- 366.48			--	--	--	30 °C/min. 483.40- 553.65
							<b>Found NiO:</b> 24.68±2.07
[NiSAP.Et <sub>2</sub> NH]	5 °C/min. 148.51 - 183.94	21.50	21.45- 21.45- 21.46- 21.47- 21.56- 21.37 <b>Average:</b> 21.46±0.06	--	---	--	5 °C/min. 434.11-499.16
	10 °C/min. 157.83- 201.96			--	--	--	10 °C/min. 468.77-519.03
	15 °C/min. 157.48- 215.50			--	--	--	15 °C/min. 473.63-521.17
	20 °C/min. 161.79- 232.88			--	--	--	20 °C/min. 484.25-528.35
	25 °C/min. 163.52- 248.76			--	--	--	25 °C/min. 488.23-540.27
						<b>Found % NiO:</b> 20.04±1.26	
[NiSAP.pip]	10 °C/min. 158.94- 237.23	24.19	24.44- 23.36- 23.82 <b>Average:</b> 23.87±0.44	--	--	--	10 °C/min. 472.49-521.19
	20 °C/min. 164.40- 245.35			--	--	--	20 °C/min. 485.45-534.45
	30 °C/min. 181.17- 274.38			--	--	--	30 °C/min. 488.42-552.29
						<b>Found % NiO:</b> 20.51±0.16	
[NiSAP]	--	--	--	--	--	--	10 °C/min. 376.69-535.98
							<b>Calculated % NiO:</b> 27.67
							<b>Found % NiO:</b> 26.47±1.09

The all complexes prepared and thermal decomposition products were examined with the scanning electron microscope (SEM) and observed that almost all of the complexes and obtained NiO were obtained in nano-particle size, Fig. 7a-f.

As seen in Fig. 7a, [Ni<sub>2</sub>L<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] complex precipitated in the form of small sticks and the smallest sticks were precipitated in 0.5 M NH<sub>3</sub> concentration. As it is clearly seen from SEM images, the ones precipitated in 0.5 M NH<sub>3</sub> medium are 110-150 nm, 1.5 M NH<sub>3</sub>, 90-320 nm



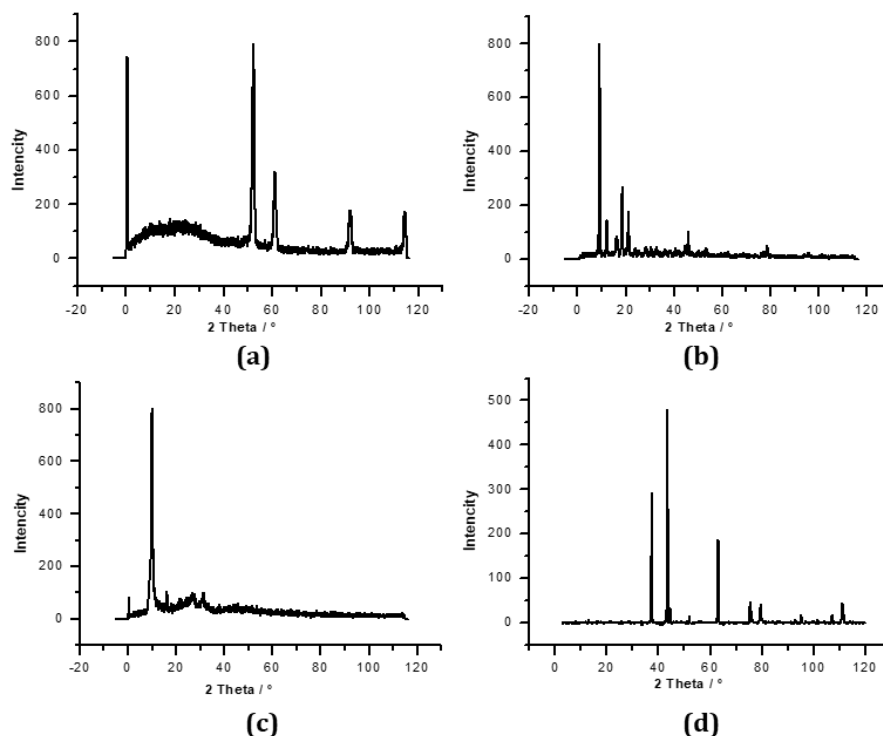


**Figure 7.** The SEM images of a)  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  complexes precipitated in different  $\text{NH}_3$  concentration, b)  $[\text{NiSAP}]$  complex from  $\text{SAPH}_2$  and  $\text{Ni}(\text{AcO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  prepared, c)  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  precipitated in 0.5 M  $\text{NH}_3$  complexes, after thermal degradation at 450 °C, d)  $[\text{NiSAP} \cdot \text{NH}_3]$  complex after thermal degradation at 450 °C. e)  $[\text{NiSAP}]$  complex after thermal degradation, f)  $[\text{NiSAP} \cdot \text{pip}]$  complex after thermal degradation.

and in the 3.0 M  $\text{NH}_3$ , 250-430 nm in length.  $[\text{NiSAP}]$  complex is a substance which precipitated as small particles and the SEM image of precipitated particles is provided in Fig. 7b. According to the scale, the diameter of these particles of this complex is between 50-330 nm.  $[\text{NiSAP} \cdot \text{NH}_3]$ ,  $[\text{NiSAP} \cdot \text{Et}_2\text{NH}]$  and  $[\text{NiSAP} \cdot \text{pip}]$  complexes could be crystallized in a few mm diameter. For this reason, these complexes were not measured with SEM method. When these complexes decompose at a temperature of 450 °C, they were turned to NiO particles in air. The SEM images of the remained particles obtained after thermal decomposition are seen in Fig. 7c, 7d, 7e and 7f. After thermal decomposition,  $[\text{Ni}_2\text{L}_2(\text{NH}_3)_3]$  complex particles turned into sticks in 35-100 nm diameter and  $[\text{NiSAP} \cdot \text{NH}_3]$  complex particles into rhombic particles in 40-220 nm diameters, there is a few rhombic prisms are 580 nm in diameter among these prisms. These

rhombic particles convert into octahedral NiO particles after thermal degradation as seen in Fig. 7d. There are other studies reported for octahedron NiO nanoparticles prepared by thermal method in the literature [33,34,46,47]. As seen in Figure 7e and 7f, the  $\text{NiSAP}$  and  $\text{NiSAP} \cdot \text{pip}$  complex convert into sticks NiO particles with a diameter of 100-415 nm, and the  $\text{NiSAP} \cdot \text{pip}$  complex into NiO particles with a diameter of 130-380 nm at the end of thermal decomposition. The particles of the  $[\text{NiSAP}]$  complex have grown even more at the end of the thermal decomposition; the  $[\text{NiSAP}]$  contains particles of 50-330 nm diameters during the first precipitation, while these particles were transformed into particles of 100-415 nm diameters at the end of the thermal decomposition.

There are examples in the literature for NiO nanoparticles prepared by thermal methods using Ni-



**Figure 8.** XRD patterns of some complexes prepared and final product NiO prepared from thermal decomposition a)  $[Ni_2L_2(NH_3)_3]$  complex obtained from 0.5 M  $NH_3$  media b) NiL c) [NiSAP] d) NiO.

Schiff base complexes. Studies have been published on the production of NiO nanoparticles by thermal decomposition from bidentate Schiff bases - Ni(II) [30, 46-51], tridentate Schiff bases - Ni(II) [34, 51] and tetradentate Schiff bases - Ni(II) complexes [52, 53]. In these studies, the particle diameter was generally calculated from the powder XRD pattern. Diameters of NiO particles prepared from complexes of bidentate ligands were reported as 10-50 nm, while diameters of tetradentate ligands were reported as 20 nm. NiO particle radii that we found in our study are higher but within the nanoparticle frame. Especially NiO octahedral particles are very similar to the two studies in the literature. [46, 47].

In fact, the BET results confirm this observation, when [NiSAP] first precipitated the surface area was 21.510  $m^2/g$ , after the thermal degradation, this surface area

has been calculated as 18.025  $m^2/g$ . The materials prepared were investigated by the powder X-ray diffraction method (XRD) and the diffraction patterns were identified, and the average particle diameter was calculated approximately according to the calculation method given in the literature to support SEM and BET results [54,55]. The average particle diameters obtained from BET and XRD results are given in Table 2 and XRD patterns of some complexes and final product NiO in Fig. 8a-d.

#### 4. Conclusion

Two insoluble and three soluble Ni(II) complexes have been prepared from ONNO and ONO type Schiff Bases in media including of an amine and were thermal decomposed this complexes under air at 450 °C. It was observed that insoluble complexes were precipitated

**Table 2.** The average diameter of the prepared complexes and pyrolysis products by using SEM and XRD methods.

Complex	Measured diameter / nm	
	SEM	XRD
$[Ni_2L_2(NH_3)_3]$ Precipitated in 0.5 M $NH_3$	110-150	137.45
$[Ni_2L_2(NH_3)_3]$ Precipitated in 1.0 M $NH_3$	90-320	142.32
$[Ni_2L_2(NH_3)_3]$ Precipitated in 1.5 M $NH_3$	250-430	--
[NiL]	30-145	119.67
[NiSAP] obtained by $Ni(AcO)_2$	50-330	42.18
[NiSAP] obtained from NiSAP.pip	130-800	--
[NiSAP] obtained from NiSAP. $NH_3$	130-470	324.28
[NiSAP] obtained from NiSAP.Et <sub>2</sub> NH	110-380	--
NiO product of $[Ni_2L_2(NH_3)_3]$	110-249	148.74
NiO product of [NiL.pip]	140-780	--
NiO product of [NiSAP. $NH_3$ ]	100-415	162.26
NiO product of [NiSAP.Et <sub>2</sub> NH]	140-670	--

in the limits of nano particle scale furthermore the thermal decomposition products were also obtained in nanoparticle dimension. The soluble complexes were obtained crystalline but it was seen after the thermal decomposition the NiO particles obtained are the nanoparticles. As a result, thermal decomposition of low soluble complexes can be suggested as an effective method for nanoparticle metal oxides preparation.

## References

- [1] Chen, Y. N., Ge, Y. Y., Zhou, W., Ye, L. F., Gu, Z. G., Ma, G. Z., Li, W. S., Li, H., Cai, Y. P. 2011. The First Mn-Zn Heterometallic Dinuclear Compound Based On Schiff Base Ligand N,N'-Bis(Salicylidene)-1,3-Propanediamine. *Inorg Chem Comm.*, 14, 1228-1232.
- [2] Aksu, M., Durmuş, S., Sarı, M., Emregül, K. C., Svoboda, I., Fuess, H., Atakol O. 2007. Investigation of Thermal Decomposition Some Heterodinuclear Ni<sup>II</sup>-M<sup>II</sup> Complexes Prepared from ONNO Type Reduced Schiff Base Compounds. *J Therm Anal Cal.*, 90, 541-547.
- [3] Chacabarty, P., Mohanta, S. 2015. Mononuclear and Heterometallic Dinuclear, Trinuclear and Dimer-of-Dinuclear Complexes Derived from Single- and Double-Compartment Schiff Base Ligands Having a Less Utilized Diamine. *Polyhedron*, 87, 98-108.
- [4] Hazari, A, Das, A, Mahapatra, P, Ghosh, A. 2017. Mixed Valence Trinuclear Cobalt(II/III) Complexes. *Polyhedron*, 134, 99-106.
- [5] Mahapatra, P., Ghosh, S., Koizumi, N., Kanetomo, T., Ishida, T., Drew, M.G.B., Ghosh, A. 2017. Structural Variations in (Cu<sup>I</sup>)<sub>2</sub>Ln Complexes of a Series of Lanthanide Ions with a Salen Type Unsymmetrical Schiff Base (H<sub>2</sub>L). *Dalton Trans.*, 46, 12095-12105.
- [6] Mahapatra, P., Ghosh, S., Giri, S., Rane, V., Kadam, R., Drew, M.G.B., Ghosh, A. 2017. Subtle Structural Changes in (Cu<sup>II</sup>)<sub>2</sub>Mn<sup>II</sup> Complexes to Induce Heterometallic Cooperative Catalytic Oxidase Activities of Phenolic Substrates (H<sub>2</sub>L=Salen Type Unsymmetrical Schiff Base). *Inorg Chem.*, 56, 5105-5121.
- [7] Zhou, H., Chen, C., Lu, J., Liu, Y., Shen, X. 2016. New Examples of Hetero-tri-Metallic Complexes Cu<sup>II</sup>-Ln<sup>III</sup>-M<sup>III</sup> (M=Cr,Fe; Ln=Gd,Dy,Er). *Inorg Chim Acta*, 453, 482-487.
- [8] Ghosh, S., Ghosh, A. 2016. Coordination of Metalloligand [NiL] (H<sub>2</sub>L=Salen Type N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Type Schiff Base Ligand to the f Block Elements. *Inorg Chim Acta*, 442, 64-69.
- [9] Seth, P., Figuerola, A., Jover, J., Ruiz, E., Ghosh, A. 2016. Antiferro- to Ferromagnetic Crossover in Phenoxido Bridged Ni<sup>II</sup><sub>2</sub>Mn<sup>II</sup> Complexes Derived from N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Donor Schiff Base Ligands. *Polyhedron*, 117, 57-63.
- [10] Hazari, A., Giri, S., Diaz, C., Ghosh, A. 2016. Unusual Site Electron of NCS<sup>-</sup> in Trinuclear Complexes of Cu(II) and Ni(II) with a Reduced N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Donor Schiff Base. *Polyhedron*, 118, 70-80.
- [11] Alexandru, M. G., Visinescu, D., Andruh, M., Marino, N., Armentano, D., Cano, J., Lloret, F., Julve, M. 2015. Heterotrimetallic Coordination Polymers. *Chem Eur J.*, 21, 5429-5446.
- [12] Saha, S., Sasmal, A., Choudhury, C. R., Gomez-Garcia, C. J., Garribba, E., Mitra, S. 2014. A New Double Phenoxide-Bridged Trinuclear Cu(II)-Schiff Base Complex. *Polyhedron*, 69, 262-269.
- [13] Öz, S., Ergun, Ü., Yakut, M., Svoboda, I., Atakol, A., İnal, E. K., Yilmaz, N., Atakol, O. 2014. Synthesis, Crystal Structure, Chromatographic Separation and Thermogravimetric Investigation of a ONNO Type Asymmetric Schiff Base and Its Trinuclear Complexes. *Russ J Coord Chem.*, 40, 571-582.
- [14] Biswas, S., Diaz, C., Ghosh, A. 2013. The First Triple Phenoxido-Bridged Triangular N<sup>II</sup>Cu<sup>II</sup><sub>2</sub> Complexes with a N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Donor di-Schiff Base and Pseudohalide (N(CN)<sub>2</sub><sup>-</sup> or NCS<sup>-</sup>) Ligands. *Polyhedron*, 51, 96-101.
- [15] Reglinski, J., Taylor, M., Kennedy, A. R. 2006. Hydrogenated Schiff Base Ligands. *Inorg Chem Comm.*, 9, 736-739.
- [16] Fukuhara, C., Tsuneyoshi, K., Matsumoto, N., Kida, S., Mikuriya, M., Mori, M. 1990. Synthesis and Characterization of Trinuclear Schiff Base Complexes Containing Sulphure Dioxide or Hydrogensulphide Ions as Bridging Group. *JCS Dalton Trans.*, 11, 3473-3479.
- [17] Song, Y., Gamez, P., Roubeau, O., Mutikainen, I., Turpeinen, U., Reedijk, J. 2005. Structure and Magnetism of Two New Trinuclear Copper(II) Clusters Obtained from the Tetradentate N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ligand Bis(2-Hydroxybenzyl)-1,3-Diaminopropane. *Inorg Chim Acta*, 358, 109-115.
- [18] Kurtaran, R., Yıldırım, L. T., Azaz, A. D., Namlı, H., Atakol, O. 2005. Synthesis, Characterization, Crystal Structure and Biological Activity of a Novel Heterotetranuclear Complex *J Inorg Biochem.*, 99, 1937-1944.
- [19] Uhlenbrock, S., Wegner, R., Krebs, B. 1996. Synthesis and Characterization of Novel Tri- and Hexanuclear Zinc Complexes with Biomimetic Chelate Ligands. *JCS Dalton Trans.*, 18, 3731-3736.
- [20] Atakol, O., Nazir, H., Arıcı, C., Durmuş, S., Svoboda, I., Fuess, H. 2003. Some New Ni-Zn Heterodinuclear Complexes: Square-Pyramidal Nickel(I) Coordination. *Inorg Chim Acta* 342, 295-300.

- [21] Elerman, Y., Kabak, M., Atakol, O. 1993. N,N'-Bissalicylidene-1,3-Propanediamine-Nickel Complex. *Acta Cryst.*, C49, 1905-1906.
- [22] Drew, M. G. B., Prasad, R. N., Sharma, R. P. 1985. Structure of (N,N'-Trimethylenedisalicylideneaminato)Nickel(II) and (N,N'-Trimethylenedisalicylideneaminato)Copper(II). *Acta Cryst.*, C4, 1755-1758.
- [23] Gündüz, T., Atakol, O. 1989. Some Complexes of Nickel(II) with ONO Type Schiff Bases and Their Monoligand Adducts. *Syht.React. Inorg Met.-Org Chem.*, 19, 441-451.
- [24] Maggio, F., Pizzino, T., Romano, V. 1974. Complexes of First Series Transition Metals Formally Tricoordinated. *Inorg Nuclear Chem Lett.*, 10, 1005-1008.
- [25] Maggio, F., Pizzino, T., Romano, V., Dia, G. 1976. Adduct Formation by Sub-Coordinated Metal Complexes. *J Inorg Nucl Chem.*, 38, 599-601.
- [26] Holm, R. H. 1961. Studies on Ni(II) Complexes II. On the Solution Magnetism of Bis-(N-methylsalicylaldimine)-nickel(II) and Related Complexes. *J Am Chem Soc.*, 83, 4683-4690.
- [27] Ergun, Ü., Atakol, O., Eriş, F.G., Yücel, A., Düzgün, E. 2009. Estimation of Coordination Bond Energies of NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O and Et<sub>2</sub>NH Ligands in the Ni(II) and Cu(II) Complexes. *J Therm Anal Cal.*, 97, 1007-1014.
- [28] Haggag, S. M. S., Abdel-Hamid, I. A. M. 2015. A Tridentate (O,N,O) Donor Schiff Base Zinc(II) Nano Complex. *J Therm Anal Cal.*, 119, 737-746.
- [29] Mohammadikish, M. 2015. Green Synthesis and Growth Mechanism of New Nanomaterial: Zn(Salen) Nanocomplex. *J Crystal Growth*, 431, 39-48.
- [30] Grivani, G., Vakili, M., Khalaji, A. D., Bruno, G., Rudbari, H. A., Taghavi, M., Tahmasebi, V. 2014. Synthesis, Characterization, Crystal Structure Determination, Computational Study and Thermal Decomposition into NiO Nanoparticles of a New Ni<sup>II</sup>L<sub>2</sub> Schiff Base Complex. *J Mol Struct.*, 1072, 77-83.
- [31] Grivani, G., Eigner, V., Dusek, M., Sadeghi, B., Khalaji, A. D. 2015. New  $\mu$ -OAC Bridged Dinuclear Copper(I) Complex with Tridentate Schiff Base Ligand. *Russ J Coord Chem.*, 41, 456-461.
- [32] Elseman, A. M., Rayan, D. A., Rashad, M. M. 2016. Structure, Optical and Magnetic Behaviour of Nanocrystalline CuO Nanopowders Synthesized via a New Technique Using Schiff Base Complex. *J Mater Sci: Mater Electron*, 27, 2652-2661.
- [33] El-Mekharbel, S. M., Megahed, A. S., Refat, M. S. 2016. Preparation, Physical and Chemical Studies on Metal Complexes of Schiff Base as Nucleus Key to Prepare Nanometer Oxides Have Catalytic Applications. *J Mol Liquids*, 216, 608-614.
- [34] Parsaee, Z., Mohammadi, K., Ghahramaninezhad, M., Hosseinzadeh, B. 2016. A Novel Nano-Sized Binuclear Nickel(II) Schiff Base Complex as a Precursor for NiO Nanoparticles. *New J Chem.*, 40, 10569-10583.
- [35] Abdel-Monem, Y. K., Abouel-Enein, S. A. 2017. Structural, Spectral, Magnetic and Thermal Studies of 5-(Thiophene-2-Ylmethine Azo) Uracil Metal Complexes. *J Therm Anal Cal.*, 130, 2257-2275.
- [36] El-samanoyedi El-Sayed, A., Emam, S.M., Emara, E.M. 2017. Synthesis, Characterization, Molecular Modelling and Biological Activity of Metal Complexes Derived from (E)-N'-(Furan-2-Ylmethylene)Morpholine-4-Carbothiohydrazide. *J Mol Struct.*, 1146, 868-880.
- [37] Kalam, A., Al-Sehemi, A. G., Al-Shihri, A. S., Du, G., Tokeer, A. 2012. Synthesis and Characterization of NiO Nanoparticles by Thermal Decomposition of Nickel Linoleat and Their Optical Properties. *Material Characterization*, 68, 77 -81.
- [38] Saednia, S., Iranmanesh, P., Arkadani, M.H., Mohammeadi, M., Norouzi, G.H. 2016. Phenoxo Bridged Dinuclear Zn(Ii) Schiff Base Complex as New Precursor for Preparation Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Crystal Structures and Photoluminescence Studies. *Mater Res Bull.*, 78, 1-10.
- [39] Ibrahim, E. M. M., Abdel-Rahman, L. H., Abu-Dief, A. M., Elshafaie, A., Hamdan, S. K, Ahmed, A. M. 2018. The Synthesis CuO and NiO Nanoparticles by Facile Thermal Decomposition of Metal-Schiff Base Complexes and Examination of Their Electric, Thermoelectric and Magnetic Properties. *Mater Res Bull.*, 107, 492-497.
- [40] Durmuş, S., Ergun, Ü., Jaud, J. C., Emregül, K. C., Fuess, H., Atakol, O. 2006. Thermal Decomposition of Some Linear Trinuclear Schiff Base Complexes with Acetate Bridges. *J Therm Anal Cal.*, 86, 337-346.
- [41] Elerman, Y., Kabak, M., Svoboda, I., Fuess, H., Griesar, K., Haase, W. 1996. Structure and Magnetic Properties of a Triply Oxygen. Bridged Dinuclear Ni(II) Complex. *Z Naturforsch B*, 51, 1132-1136.
- [42] Elerman, Y., Svoboda, I., Fuess, H. 1992. Crystal Structure of N-(2-hydroxyphenyl)-Salicylaldiminato-Ammine-nickel. *Z Kristallography*, 198(1-4), 127-128.
- [43] Elerman, Y., Paulus, H., Svoboda, I., Fuess, H. 1992. Crystal Structure of N-(2-hydroxyphenyl)-Salicylaldiminato-Diethylamine-Nickel. *Z. Kristallography*, 198(1-4), 132-134.

- [44] Elmali, A., Atakol, O., Svoboda, I., Fuess, H. 1995. {1-[(2-Hydroxybenzyliden)aminomethyl]-Naphthalen-2-olato (2-)N,O,O'}(Piperidine Nickel(II). *Acta Cryst Section C*, C51, 2520-2522.
- [45] Greenwood, N. N., Earnshaw, A. 1994. *Chemistry of The Elements*, Pergamon Press.
- [46] Khalaji, A .D., Nikookar M., Das D. 2014. Co(III), Ni(II) and Cu(II) complex of bidentate N, O-donor Schiff base ligand derived from 4-methoxy-2-nitroaniline and salicylaldehyde. *J Therm Anal Cal.*, 115, 409-417.
- [47] Rashad M. M., Hassan A. M., Nassar A. M., Ibrahim N. M., Mourdata A. 2014. A new nano-structured Ni(II) Schiff base complex. *Appl Phys A*, 117, 877-890.
- [48] Khalaji A. D., Grivani G., Izadi S., Ebadi M. 2018. Facile synthesis of Ni/NiO nanocomposites via thermal decomposition. *J Nanoanalysis*, 5, 115-120.
- [49] Saghadforoush, L. A., Mehdizadeh R., Chalabian F. 2010. Hydrothermal and sonochemical synthesis of nano-sized nickel(II) Schiff base complex as a precursor for nansized nickel(II) oxide. *Transtion Met Chem.*, 35, 903-910.
- [50] Barfeie, H., Grivani, G., Eigner, V., Dusek, M., Khalaji, A.D. 2018. Copper(II), nickel(II), zinc(II) and vanadium(IV) Schiff base complexes. *Polyhedron*, 146, 19-25.
- [51] Refat, M. S., El-Sayed, M. Y., Adam, A. M. A. 2013. Cu(II), Co(II) and Ni(II) complexes of new Schiff base ligand. *J Mol Struct.*, 1038, 62-72.
- [52] Khalaji A. D. 2013. Preparation and Characterization of NiO Nanoparticles Via Solid – State Thermal decomposition of Nickel(II) Schiff Base Complexes [Ni(salophen)] and [Ni(Me-salophen)]. *J Clust Sci.*, 24, 209-215.
- [53] Khalaji, A. D., Ghorbani, M., Dusek, M., Eigner, V. 2018. Nickel(II) and Copper(II) Complexes of New Tetradentate Schiff Base Ligand. *Iran J Chem Eng.*, 37, 27-34.
- [54] Khansari, A., Enhessari, M., Salavati-Niasari, M. 2013. Synthesis and Characterization of Nickel oxide Nanoparticles from Ni(salen)as Precursor. *J Clust Sci.*, 24, 289-297.
- [55] Moosavi, S., Zakariya, S., Chia, C. H., Gan, S., Azahari, N. A. 2017. Hydrothermal Synthesis, Magnetic Properties and Characterization of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Nanocrystals. *Ceramic Int.*, 43, 7889-7894.

## Effects of Top-Pruning Time on Fresh Flower Yield, Rose Oil Content and Compounds in Oil-Bearing Rose (*Rosa damascena* Mill.)

Sabri ERBAŞ<sup>1</sup>, Soner KAZAZ<sup>2</sup>, Hasan BAYDAR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, 32200, Isparta, Turkey

<sup>2</sup>Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, 06100, Ankara, Turkey

(Alınış / Received: 11.11.2021, Kabul / Accepted: 08.05.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Keywords

Oil-bearing rose,  
Top-pruning,  
Flower yield,  
Essential oil

**Abstract:** The aim of the research was to determine the effects of top-pruning time on flower yield, rose oil content and oil constituents in oil-bearing rose. Five-year old rose plants were top-pruned in three different dates starting from 15 March (early), 30 March (middle) and ending 15 April (late) before they started new growth in spring. In addition, non-pruned (untreated) parcels were used as controls. Top pruning time significantly affected the flower yield, oil content and its constituents. The highest flower yield (4302 kg/ha) was obtained from non-pruned plants. The fresh flower yield and rose oil content increased significantly from 3559 kg/ha to 3905 kg/ha and from 0.030 % to 0.045 %, respectively when the pruning time was delayed. GC-FID/MS analyses of rose oils revealed that monoterpenic constituents, such as geraniol and citronellol were higher in the rose oils distilled from late-pruned plants, paraffinic hydrocarbones (stearoptenes), such as nonadecane and heneicosane were higher in the rose oils distilled from early-pruned plants. The mid- pruning time (30 March) gave the highest citronellol and geraniol by 27.28 % and 30.64 %, respectively. A remarkable result was that methyl eugenol content, which is not desirable above a spesific quantity in rose oil due to allergic effects and mutagenic, decreased from early to late pruning.

## Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.)'nde Çırpma Budama Zamanının Çiçek Verimi, Gül Yağ Oranı ve Bileşenleri Üzerine Etkisi

### Anahtar Kelimeler

Yağ gülü,  
Çırpma budama,  
Çiçek verimi,  
Uçucu yağ

**Öz:** Bu araştırmanın amacı, Isparta gülünde çırpma budama zamanının çiçek verimi, gül yağı oranı ve kompozisyonu üzerine olan etkilerini belirlemektir. Beş yaşındaki gül bitkileri ilkbaharda sürgünler patlamadan önce 15 Mart (erken), 30 Mart (orta) ve 15 Nisan (geç) olmak üzere üç farklı tarihte çırpma budama tekniğine göre budanmıştır. Kontrol parsellerinde budama yapılmamıştır. Çalışma sonucunda, budama zamanının çiçek verimi, gül yağ oranı ve bileşenlerini etkilediği bulunmuştur. En yüksek çiçek verimi (4302 kg/ha) kontrol bitkilerinden elde edilmiştir. Çiçek verimi ve uçucu yağ içeriği, budama zamanı ertelendiğinde sırasıyla 3559 kg/ha'dan 3905 kg/ha'a ve %0.030'dan %0.045'e çıkmıştır. Gül yağlarının GC-FID/MS analizlerine göre; geç budanan bitkilerden damıtılan gül yağlarında geraniol ve sitronelol gibi monoterpenik bileşenler daha yüksek iken, erken budanmış bitkilerde nonadekan ve heneikosan gibi parafinik hidrokarbonlar (stearoptenler) daha yüksek bulunmuştur. En yüksek sitronelol ve geraniol içeriği orta budama zamanında sırasıyla %27.28 ve %30.64 olarak tespit edilmiştir. Dikkat çekici bir sonuç, olumsuz toksik ve alerjik etkiler nedeniyle gül yağında belirli bir konsantrasyonun üzerinde istenmeyen metil öjenol içeriğinin erken budamadan geç budamaya kadar azalması olmuştur.

### 1. Introduction

The oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill) with pink colored and strongly scented flowers is a very valuable source of essential oil used in the fragrance, cosmetic,

drug and food industries [1]. Rose oil and aromatic water is obtained through the distillation processes and rose absolute, rose concrete and phenylethyl alcohol is obtained through the extraction processes from oil-bearing rose flowers [2-5]. Especially rose oil,

\*Corresponding author: sabrierbas@isparta.edu.tr

an important and expensive volatile oil, used to make the world's most exclusive and expensive perfume and cosmetic products. Bulgaria and Turkey are leading countries producing more than %90 of the world's rose oil, rose concrete and rose absolute. The area known as the Rose valley where Isparta province is located in the center covers all of the oil-bearing rose production in Turkey. Approximately 10 thousand tons of rose flowers from 4100 ha is produced every year, and over 2 tons of rose oil, 10 tons of concrete and 2 tons of absolute are obtained from 34 distillation and extraction plants in the Rose valley.

Since the oil-bearing rose is a perennial and bushy plant, pruning is one of the main agronomic practices for enhancing growth, shaping plant habitus, facilitating harvesting process, and finally increasing flower yield [6]. There are two main pruning techniques, namely rejuvenating or sub-pruning (once every 10 years for rejuvenation) and whipping or top-pruning (once a year in March). After 8-10 years of planting, the roses begin to age leading to reduced productivity. To prevent the aging process, old rose bushes are periodically rejuvenated by pruning just above the ground [7].

Oil-bearing rose is traditionally propagated by the laying of the shoot cuttings remaining from rejuvenating pruning into the furrows in autumn [8]. In top-pruning, which is held regularly every year in the early spring months, the top parts of the rose bushes are pruned away at 45-65 cm from the ground level with pruning shears, loppers or saws [9]. In general, light to medium top pruning increased flower yield and essential oil content of flowers, while heavy pruning decreased both. This practice is beneficial for removing old twigs and regenerating new healthy twigs, thereby increasing flower yield [10]. Un-pruning oil-bearing rose is not sustainable because it complicates agricultural practices, such as tilling, weeding, watering, fertilizing, spraying and harvesting. However, there are many different applications of top-pruning in the rose valley region [11]. Therefore, the aim of the present research was to examine effects of top-pruning time on flower yield, rose oil content and composition in oil-bearing rose.

## 2. Material and Method

The research was conducted at Isparta Applied Sciences University in Isparta province of Turkey in 2009. Five-year old *R. damascena* plants (Figure 1) at the experimental field (longitude 30°33'E, latitude 37°45'N, altitude 997 m) of Rose and Aromatic Plants Implementation and Research Center and Application Center (GULAB) were used. Rose plants were pruned by applying traditional top-pruning method (about 60 cm from the ground level) three different dates starting from 15 March (early), 30 March (mid) and 15 April (late) before they started new growth in spring. In addition, non-pruned (untreated) parcels were

used as controls. Each treatment contained 4 replications and each replication consisted of 20 m long bush rows extending parallel to each other at distances of 3 meters. The total precipitation, mean humidity and mean temperatures for the experimental area were given in Table 1.



**Figure 1.** The flower of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.)

**Table 1.** The climate data of Isparta for 2009 (Anonymous, 2020)

Month	Total Precipitation (L/m)	Mean temperature (°C)	Mean humidity (%)
January	3.4	124.7	75.1
February	4.0	70.3	78.7
March	5.5	55.2	68.8
April	11.0	40.4	60.7
May	15.0	66.6	58.8
June	20.9	26.8	44.8
July	23.6	18.0	44.8
August	23.1	0.2	38.5
September	18.0	15.7	55.3
October	15.1	77.6	61.6
November	7.5	13.6	71.3
December	5.7	84.2	80.2

The soil was alkaline and loamy-clay with a pH 7.9. The flowers at full blooming stage were handpicked daily in the early hours of day during the flowering season between May 15-June 10, 2009. The picked flowers from pruned and non-pruned plants were weighed, and the total fresh flower yield was recorded as kg per hectare (ha) at the end of the harvest season. To determine the essential oil content, fresh rose flowers (0.5 kg) and water (1.5 L) were placed in a Clevenger-type hydrodistillation flask (5 L) according to the standard method recommended in the European Pharmacopoeia [12]. After distilling for 3 hours, the amount of rose oil was measured as an average percentage (% v/w). Afterwards, the rose oils were dried with anhydrous sodium sulfate and stored at 4 °C until the analysis of fragrance components. The components of rose oils were determined by GC-FID/GC-MS device [13]. Rose oil (25 µL) dissolved in

2.5 mL of n-hexane and injected in to the split mode (1/100). GC-MS (Gas Chromatography/Mass Spectrometry) analysis of rose oil was carried out on Shimadzu 2010 Plus (a Quadrapole (QP-5050) detector). GC-MS conditions are given below; capillary column, (50 m × 0.32 mm, film thickness 0.25 µm; CP-Wax 52 CB); detector and injector temperatures, 240 °C; oven temperature program, it was waited at 60 °C for 10 minutes, then it reached 90 °C with an increase of 4 °C per minute and 240 °C with an increase of 15 °C per minute, and waited at 240 °C for 11.5 minutes; carrier gas, helium (2 ml/min); 70 eV; ionization type, EI; 1 µl of sample injected. Identification of the components was carried out with the help of the data given in the Nist, Wiley and Tutor library, the composition of the mass spectra and the retention times of the standard substances. Quantitative analysis was conducted using Shimadzu Model Thermo Ultra Trace, GC-FID (Gas Chromatography/Flame Ionization Detector), operating under similar conditions to GC-MS.

All data for flower yield and rose oil content were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA) procedures using Statistical Program (SAS 9.1). Differences between means were separated by LSD (Least Significant Difference) test at  $p \leq 0.05$  significance level.

### 3. Result and Discussion

The effects of pruning time on flower yield, rose oil content and compositions in oil-bearing rose was

given in Table 2. Analysis of variance revealed that top-pruning times including no pruning practice had significant effects on fresh flower yield ( $p \leq 0.05$ ). Early-pruned plants started to bloom a few days earlier than the control and late-pruned plants. Although the highest flower yield (4302 kg/ha) was produced by the non-pruned (control) plants, the lowest flower yield (3559 kg/ha) was obtained from the early-pruned roses. The rose oil content was also affected significantly by the pruning time. Maximum essential oil yield (0.045 %) was obtained by the late-pruned roses in April and minimum oil yield (0.030 %) was obtained from early-pruned roses in March (Table 2). Saffari et al. [14] reported that pruning in the first week of March (approximately 75 days before flowering) results in higher flower yield per plant than pruning in the first week of April and control (no pruning). In the same study, it was determined that pruning times did not affect the rose oil content. Previous reports found that non-pruned rose plants had higher flower yield and rose oil content in oil-bearing rose [11].

In oil-bearing rose flowers, essential oils are mostly found in the epidermis cells of the petals, and essential oils contain complex organic odor molecules, such as esters, aromatic alcohols, oxides, ethers, aldehydes, monoterpenes and sesquiterpenes, [15]. Quantities and relative contents of fragrance components are the most important factors affecting the quality of extraction products of rose [16]. Monoterpene alcohols (geraniol, citronellol, linalool and nerol), hydrocarbons (nonadecene, heneicosane,

**Table 2.** The effects of pruning time on flower yield, rose oil content and composition in oil-bearing rose

Essential oil constituents	Rt (min.)	Top-pruning dates			
		Control	15 March (early)	30 March (mid)	15 April (late)
Tetradecane	35.1	0.46	0.68	t	0.44
Linalool	38.6	0.39	0.38	t	t
α-Guaiene (azulene)	42.1	1.50	3.20	1.29	1.63
t-caryophyllene	42.8	1.15	2.45	1.02	1.30
Citronellol acetate	46.1	0.93	1.24	0.90	1.11
α-Humulene	47.4	0.76	1.56	t	0.71
Hexadecane	47.8	2.80	2.32	2.15	2.10
Germacrene-D	49.8	2.22	4.49	1.97	2.21
Germacrene-B	50.0	0.97	1.62	t	0.92
Geranyl acetate	51.8	6.06	7.21	6.96	6.77
Citronellol	52.3	22.72	20.29	27.28	26.85
Nerol	54.4	7.17	5.47	7.49	8.24
Geraniol	57.0	27.11	26.29	30.64	28.46
Nonadecane	59.5	14.69	12.46	10.09	9.68
9-Nonadecene	60.6	3.58	2.68	2.49	2.37
Phenylethyl alcohol	61.1	0.51	0.40	0.83	0.70
Eicosane	65.0	0.81	0.91	0.49	0.67
Methyl eugenol	66.4	0.97	1.35	1.42	1.06
Heneicosane	70.3	3.90	4.38	2.71	2.68
Eugenol	74.6	1.30	0.42	1.47	1.74
Essential oil yield (%)		0.040 b*	0.030 d	0.035 c	0.045 a
Flower yield (kg/ha)		4302 a	3559 d	3750 c	3905 b

Rt: Retention time (min), t: trace amount, <0.1 %,

\*Means followed by the same letter within the same row are not significantly different from each other ( $p \leq 0.05$ )



heptadecane, nonadecane, tricosane, sesquiterpene and octadecane) sesquiterpenes ( $\delta$ -guaiene,  $\lambda$ -muurolene, humulene and  $\alpha$ -guaiene), esters and aldehydes (geranial and geranyl acetate), oxides and ethers (methyl eugenol), phenols (eugenol) are among the significant rose oil constituents identified in Turkish rose oil [2, 3, 17]. A total of 20 constituents with a ratio higher than 0.1 % were detected by the GC-FID/MS analyses of rose oils (Table 2). Top pruning treatments had a specific effect on rose oil components that were within the normal range of change intervals for international standard (ISO 9842-2003) [18]. According to our results, the essential oil distilled from non-pruned plants had a similar composition with the oils from early top-pruned plants. On the other hand, the oils distilled from the mid and late pruned plants had higher levels of monoterpene alcohols like geraniol and citronellol, which are the main fragrance compounds of rose oil, and had lower the percentages of stearoptenes like nonadecane and heneicosane (Table 2). Based on these findings, it can be said that the rose oils distilled from the late top-pruned plants were slightly higher quality than the oils distilled from the early top-pruned and non-pruned plants. The mid-pruning gave the highest citronellol (27.28 %), geraniol (30.64 %) and phenylethyl alcohol (0.83 %) (Table 2). The amount of methyl eugenol of rose oil can increase up to 5% with long-term fermentation of the harvested flowers [19] or with the late harvesting of the flowers [20]. A remarkable result was that methyl eugenol content, which is not desirable above a specific quantity in rose oil due to allergic and mutagenic effects [21], decreased in oils distilled from late pruning's from 1.35 % to 1.06 % (Table 2).

#### 4. Conclusion

Top-pruning is a very important practice in the cultivation of oil-bearing rose. In this pruning method, the upper parts of the rose bushes in the early spring months are pruned away from a certain height above the ground level to improve flower yield and quality, and also to facilitate agronomic practices and harvesting process. To obtain expected benefits, it is important to prune at the right time to avoid damaging the plants. Oil-bearing roses should not be top-pruned too early to avoid winter and spring frosts. On the other side, when pruned too late, plants may loss excessive amount of twigs and buds. Thus, the climatic conditions of the growing area should be followed closely, and rose plants should be pruned at the proper time. Top pruning of oil rose plants had a significant effect on flower yield and quality. It had a specific effect on rose oil compounds within the change intervals for international standard (ISO 9842). The flower yield and essential oil content increased significantly when the pruning time was delayed from 15 March to 15 April. The highest flower yield was obtained from non-pruned bushes of the plants. Top-pruning can be interrupted for few years to reduce pruning cost and increase flower yield.

#### Declaration of Ethical Code

*In this study, we undertake that all the rules required to be followed within the scope of the "Higher Education Institutions Scientific Research and Publication Ethics Directive" are complied with, and that none of the actions stated under the heading "Actions Against Scientific Research and Publication Ethics" are not carried out.*

#### References

- [1] Guenther, E. 1952. Oil of rose. *In: The essential oils*. Vo:l 5, Florida, USA, pp. 3-48.
- [2] Anac, O. 1984. Gas chromatographic analysis on Turkish rose oil, absolute and concrete. *Perfumer & Flavorist*, 9, 1-14.
- [3] Baser, K. H. C. 1992. Turkish rose oil. *Perfumer & Flavorist*, 17, 45-52.
- [4] Aydinli, M., Tutas, M. 2003. Production of rose absolute from rose concrete. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(1), 26-31.
- [5] Ayci, F., Aydinli, M., Bozdemir, O. A., Tutas, M. 2005. Gas chromatographic investigation of rose concrete, absolute and solid residue. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 481-486.
- [6] Paul, T. M., Siddique, M. A. A., John, A. Q. 1995. Effect of severity and time of pruning on growth and flower production of *Rosa damascena* Mill., an important aromatic plant. *Advanced Plant Science*, 8, 28-32.
- [7] Kovatcheva, N., Nedkov, N. 2012. Effect of application of basic (rejuvenating) pruning on production traits of oil-bearing rose. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 18(4), 578-582.
- [8] Topalov, V., Irinchev, I. 1967. Rose production in Bulgaria. Danoff, C. G., ed. Plovdiv, 187 pp.
- [9] Astadzhov, N. 1980. Influence of clipping the tops of the annual shoots of Kazanlak rose on the extraction of color, quality and quantity of oil. *Plant Science*, 17(4), 99-105.
- [10] Astadzhov, N., Kamburova, K., Peshov, I. 1986. Changes in flower and essential oil productivity of the Kazanlik rose caused by single pruning of shoots. *Rastenievadni Nauki*, 23, 63-68.
- [11] Saribaş, R., Aslanca, H., Dağistanlıoğlu, C., Baydar, H. 2013. Effects of whipping pruning heights on rose oil and quality in oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill). *Suleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Science*, 17(2), 28-31.
- [12] European Pharmacopoeia, 1975. Maisonneuve SA, Sainte Ruffine, France, 3, 68.
- [13] Erbaş, S., Baydar, H. 2016. Variation in scent compounds of oil-bearing rose (*Rosa damascena*

- Mill.) produced by headspace solid phase microextraction, hydrodistillation and solvent extraction. *Records of Natural Products*, 10(5), 555-565.
- [14] Saffari, V. R., Khalighi, A., Lesani, H., Babalar, M., Obermaier, J. F. 2004. Effects of different plant growth regulators and time of pruning on yield components of *Rosa damascena* Mill. *International Journal of Agriculture & Biology*, 6(6), 1040-1042.
- [15] Dudareva, N., Pichersky, E. 2000. Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiology*, 122, 627-633.
- [16] Kovacheva, N, Rusanov, K., Atanassov, I. 2010. Industrial cultivation of oil bearing rose and rose oil production in Bulgaria during 21st century, directions and challenges. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(2), 1793-1789.
- [17] Bayrak, A., Akgul, A. 1994. Volatile oil composition of Turkish rose (*Rosa damascena*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 64, 441-448.
- [18] ISO 9842, 2003. Oil of rose (*Rosa x damascena* Miller). International Standards for Business, Government and Society. [www.iso.org](http://www.iso.org) (Data of access: 01.11.2021).
- [19] Baydar, H., Schulz, H., Kruger, H., Erbas, S., Kineci, S. 2008. Influences of fermentation time, hydro-distillation time and fractions on essential oil composition of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(3), 224-232.
- [20] Rusanov, K., Kovacheva, N., Rusanova, M., Atanassov, I. 2012. Reducing methyl eugenol content in *Rosa damascena* Mill. rose oil by changing the traditional rose flower harvesting practices. *The Journal European Food Research and Technology*, 234, 921-926.
- [21] Harris, B. 2002. Methyl eugenol-the current bete noir of aromatherapy. *International Journal of Aromatherapy*, 12(4), 193-201.

## Hidrazon Türevi Yeni Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Hatice Gamze SOGUKOMEROGULLARI<sup>1</sup>, Eyüp BAŞARAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikleri Bölümü, 27310, Gaziantep, Türkiye

<sup>2</sup>Batman Üniversitesi, Teknik Bilimler MYO, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü, 72060, Batman, Türkiye

(Alınış / Received: 01.12.2021, Kabul / Accepted: 02.03.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

Hidrazon,  
Schiff baz,  
Metal kompleks,  
Karakterizasyon

**Öz:** 2-hidroksinaftaldehit ile nikotinik hidrazit'in kondenzasyon reaksiyonundan N-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)nikotinohidrazit ligandı elde edilmiştir. N-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)nikotinohidrazit ligandı ile Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) asetat tuzlarının (2:1) reaksiyonundan yeni hidrazon metal L<sub>2</sub>Fe, L<sub>2</sub>Ni, L<sub>2</sub>Co ve L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub> kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler FT-IR, NMR (sadece ligand), UV-Vis, elementel analiz, molar iletkenlik ölçümü, manyetik duyarlılık gibi tekniklerle karakterize edilmiştir. Manyetik duyarlılık ölçümleri L<sub>2</sub>Fe, L<sub>2</sub>Co L<sub>2</sub>Ni ve L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub> kompleksleri için sırasıyla 5.96 BM, 1.03 BM, 1.08 BM ve 1.61 BM olarak kaydedilmiştir. L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub>, L<sub>2</sub>Ni ve L<sub>2</sub>Co komplekslerinin antiferromanyetik özellikte olduğu belirlenmiştir. L<sub>2</sub>Fe, L<sub>2</sub>Co ve L<sub>2</sub>Ni kompleksleri oktahedral, L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub> kompleksi ise kare düzlem geometriye sahiptir. Komplekslerin molar iletkenlik değerleri 1.31-2.61 µS/cm arasında olup, iletkenlik özelliği taşımamaktadır.

## Synthesis and Characterization of New Hydrazone Derivatives Fe(II), Co(II), Ni(II) and Cu(II) Complexes

### Keywords

Hydrazone,  
Schiff Base,  
Metal complex,  
Characterization

**Abstract:** N-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)nicotinohydrazide ligand derived from the condensation reaction of 2-hydroxynaphthaldehyde and nicotinic hydrazide was obtained. New hydrazone metal complexes L<sub>2</sub>Fe, L<sub>2</sub>Co, L<sub>2</sub>Ni and L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub> were synthesized from the reaction of N-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)nicotinohydrazide ligand and Fe(II), Co(II), Ni(II) and Cu(II) acetate salts in a 2:1 stoichiometric ratio, respectively. The synthesized compounds were characterized by techniques such as FT-IR, NMR (ligand only), UV-Vis, elemental analysis, molar conductivity measurement, magnetic susceptibility. Magnetic susceptibility measurements were recorded as 5.96 BM, 1.03 BM, 1.08 BM and 1.61 BM for the L<sub>2</sub>Fe, L<sub>2</sub>Co L<sub>2</sub>Ni and L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub> complexes, respectively. It has been determined that the L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub>, L<sub>2</sub>Ni and L<sub>2</sub>Co complexes have antiferromagnetic properties. The L<sub>2</sub>Fe, L<sub>2</sub>Co and L<sub>2</sub>Ni complexes have octahedral geometry, while the L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub> complex has a square plane geometry. The molar conductivity values of the complexes are between 1.31-2.61 µS/cm and do not have conductivity properties.

### 1. Giriş

Koordinasyon bileşikleri, bilim ve teknolojideki geniş uygulama alanları nedeniyle özel ilgi konusu olmuştur [1-3]. Özellikle Schiff baz ligandı içeren geçiş metali kompleksleri, çoğunlukla kataliz [4, 5], kemosensörler [6, 7], lüminesans malzemeler [8, 9], enerji malzemeleri [10, 11], manyetik-yapısal kimya [12, 13] ve biyolojik alanlar [14-17] gibi çeşitli alanlardaki önemli uygulamaları nedeniyle dikkat çekmektedir. Schiff baz kompleksleri, kullanılan aldehit ve amine

bağlı olarak, ligandlar için çok çeşitli olası yapılar oluşturabilmesi nedeniyle, yıllar içinde önemli ölçüde ilgi odağı olan konular arasında yer almıştır [18]. Ayrıca, oksijen, azot ve kükürt donör atomları içeren ligandlar ve bunların geçiş metali kompleksleri biyolojik ve farmakolojik uygulamalarının bir sonucu olarak olağanüstü bir ilgi görmüştür [19]. Triatomik, azometin(-C=N-NH-) yapısına sahip Schiff baz ailesinin bir üyesi olan hidrazonlar, koordinasyon kimyasının gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Hidrazon ligand yapı iskeletleri, "ayrıcıklı ligandlar"

olarak kabul edilir ve kolay sentez yöntemleri, iyi çözünürlükleri ve yapısal özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılır [20]. Hidrazonlar ve geçiş metali kompleksleri, antimikrobiyal [21], antimalaryal [22], antiviral [23], antioksidan [24], antitüberküler [25], antitümör [26] ve enzim aktiviteleri [27] gibi farklı uygulamalarının bir sonucu olarak büyük ilgi görmüştür.

Bu çalışmada, bir hidrazon türevi ligand olan *N*-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)nikotinohidrazit ve yeni Ni(II), Cu(II), Fe(II) ve Co(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları; FT-IR, NMR, elementel analiz, UV-Vis, molar iletkenlik, manyetik duyarlılık gibi yöntemlerle aydınlatılmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan çözücüler ve kimyasal maddeler Sigma-Aldrich firmasından ticari olarak alındı ve herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanıldı. Çalışmada kullanılan cihazların marka ve modelleri Tablo 1 de yer almaktadır.

**Tablo 1.** Çalışmada Kullanılan Cihazların Marka ve Modelleri

Cihaz Adı	Marka ve Model
Elementel Analiz Cihazı	Thermo Scientific Flash EA 2000 CHNS
UV-Vis	PG Instruments (UK) T80 + UV-Vis spektrofotometre
FT-IR	Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spektrometresi (ATR)
Manyetik Duyarlılık Terazisi	Sherwood Scientific
Molar İletkenlik	ORION 4 STAR pH Conductivity Benchtop
NMR	Bruker Yüksek Performanslı Dijital FTNMR (400 MHz) spektrometresi

### 2.2. Metot

#### 2.2.1. *N*-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)nikotinohidrazit ligandının sentezi (L)

*N*-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)nikotin hidrazit ligandı literatürde beyan edilen yönteme göre sentezlenmiştir (Şekil 1) [28]. Nikotinik hidrazit (1 mmol, 0.137 g) bir balona alınarak 20 mL etanolde çözüldü. Üzerine damla damla 2-hidroksinaftaldehit (1 mmol, 0.172 g) eklendi. Geri soğutucu altında 1 saat reflux edildi. Çözücü evaporatörden uzaklaştırıldı. Elde edilen katı etanol ve dietileterde birkaç kez yıkandı ve desikatörde kurutuldu. Katı ürün etanolde kristallendirildi. Sarı renkli, Verim %90, E.N: 256-257 °C. IR, (ATR)  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3358 (O-H), 3210 (N-H), 3060 (C-H)<sub>aromatik</sub>, 3027 (C-H)<sub>alifatik</sub>, 1688 (C=O), 1595 (C=N), 1577 (C=N)<sub>pyridine</sub>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.60 (s, 1H, -CONH), 12.36 (s, 1H, -OH), 9.48 (s, 1H, -

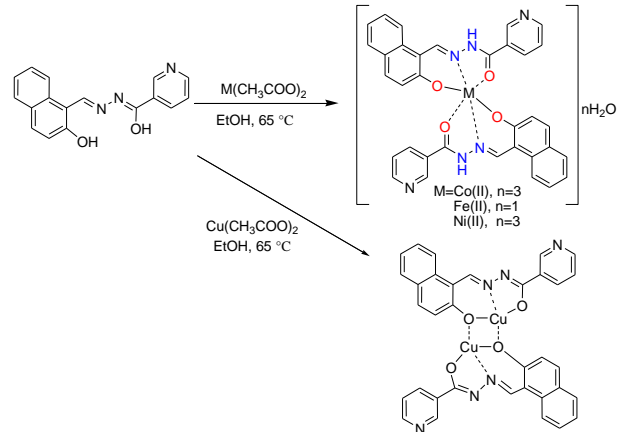
CH=N), 9.16 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H, piridin halkasının protonu), 8.82 (dd,  $J = 4.8, 1.4$  Hz, 1H, naftil halkasının protonu), 8.36 - 8.29 (m, 2H, piridin ve naftil halkasının protonları), 7.96 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H, naftil halkasının protonu), 7.92 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, naftil halkasının protonu), 7.66 - 7.61 (m, 2H, naftil halkasının protonu), 7.43 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H, piridin halkasının protonu), 7.26 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H, naftil halkasının protonu). <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  161.612 (C=O), 158.564 (C=N<sub>pyridine</sub>), 153.061 (C=N), 149.056-108.991 (aromatik karbonlar). UV-Vis (DMF)  $\lambda_{\text{max}}$  (Abs): 490 (0.223), 465 (0.221), 450 (0.149), 380 (0.243), 365 (0.281), 350 (0.251), 325 (0.284), 320 (0.201), 295 (0.172), 265 (0.331).



**Şekil 1.** Ligandın gösterimi

#### 2.2.2. Komplekslerin genel sentez prosedürü

Bir beher içerisinde 1 mmol ligandın 20 mL etanoldeki çözeltisi üzerine 0.5 mmol metal asetat tuzunun 15 mL etanoldeki çözeltisi eklendi. Metal tuzunun ligand çözeltisine ilavesiyle aniden renk dönümü gözlemlendi. Tepkime ortamı 65 °C sıcaklıkta 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çökme gerçekleştiği anda reaksiyon bitirildi. Çöken madde süzüldü, soğuk su, metanol ve dietileterde bir kaç kez yıkandı. Bileşik etil alkolde saflaştırıldı ve desikatörde kurutuldu (Şekil 2).



**Şekil 2.** Komplekslerin genel sentez şeması

##### 2.2.2.1. [Fe(L)<sub>2</sub>]-H<sub>2</sub>O kompleksi

Oluşan demir kompleksi siyah renklidir. Verim: 0.453 g (69 %). E.N: 330 °C üzeri dekompoze. IR, (ATR)  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3365 (O-H), 3199 (N-H), 3060 (C-H)<sub>aromatik</sub>, 2987 (C-H)<sub>alifatik</sub>, 1614 (C=O), 1595 (C=N), 522 (M-N), 493 (M-O); UV-Vis (DMF)  $\lambda_{\text{max}}$  (Abs): 540 (0.08), 510 (0.093), 455 (0.101), 420 (0.289), 400 (0.321), 385 (0.308), 325 (0.371), 275 (0.549) nm;  $\mu_{\text{eff}}$ : 5.96 B.M. İletkenlik  $2 \times 10^{-5}$  M DMF ( $\Lambda_M$ ): 1.31  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Teorik: C<sub>34</sub>H<sub>24</sub>FeN<sub>6</sub>O<sub>5</sub> (652.44); C, 62.59; H, 3.71; N, 12.88 %. Bulunan: C, 61.91, H, 3.64, N, 12.48 %.

### 2.2.2.2. [Co(L)<sub>2</sub>]·3H<sub>2</sub>O kompleksi

Oluşan demir kompleksi açık kahve renklidir. Verim: 0.529 g (76 %). E.N: 305 °C üzeri dekompoze. IR, (ATR)  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>: 3392 (O-H), 3224 (N-H), 3054 (C-H)<sub>aromatik</sub>, 2987 (C-H)<sub>alifatik</sub>, 1614 (C=O), 1596 (C=N), 525 (M-N), 456 (M-O); UV-Vis (DMF)  $\lambda_{max}$  (Abs): 455 (0.215), 445 (0.207), 410 (0.131), 345 (0.186), 280 (0.638) nm;  $\mu_{eff}$ : 1.03 B.M. İletkenlik 2x10<sup>-5</sup> M DMF ( $\Lambda_M$ ): 1.86  $\mu$ S/cm. Teorik: C<sub>34</sub>H<sub>28</sub>CoN<sub>6</sub>O<sub>7</sub> (691.56); C, 59.05; H, 4.08; N, 12.15 %. Bulunan: C, 59.66, H, 3.80, N, 12.35 %.

### 2.2.2.3. [Ni(L)<sub>2</sub>]·3H<sub>2</sub>O kompleksi

Oluşan nikel kompleksi bordo renklidir. Verim: 0.631 g (91 %). E.N: 270 °C üzeri dekompoze. IR, (ATR)  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>: 3355 (O-H), 3238 (N-H), 3088 (C-H)<sub>aromatik</sub>, 2987 (C-H)<sub>alifatik</sub>, 1616 (C=O), 1583 (C=N), 531 (M-N), 482 (M-O); UV-Vis (DMF)  $\lambda_{max}$  (Abs): 490 (0.119), 465 (0.125), 440 (0.116), 425 (0.114), 380 (0.306), 360 (0.334), 345 (0.267), 325 (0.352), 320 (0.269), 290 (0.228), 270 (0.439) nm;  $\mu_{eff}$ : 1.08 B.M. İletkenlik 2x10<sup>-5</sup> M DMF ( $\Lambda_M$ ): 2.54  $\mu$ S/cm. Teorik: C<sub>34</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>NiO<sub>7</sub> (691.32); C, 59.07; H, 4.08; N, 12.16 %. Bulunan: C, 58.85; H, 3.91; N, 12.86 %.

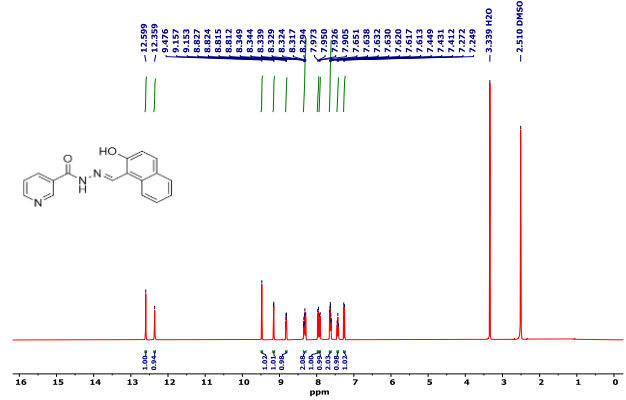
### 2.2.2.4. [Cu<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>] kompleksi

Oluşan bakır kompleksi koyu kahve renklidir. Verim: 0.592 g (85 %). E.N: 360 °C üzeri dekompoze. IR, (ATR)  $\nu$ , cm<sup>-1</sup>: 3079 (C-H)<sub>aromatik</sub>, 2988 (C-H)<sub>alifatik</sub>, 1609, 1585 (C=N), 517 (M-N), 462 (M-O); UV-Vis (DMF)  $\lambda_{max}$  (Abs): 490 (0.187), 465 (0.195), 450 (0.158), 380 (0.369), 365 (0.413), 355 (0.374), 325 (0.428), 320 (0.315), 295 (0.239), 265 (0.473) nm;  $\mu_{eff}$ : 1.61 B.M. İletkenlik 2x10<sup>-5</sup> M DMF ( $\Lambda_M$ ): 2.61  $\mu$ S/cm. Teorik: C<sub>34</sub>H<sub>22</sub>Cu<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> (705.67); C, 57.87; H, 3.14; N, 11.91 %. Bulunan: C, 58.50; H, 3.72; N, 12.48 %.

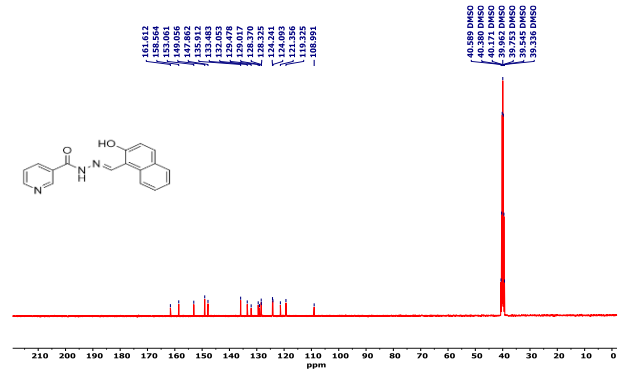
## 3. Bulgular ve Tartışma

N-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)nikotin hidrazit ligandı literatürde verildiği gibi sentezlenmiştir [28]. (Şekil 1) Sentezlenen ligand literatür verileriyle uyum içerisindedir. Hidrazon türevi ligand ile sırasıyla Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) asetat tuzlarının (2:1) ligand:metal sitokiyometrik oranda reaksiyonundan dört yeni metal kompleksi (L<sub>2</sub>Fe, L<sub>2</sub>Co, L<sub>2</sub>Ni ve L<sub>2</sub>Cu<sub>2</sub>) sentezlenmiştir. (Şekil 2) Sentezlenen Ni(II), Co(II) ve Fe(II) kompleksleri 2:1 ligand:metal sitokiyometrik oranına sahipken, Cu(II) kompleksi 2:2 metal:ligand sitokiyometrik oranına sahiptir. Sentezlenen bileşiklerin elementel analiz sonuçları, molekül ağırlıkları, verimleri, renkleri, fiziksel görünüşleri ve molekül formülleri Bölüm 2.2. Yöntemler bölümünde belirtilmiştir. Hidrazon türevi metal komplekslerin renkli ve havaya karşı dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir. Kompleksler DMSO, DMF, THF gibi yaygın organik çözücülerde iyi çözünmektedir. Komplekslerin 1.31-2.61  $\mu$ S/cm arasında molar

iletkenlik değerleri tespit edilmiştir. Kompleks bileşiklerin iletken olmadığı gözlenmiştir. [29, 30].

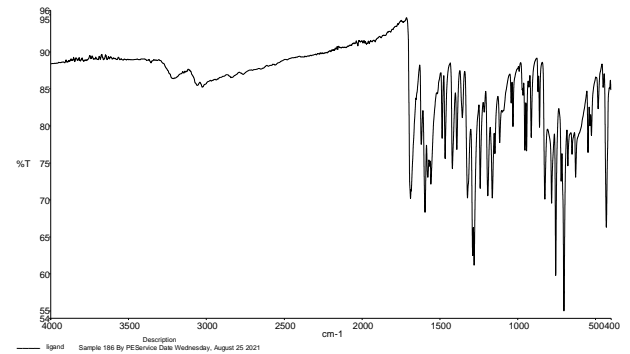


Şekil 3. Ligandın <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

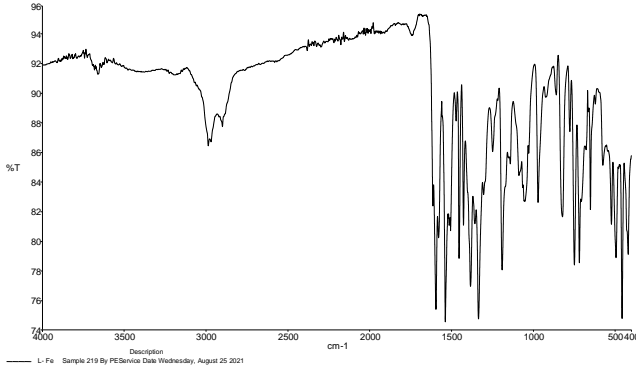


Şekil 4. Ligandın <sup>13</sup>C-NMR spektrumu

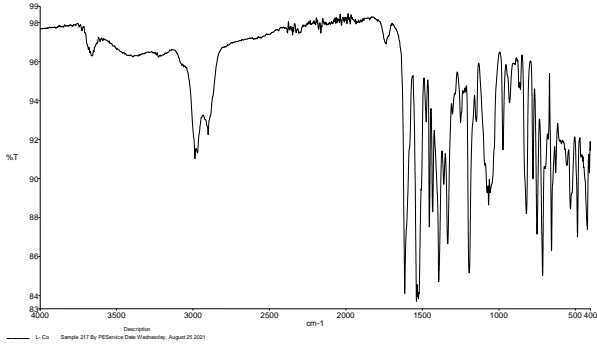
2-hidroksinaftil aldehit ile nikotinhidrazidinden elde edilen hidrazon bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu incelendiğinde, yapının oluşumunu gösteren en önemli grup olan azometine (CH=N) ait protonu 9.48 ppm'de rezonans olduğu görülmektedir. Yapısındaki hidroksil grubu (-OH) 12.36 ppm'de rezonans olurken, -CONH protonu 12.60 ppm'de rezonans olduğu görülmektedir. Ayrıca bileşiğin iskeletinde bulunan piridin ve naftil halkalarına ait protonlar 9.16 ve 7.26 ppm arasında rezonans oldukları tespit edildi. (Şekil 3) Yine ligandın <sup>13</sup>C-NMR spektrumu incelendiğinde (C=O) karbonil karbonunun 161.612 ppm'de, (C=N)<sub>piridin</sub> karbonunun 158.564 ppm'de, (C=N)<sub>azometin</sub> karbonunun 153.061 ppm'de, aromatik karbonların ise 149.056-108.991 ppm arasında çıktığı görülmektedir [28] (Şekil 4).



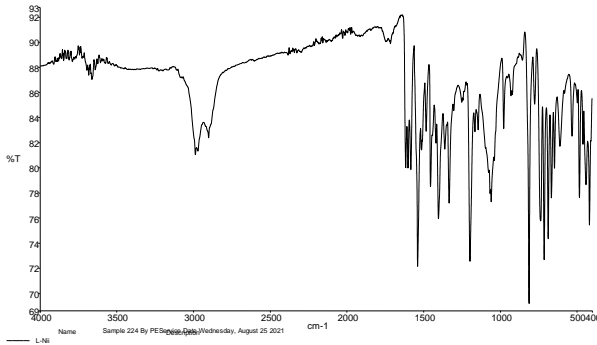
Şekil 5. Ligandın FT-IR spektrumu



Şekil 6. L-Fe kompleksinin FT-IR spektrumu



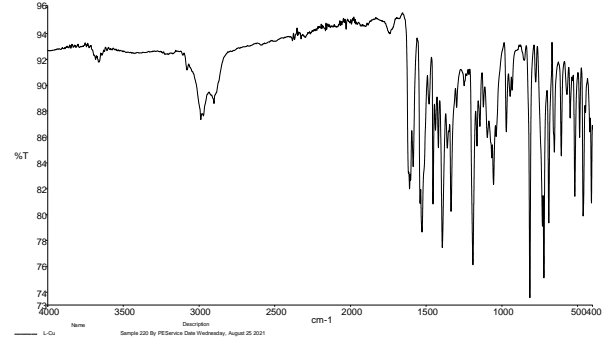
Şekil 7. L-Co kompleksinin FT-IR spektrumu



Şekil 8. L-Ni kompleksinin FT-IR spektrumu

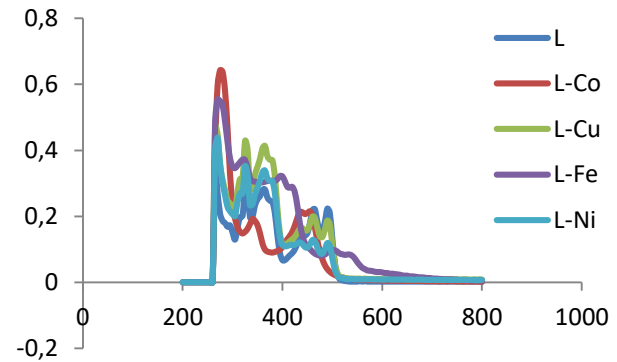
Sentezlenen bileşiklerin FT-IR spektrumlarına bakıldığında, 3088-3054  $\text{cm}^{-1}$  ligand ve kompleksler için aromatik C-H gerilme bandını, 3027-2987  $\text{cm}^{-1}$  alifatik C-H gerilme bandını, 1596-1583  $\text{cm}^{-1}$  C=N gerilme bandını [31, 32], 531-517  $\text{cm}^{-1}$  M-N gerilme bandını ve 493-456  $\text{cm}^{-1}$  ise M-O gerilme bandını göstermektedir [33, 34]. Ligandın FT-IR spektrumunda 1595  $\text{cm}^{-1}$  de görülen C=N bandının komplekslerde 1596-1583  $\text{cm}^{-1}$  de görülmesi kompleksleşmenin azometin grubu üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir [35, 36]. Ayrıca ligandda 1688  $\text{cm}^{-1}$  de görülen (C=O) bandı komplekslerde 1616-1609  $\text{cm}^{-1}$  aralığında gözlemlenmiştir. Bu da (C=O) grubunun da kompleksleşmeye katıldığını göstermektedir. 3238-3199  $\text{cm}^{-1}$  aralığında gözlemlenen bandlar N-H gerilme bandları olarak yorumlanmıştır [37]. FT-IR spektrumları incelendiğinde N-H bantlarının kaybolmadığı gözlemlenmiştir. Bu da kompleksleşme esnasında da ligandın keto formunda bağlandığını

göstermektedir. Eğer enol formunda bağlanmış olsaydı FT-IR spektrumundaki N-H piklerinin kaybolması gerekirdi. Yalnızca Cu(II) kompleksi oluşumu esnasında enol formunda olduğu düşünülmektedir. Çünkü spektrumu incelendiğinde N-H bandının kaybolduğu gözlemlenmiştir. 3392-3355  $\text{cm}^{-1}$  aralığında gözlemlenen bandlar ise komplekslerdeki koordinasyon küresi dışındaki sulara ait olan O-H gerilme bandlarını işaret etmektedir (Şekil 5-9).



Şekil 9. L-Cu kompleksinin FT-IR spektrumu

UV-Vis spektrumları,  $2 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonda N,N-dimetilformamid çözücüsünde, 190-1100 nm aralığında ölçülmüştür. Sentezlenen hidrazon türevi komplekslere ait UV-Vis spektrumu ve sonuçları incelendiğinde komplekslerde 265-295 nm aralığındaki geçişlerin naftalen ve piridin halkasına ait  $\pi-\pi^*$  geçişleri olduğu düşünülmektedir [38] (Şekil 10). Buna ilaveten 320-380 nm aralığındaki absorpsiyon bantlarının piridin halkasına ve hidrazon grubuna ait  $n-\pi^*$  geçişlerine ait olduğu düşünülmektedir. Komplekslerde 410-540 nm aralığında ortaya çıkan yeni bantlar yük transfer geçişleri olarak gözlemlenmiştir. Bu da kompleks oluşumuna işaret etmektedir [39]. Bakır kompleksinin kare düzlem geometride ve dinükleer yapıda olduğu düşünülmektedir. Literatürde benzer yapılarda da aynı bölgelerde  $n-\pi^*$ ,  $\pi-\pi^*$  ve yük transfer geçişlerinin görülmesi yapıyı desteklemektedir [40].



Şekil 10. Bileşiklerin Çakıştırılmış UV-Vis Spektrumu

Komplekslerin manyetik duyarlılık ölçümleri 298 K de ölçülmüştür. Manyetik duyarlılık değerlerine bakıldığında, L-Cu 1.61 BM, L-Ni 1.08 BM, L-Fe 5.96

BM ve L-Co 1.03 BM olarak kaydedilmiştir. L-Cu için ölçülen 1.61 BM değer bulunmuştur. L-Cu kompleksi için kare düzlem [41] ve dinükleer yapı önerilmiştir. Dinükleer bakır kompleksleri incelendiğinde genellikle güçlü antiferromanyetik özellikte oldukları gözlemlenmiştir [42,43]. L-Ni için ölçülen değer oktahedral nikel kompleksleri için verilen değerler aralığından (2.8-3.2 BM) oldukça düşüktür [44]. Nikel kompleksinin antiferromanyetik özellikte olduğu düşünülmektedir [45]. Literatürde nikel kompleksi için bulunan 1.08 BM değerine yakın oktahedral yapıya sahip yapılar bulunmaktadır [44]. Yine L-Co kompleksinin manyetik verilerine bakıldığında literatürdeki oktahedral yapılara ait değerlerden oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Kobalt kompleksinin de antiferromanyetik özellikte ve oktahedral yapıda olduğu düşünülmektedir. L-Fe kompleksi için bulunan değer yapının oktahedral geometride olduğunu göstermektedir [46].

#### 4. Sonuç

Bu çalışmada hidrazon türevi komplekslerin doğası üzerinde durulmuştur. Yapılan çalışmada N-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)nikotin hidrazit ligandı ve bu yapının yeni Fe(II), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezlenen hidrazon türevi bileşiklerin yapıları UV-Vis, elementel analiz, NMR (sadece ligand), FT-IR, molar iletkenlik ve manyetik duyarlılık gibi çeşitli yöntemlerle karakterize edilmiştir. Sentezlenen kompleksler orijinal olup literatür çalışmalarıyla uyum göstermektedir. Sentezlenen Cu(II) kompleksinin 2:2 diğer komplekslerin ise 2:1 ligand:metal sitokiyometrik oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Bakır kompleksinin dört koordinasyonlu kare düzlem yapıda, diğer komplekslerin ise altı koordinasyonlu oktahedral yapıda olduğu düşünülmektedir.

Literatürde hidrazon türevi komplekslerin uygulama alanları göz önüne alındığında, sentezlenen komplekslerin ileride yapılacak olan çalışmalara katkısı olacağı düşünülmektedir.

#### Etik Beyanı

*Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.*

#### Kaynakça

- [1] Rebilly, J. N., Colasson, B., Bistri, O., Over, D., Reinaud, O. 2015. Biomimetic cavity-based metal complexes. *Chemical Society Review*, 44, 467-489.
- [2] Shibata, S., Tsuge, K., Sasaki, Y., Ishizaka, S., Kitamura, N. 2015. Directional energy transfer in

mixed-metallic copper (I)-Silver (I) coordination polymers with strong luminescence. *Inorganic Chemistry*, 54, 9733-9739.

- [3] Maity, T., Saha, D., Bhunia, S., Brandão, P., Das, S., Koner, S. 2015. A family of ligand and anion dependent structurally diverse Cu (II) Schiff-base complexes and their catalytic efficacy in an O-arylation reaction in ethanolic media. *RSC Advances*, 5, 82179-82191.
- [4] Zaltariov, M.-F., Vieru, V., Zalibera, M., Cazacu, M., Martins, N. M. R., Martins, L. M. D. R. S., Rapta, P., Novitchi, G., Shova, S., Pombeiro, A.J.L., Arion, V. B. 2017. A Bis( $\mu$ -chlorido)-Bridged Cobalt(II) Complex with Silyl-Containing Schiff Base as a Catalyst Precursor in the Solvent-Free Oxidation of Cyclohexane. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 37, 4324-4332.
- [5] Cao, W., Zheng, X. J., Fang, D. C., Jin, L. P. 2014. A highly selective and sensitive Zn (II) complex-based chemosensor for sequential recognition of Cu (II) and cyanide. *Dalton Transactions*, 43, 7298-7303.
- [6] Parsaei, M., Asadi, Z., Khodadoust, S. 2015. A sensitive electrochemical sensor for rapid and selective determination of nitrite ion in water samples using modified carbon paste electrode with a newly synthesized cobalt (II)-Schiff base complex and magnetite nanospheres. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 220, 1131-1138.
- [7] Wang, Y., Mao, P. D., Wu, W. N., Mao, X. J., Fan, Y. C., Zhao, X. L., Xu, Z. H. 2018. New pyrrole-based single-molecule multianalyte sensor for Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Hg<sup>2+</sup> and its AIE activity. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 3085-3092.
- [8] Wang, S., Yang, X., Zhu, T., Bo, L., Wang, R., Huang, S., Chen, H., Jones, R.A. 2018. Construction of luminescent high-nuclearity Zn-Ln rectangular nanoclusters with flexible long-chain Schiff base ligands. *Dalton Transactions*, 47, 53-57.
- [9] Yang, Y., Gao, C. Y., Liu, J., Dong, D. 2016. Recent developments in rhodamine salicylidene hydrazone chemosensors. *Analytical Methods*, 8, 2863-2871.
- [10] Kumar, A., Lionetti, D., Day, V. W., Blakemore, J. D. 2018. Trivalent Lewis acidic cations govern the electronic properties and stability of heterobimetallic complexes of nickel. *Chemistry-A European Journal*, 24, 141-149.
- [11] Dong, W. K., Ma, J. C., Zhu, L. C., Zhang, Y. 2016. Nine self-assembled nickel (II)-lanthanide (III) heterometallic complexes constructed from a Salamo-type bisoxime and bearing a N-or O-donor auxiliary ligand: Syntheses, structures and magnetic properties. *New Journal of Chemistry*, 40, 6998-7010.
- [12] Fondo, M., Corredoira-Vázquez, J., Herrera-Lanzós, A., García-Deibe, A. M., Sanmartín-

- Matalobos, J., Herrera, J. M., Colacio, E., Nuñez, C. 2017. Improving the SMM and luminescence properties of lanthanide complexes with LnO<sub>9</sub> cores in the presence of Zn II: an emissive Zn<sup>2+</sup> Dy single ion magnet. *Dalton Transactions*, 46, 17000-17009.
- [13] Zhang, J., Xu, L., Wong, W. Y. 2018. Energy materials based on metal Schiff base complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, 355, 180-198.
- [14] Cao, W., Liu, Y., Zhang, T., Jia, J. 2018. Synthesis, characterization, theoretical and antimicrobial studies of tridentate hydrazone metal complexes of Zn (II), Cd (II), Cu (II) and Co (III). *Polyhedron*, 147, 62-68.
- [15] Zülfikaroğlu, A., Ataoğlu, Ç. Y., Çelikoğlu, E., Çelikoğlu, U., İdil, Ö. 2020. New Cu (II), Co (III) and Ni (II) metal complexes based on ONO donor tridentate hydrazone: Synthesis, structural characterization, and investigation of some biological properties. *Journal of Molecular Structure*, 1199, 127012.
- [16] Tolan, D. A., Kashar, T. I., Yoshizawa, K., El-Nahas, A. M. 2021. Synthesis, spectral characterization, density functional theory studies, and biological screening of some transition metal complexes of a novel hydrazide-hydrazone ligand of isonicotinic acid. *Applied Organometallic Chemistry*, 35(6), e6205.
- [17] Abdelrahman, M. S. A., Omar, F. M., Saleh, A. A., El-ghamry, M. A. 2021. Synthesis, molecular modeling, and docking studies of a new pyridazinone-acid hydrazone ligand, and its nano metal complexes. Spectroscopy, thermal analysis, electrical properties, DNA cleavage, antitumor, and antimicrobial activities. *Journal of Molecular Structure*, 131947.
- [18] Keser Karaoğlu, G. 2022. Synthesis of new Schiff base and its Ni(II), Cu(II), Zn(II) and Co(II) complexes; photophysical, fluorescence quenching and thermal studies. *Journal of Molecular Structure*, 1256, 132534.
- [19] El-Sawaf, A. K., El-Essawy, F., Nassar, A. A., El-Samanody, E. A. 2018. Synthesis, spectral, thermal and antimicrobial studies on cobalt (II), nickel (II), copper (II), zinc (II) and palladium (II) complexes containing thiosemicarbazone ligand. *Journal of Molecular Structure*, 1157, 381-394.
- [20] Devi, J., Yadav, J., Kumar, D., Jindal, D. K., Basu, B. 2020. Synthesis, spectral analysis and in vitro cytotoxicity of diorganotin (IV) complexes derived from indole-3-butyric hydrazide. *Applied Organometallic Chemistry*, 34, e5815.
- [21] Shebl, M., Saleh, A. A., Khalil, S. M., Dawy, M., Ali, A. A. 2021. Synthesis, spectral, magnetic, DFT calculations, antimicrobial studies and phenoxazinone synthase biomimetic catalytic activity of new binary and ternary Cu (II), Ni (II) and Co (II) complexes of a tridentate ONO hydrazone ligand. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(2), 195-209.
- [22] Sarkar, S., Siddiqui, A. A., Saha, S. J., De, R., Mazumder, S., Banerjee, C., Iqbal, M. S., Nag, S., Adhikari, S., Bandyopadhyay, U. 2016. Antimalarial activity of small-molecule benzothiazole hydrazones. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(7), 4217-4228.
- [23] Carcelli, M., Fiscaro, E., Compari, C., Contardi, L., Rogolino, D., Solinas, C., Stevaert, A., Naesens, L. 2018. Antiviral activity and metal ion-binding properties of some 2-hydroxy-3-methoxyphenyl acylhydrazones. *BioMetals*, 31(1), 81-89.
- [24] Sıcak, Y. 2017. Investigation of Antioxidant, Anticholinesterase Inhibitory, Tyrosinase Inhibitory and Urease Inhibitory Activities of Some Hydrazone Derivatives. *Türk Yaşam Bilimleri Dergisi*, 2(2), 165-170.
- [25] Mandewale, M. C., Thorat, B., Nivid, Y., Jadhav, R., Nagarsekar, A., Yamgar, R. 2018. Synthesis, structural studies and antituberculosis evaluation of new hydrazone derivatives of quinoline and their Zn (II) complexes. *Journal of Saudi Chemical Society*, 22(2), 218-228.
- [26] Abdelrahman, E. M., El-Shetary, B. A., Shebl, M., Adly, O. M. 2021. Coordinating behavior of hydrazone ligand bearing chromone moiety towards Cu (II) ions: Synthesis, spectral, density functional theory (DFT) calculations, antitumor, and docking studies. *Applied Organometallic Chemistry*, 35(5), e6183.
- [27] Sıcak, Y. 2018. Synthesis and Characterization of Some New Hydrazones with Anti-Urease Activities. *Journal of Ongoing Chemical Research*, 3(2), 71-74.
- [28] Hijazi, K. A., Taha, Z. A., Ajlouni, A. M., Al-Momani, W. M., Idris, I. M., Hamra, E. A. 2017. Synthesis and biological activities of lanthanide (III) nitrate complexes with N-(2-hydroxynaphthalen-1-yl) methylene) nicotinohydrazide Schiff Base. *Medicinal Chemistry*, 13(1), 77-84.
- [29] Maravalli, P.B., Dhumwad, S.D., Goudar, T.R. 1999. Synthetic, spectral, thermal and biological studies of lanthanide(III) complexes with a Schiff base derived from 3-N-methylpiperidino-4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 29, 525-540.
- [30] Soğukömeroğulları, H. G., Taşkın Tok, T., Yılmaz, F., Berber, İ., Sönmez, M. 2015. Synthesis, characterization, biological studies, and molecular modeling of mixed ligand bivalent metal complexes of Schiff bases based on N-aminopyrimidine-2-one/2-thione. *Turkish Journal of Chemistry*, 39, 497-509.



- [31] Sönmez, M., Sogukomerogullari, H. G., Öztemel, F., Berber, İ. 2014. Synthesis and biological evaluation of a novel ONS tridentate Schiff base bearing pyrimidine ring and some metal complexes. *Medicinal Chemistry Research*, 23, 3451-3457.
- [32] Soğukömeroğullari, H. G., Sönmez, M., Berber, İ. 2016. Synthesis, characterization, antioxidant and antimicrobial studies of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Mn(II) complexes with a new Schiff base ligand containing a pyrimidine moiety. *International Journal of PharmTech Research*, 9 (8), 391-398.
- [33] Sogukomerogullari, H. G., Sönmez, M., Ceyhan, G. 2019. ONO Tip Schiff Baz Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Katalitik Özellikleri ve Termal Çalışmaları. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 23(3), 701-708.
- [34] Belal, A. A. M., El-Deen, I. M., Farid, N. Y., Zakaria, R., Refat, M. S. 2015. Synthesis, spectroscopic, coordination and biological activities of some transition metal complexes containing ONO tridentate Schiff base ligand. *Spectrochimica Acta Part A*, 149, 771-787.
- [35] Dede, B., Özen, N., Görgülü, G. 2018. Synthesis, characterization, theoretical calculations and enzymatic activities of novel diimine-dioxime ligand and its homodinuclear Cu(II) complex. *Journal of Molecular Structure*, 1163, 357-367.
- [36] Sönmez, M., Şekerci, M. 2003. Synthesis, characterization, and thermal investigation of copper(II), nickel(II), cobalt(II), and zinc(II) complexes with 5-benzoyl-1-(phenylmethyleneamino)-4-phenyl-1H-pyrimidine-2-thione. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 33, 1689-1701.
- [37] Neethu, K.S., Sivaselvam, S., Theetharappan, M., Ranjitha, J., Bhuvanesh, N.S.P., Ponpandian, N., Neelakantan, M.A., Kaveri, M.V. 2021. *In vitro* evaluations of biomolecular interactions, antioxidant and anticancer activities of Nickel(II) and Copper(II) complexes with 1:2 coordination of anthracenyl hydrazone ligands. *Inorganica Chimica Acta*, 524, 120419.
- [38] Sönmez, M., Şekerci, M. 2007. The template synthesis, spectral characterization and thermal behavior of new binuclear Schiff base complexes derived from N-aminopyrimidine with 2, 3-butandion. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72, 259-264.
- [39] Goorchibeygi, S., Bikas, R., Soleimani, M., Siczek, M., Lis, T. 2022. Molecular structure and catalytic activity of Fe(III) coordination compound with ONO-donor hydrazone ligand in the oxidation of cyclooctene by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Molecular Structure*, 1250 (1), 131774.
- [40] Bessy Raj, B. N., Prathapachandra Kurup, M. R., Suresh, E. 2008. Synthesis, spectral characterization and crystal structure of N-2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde-N'-4-nitrobenzoyl hydrazone and its square planar Cu(II) complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 71 (4), 1253-1260.
- [41] Ray, M. S., Bhattacharya, R., Chaudhuri, S., Righi, L., Bocelli, G., Mukhopadhyay, G., Ghosh, A. 2003. Synthesis, characterisation and X-ray crystal structure of copper(II) complexes with unsymmetrical tetradentate Schiff base ligands: first evidence of Cu(II) catalysed rearrangement of unsymmetrical to symmetrical complex. *Polyhedron*, 22(4), 617-624.
- [42] Barwiolek, M., Kaczmarek-Kędziera, A., Muziol, T. M., Jankowska, D., Jezierska, J., Bieńko, A. 2020. Dinuclear Copper(II) Complexes with Schiff Bases Derived from 2-Hydroxy-5-Methylisophthalaldehyde and Histamine or 2-(2-Aminoethyl)pyridine and Their Application as Magnetic and Fluorescent Materials in Thin Film Deposition. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 4587.
- [43] Mohammadnezhad, G., Ahfad, N., Meghdadi, S., Farrokhpour, H., Schmitz, S., Haseloer, A., Buchholz, A., Plass, W., Klein, A. 2021. Dinuclear Nickel(II) and Copper(II) Complexes of 8-Quinoline-1H-pyrazole-3-carboxamide: Crystal Structure, Magnetic Properties, and DFT Calculations. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2021, 1786-1795.
- [44] Sönmez, M., Şekerci, M. 2004. A new heterocyclic Schiff base and its metal complexes. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 34(3), 489-502.
- [45] Pal, A., Kumar, S. C., Ghosh, A. K., Lin, C.-H., Rivière, E., Mallah, T., Ghosh, R. 2016. Synthesis, X-ray structure and catecholase activity of an antiferromagnetically coupled trinuclear nickel(II) complex. *Polyhedron*, 110, 221-226.
- [46] Abu-Dief, A. M., El-khatib, R. M., El Sayed S. M., Alzahrani, S., Alkhatib, F., El-Sarrag, G., Ismael, M. 2021. Tailoring, structural elucidation, DFT calculation, DNA interaction and pharmaceutical applications of some aryl hydrazone Mn(II), Cu(II) and Fe(III) complexes. *Journal of Molecular Structure*, 1244, 131017.

## CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Elektro-indirgenmiş Grafen Oksit Nanokompozitlerinin Yeni Bir Elektrokimyasal Teknik Kullanılarak Sentezi ve Karakterizasyonu

Hülya ÖZTÜRK DOĞAN<sup>\*1</sup>, Bingül KURT URHAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanobilim ve Nanomühendislik Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

(Alınış / Received: 06.12.2021, Kabul / Accepted: 10.02.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

Bakır bizmutat,  
Elektrokimyasal sentez,  
İndirgenmiş grafen oksit,  
Nanokompozit

**Öz:** Bu çalışmada, bakır bizmutat (CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) ve elektro-indirgenmiş grafen oksitten (ERGO) oluşan nanokompozit (CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO) materyal tek kaptaki yeni bir elektrokimyasal teknik kullanılarak nikel (Ni) köpük elektrot yüzeyinde başarıyla sentezlenmiştir. Çözelti ortamı olarak Cu<sup>+2</sup>, Bi<sup>+3</sup> ve grafen oksit (GO) ihtiva eden çözelti karışımı kullanılmıştır. Öncelikle oksijen gazı geçirilen çözelti ortamında Ni köpük elektrot yüzeyinde hidroksit türleri depozit edilmiştir. Sonrasında termal tavlama yapılarak oksit formuna dönüşüm sağlanmıştır. Elektrokimyasal olarak sentezlenen CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO modifiye elektrotlar X-ışını kırınımı (XRD), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), Raman, alan emisyonlu taramalı elektron mikroskopu (FE-SEM) ve enerji dağılım spektroskopisi (EDS) teknikleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Yapılan karakterizasyon işlemleri nanokompozitin hem CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> hem de ERGO yapısını bir arada içerdiğini göstermiştir.

## Synthesis and Characterization of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Electro-reduced Graphene Oxide Nanocomposites using A New Electrochemical Technique

### Keywords

Copper bismuthate,  
Electrochemical deposition,  
Reduced graphene oxide,  
Nanocomposite

**Abstract:** In this study, a nanocomposite material consisting of copper bismuthate (CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) and reduced graphene oxide (ERGO) (CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO) was successfully synthesized on the nickel (Ni) foam electrode surface using a new one-pot electrochemical technique. A mixture solution containing Cu<sup>+2</sup>, Bi<sup>+3</sup>, and graphene oxide (GO) was used as the solution medium. Firstly, the hydroxide species were deposited on Ni electrode in the solution medium, in which oxygen gas was passed. Afterward, thermal annealing was performed and the hydroxide species were converted to the oxide form. Electrochemically synthesized CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO modified electrodes were characterized using X-ray diffraction (XRD), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), Raman, field emission scanning electron microscopy (FE-SEM), and energy dispersion spectroscopy (EDS) techniques. The characterization processes showed that the nanocomposite contains both CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> and ERGO structures together.

### 1. Giriş

Genel formülleri AB<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (A, B= Co, Cu, Mn, Ni vb.) yapısına sahip olan spinel oksitler, makul elektriksel iletkenlik ile yüksek termal ve kimyasal kararlılıkları nedeniyle geleneksel metal oksitlere kıyasla son yıllarda daha çok dikkat çekmektedirler. Bunlar arasında bakır bizmutat (CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) 1,6-1,8 eV optik bant aralığına sahip p-tipi bir yarıiletken [1]. Görünür ışık altında TiO<sub>2</sub>'den daha yüksek fotokatalitik aktivite gösteren spinel CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> tahmini maksimum teorik fotoakım yoğunluğu ~ 19,7 mA/cm<sup>2</sup>'dir [2, 3]. Düşük bant aralığı, uygun bant konumları, pozitif başlangıç potansiyeli ve mükemmel

stabilitesi nedeniyle, p-tipi CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nano yapıları fotoelektrokimyasal hücrelerde potansiyel bir fotokatot malzemesi olarak kullanılmaktadır [4]. Ayrıca CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nano yapıları CO<sub>2</sub> indirgenmesi [5], süperkapasitör [6], solar su ayrıştırması [7] ve biosensör [8, 9] uygulamalarında kullanılmaktadır.

Literatürde CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> sentezi için; elektrodpozisyon [6, 10], hidrotermal sentez [11, 12], püskürtme [13], döndürerek kaplama [14], sprey piroliz [15], birlikte çöktürme [16], sol-jel [17] ve solvotermal [18] sentez gibi farklı yöntemler uygulanmıştır. Ancak özellikle güneş uygulamaları açısından substrat ile CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> yapısı arasında ohmik direncin oluşmasının

\*İlgili yazar: hdogan@atauni.edu.tr

önlenmesi amacıyla elektrokimyasal sentez oldukça avantajlıdır. Elektrokimyasal teknik ağır ve toksik kimyasallar içermeyen elektrolit ortamlarından yüksek sıcaklık ve basınç uygulamasına gerek kalmadan doğrudan substrat yüzeyinde senteze imkan sağladığı için tercih edilmektedir. Ek olarak CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> filmlerinin oluşumu için elektrokimyasal yöntemin seçilmesi, Cu ve Bi biriktirme potansiyellerinin yakınlığı nedeniyle hem Cu<sup>+2</sup> hem de Bi<sup>+3</sup> iyonlarını içeren tek bir çözelti ortamından birlikte biriktirmeye izin vermektedir. Hahn ve grubu tarafından yapılan çalışmada, bir flor katkılı kalay oksit (FTO) substrat üzerinde metalik bakır (Cu) ve bizmutun (Bi) birlikte elektrodepozisyon edilmesi ve ardından ısı işleme tabi tutulması ile CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> filmleri üretilmiştir [19]. Ancak rapora göre, FTO substratı üzerindeki CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> film çok kırılğan olup biriktirilen metallerin oksidasyon sürecinin, filmlerin alt tabakalarla temasını zayıflatığı görülmüştür. Nakabayashi vd. [10] gerçekleştirdikleri çalışmada CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> yapıları FTO elektrot yüzeyinde elektrokimyasal olarak biriktirilmiştir. Bu amaçla; Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, CuSO<sub>4</sub>, tartarik asit ve 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'ın çözülmesiyle çözelti hazırlanmış ve daha sonra NaOH ile pH 13.0'a ayarlanmıştır. Bu elektrolit solüsyonunda 65°C'de anodik potansiyel uygulanarak elektrodepozisyon gerçekleştirilmiştir. Elektrodepozisyondan sonra, FTO substratı üzerindeki film, saf su ile dikkatlice durulanmıştır. Daha sonra biriktirilen film, oksit formuna dönüşmesi için 500°C'de 4 saat boyunca hava ortamında ısıtılmıştır.

Son zamanlarda, grafen tabanlı malzemeler (grafen, grafen oksit (GO) ve indirgenmiş GO (rGO) gibi) çok fazla araştırmacının ilgisini çekmiştir. GO, grafitin güçlü oksitleyiciler ile muamelesi sonucu elde edilen grafenin oksitlenmiş türevidir [20]. Grafen oksitin kimyasal veya termal indirgenmesi ile indirgenmiş grafen oksit (rGO) oluşturulur. rGO; 2D nano yapısı, mükemmel termal stabilitesi, iyi mekanik mukavemeti, daha yüksek iletkenliği ve biyouyumluluğu nedeniyle nanokompozit malzemelerin sentezi için potansiyel bir aday olarak ortaya çıkmıştır [21]. rGO nano tabakalarının oksijen işlevsellikleri, yapısal kusurları ve sp<sup>2</sup> hibritleştirilmiş karbon (π-π) tabakaları sayesinde metal oksit moleküllerinin bağlanması için çok sayıda alan sağlar. Metal oksitlerin nanokompozit yapısında rGO ile birleştirilmesi, rGO'nun daha yüksek iletkenliğine sahip olması nedeniyle metal oksitin elektriksel özelliklerinin geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır. Shah ve grubu [22] FTO elektrot yüzeyinde fotokatot olarak CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/rGO nanoyapılarını sentezlemişlerdir. FTO elektrot yüzeyinde ilk olarak damlatma tekniği kullanılarak CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> sentezlenmiş sonrasında döndürerek kaplama (spin coating) tekniği ile rGO kaplaması yapılmıştır.

rGO tabanlı metal oksit nanokompozitler, son birkaç yılda enerji uygulamalarında elektrot materyali olarak

çok dikkat çekmiştir. Bu nedenle, bu çalışma herhangi bir şelatlayıcı olmaksızın CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarını basit ve kolay uygulanabilir bir elektrokimyasal teknik kullanarak sentezlemeyi ve karakterize etmeyi amaçlamaktadır.

## 2. Materyal ve Metot

Elektrokimyasal çalışmalar BASi100 model potansiyostat kullanılarak üç elektrotlu hücre sisteminde gerçekleştirilmiştir. Bu sistemde; Ni köpük elektrot çalışma elektrodu, Pt tel karşıt elektrot ve Ag/AgCl (doygun KCl) ise referans elektrot olarak kullanılmıştır. Elektrokimyasal sentezden önce Ni köpük elektrot, yüzeyinde bulunması muhtemel oksit tabakasından arındırılması amacıyla 3 M HCl asit çözeltisinde 15 dakika süre ile sonike edilmiş ve sonrasında bolca saf su ile yıkanmıştır.

CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoyapılarının elektrokimyasal sentezi için; 4 mM Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ve 8 mM Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>+0,1 M HNO<sub>3</sub> çözeltileri 1:1 (v/v) olacak şekilde karıştırılmış ve çözeltiden yüksek akış hızında oksijen gazı geçirilmiştir. Ni köpük elektrodun bu elektrolit ortamında dönüşümlü voltamogramı kaydedilmiş ve depozisyon potansiyeli olarak -500 mV seçilmiştir. Ni köpük elektrot yüzeyindeki elektrokimyasal biriktirme esnasında ilk basamakta hidroksit türleri oluşturulmuş ve sonrasında oksit formuna dönüştürülmesi amacıyla 450 °C'de 2 saat süre ile hava ortamında ısı işleme tabi tutulmuştur.

CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının elektrokimyasal sentezi için ise; Cu<sup>+2</sup> ve Bi<sup>+3</sup> iyonlarını içeren karışıma 1:1 (v/v) olacak şekilde grafen oksit (GO) çözeltisi (1 mg GO/10 mL 0,1 M KNO<sub>3</sub>) ilave edilmiştir. Karışım çözeltisinden oksijen gazı geçirilmiş ve karışım ortamında dönüşümlü voltamogram kaydedilerek depozisyon potansiyeli -500 mV olarak belirlenmiştir. O<sub>2</sub> gazı geçirilen ortamda sabit potansiyelde elektrokimyasal biriktirme yapıldıktan sonra 450 °C'de 2 saat süre ile hava ortamında termal tavlama yapılarak oksit formuna dönüşüm sağlanmıştır.

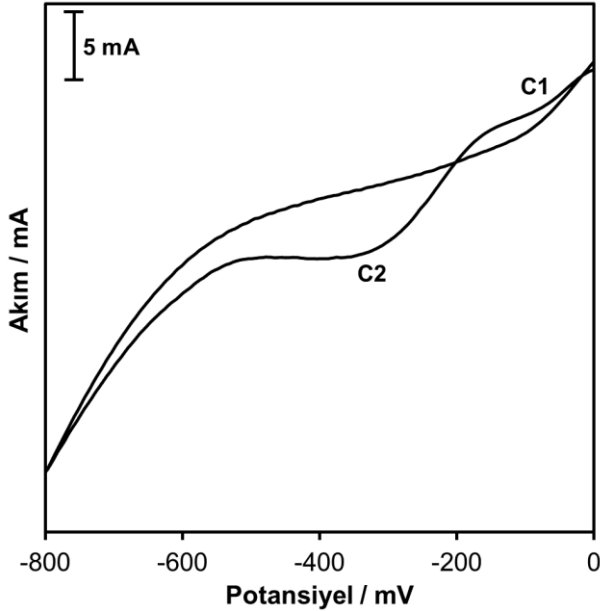
Elektrokimyasal olarak sentezlenen CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının analitik karakterizasyonu için X-ışını kırınımı (XRD, Rigaku marka), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS, Specs-Flex) ve enerji dağılım spektroskopisi (EDS, elektron mikroskobu ile adapte edilmiş) teknikleri kullanılmıştır. Morfolojik karakterizasyon ise alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM, Zeiss Sigma 300) ile araştırılmıştır.

## 3. Bulgular

### 3.1. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının elektrokimyasal sentezi

CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının elektrokimyasal sentezi için; öncelikle Ni köpük elektrodun 4 mM

Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 8 mM Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>+0,1 M HNO<sub>3</sub> ve 1 mg GO/10 mL 0,1 M KNO<sub>3</sub> (1:1 v/v) içeren çözelti ortamındaki elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Dönüşümlü voltamogram (CV) kaydedilmeden önce çözelti ortamından O<sub>2</sub> gazı geçirilmiştir. O<sub>2</sub> gazı ile doyurulmuş elektrolit ortamında 100 mV/s tarama hızı ile kaydedilen CV'ı Şekil 1'de verilmiştir. Bu voltamograma göre C1 ve C2 olmak üzere iki adet indirgenme piki gözlenmiştir. Bakır ve bizmutun indirgenme potansiyelleri birbirine yakın olduğundan bu piklerden oldukça yaygın olan C1 pikinin bakır ve bizmutun depozisyonuna karşılık geldiği düşünülmektedir. Daha negatif potansiyel bölgesinde gözlenen indirgenme pikinin ise GO'den kaynaklandığı bilinmektedir [23]. Şekil 1'de incelenen elektrokimyasal davranışa göre Ni köpük elektroda -500 mV sabit potansiyel uygulandığında bütün türlerin bir arada elektrot yüzeyinde eş zamanlı olarak birikebileceği görülmektedir.



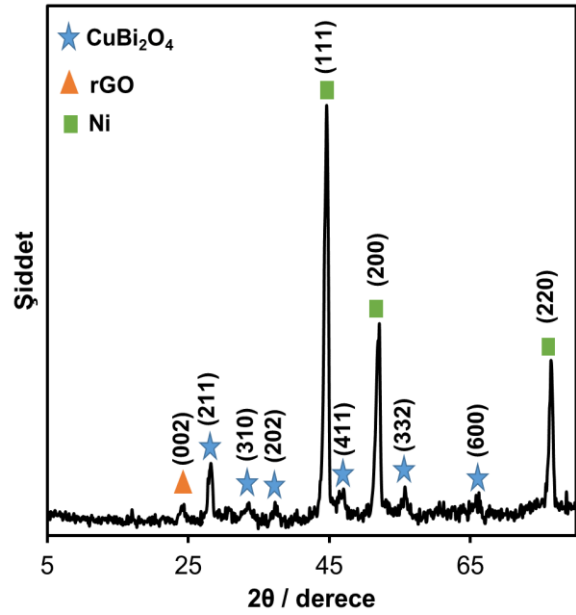
Şekil 1. Ni köpük elektrodun Cu<sup>2+</sup>, Bi<sup>3+</sup> ve GO içeren çözeltide dönüşümlü voltamogramı

Metal oksitlerin elektrokimyasal sentezinde önerilen genel mekanizmalara göre sabit potansiyelde depozisyon yapıldığında elektrot yüzeyinde hidroksit veya oksihidroksit gibi türler oluşturulur ve sonrasında ısı işlemi uygulanarak bu türlerin oksit formuna dönüşmesi sağlanır [24]. Şekil 1'de verilen voltamograma göre belirlenen potansiyelde 30 dakika süre ile depozisyon yapılmış ve sonrasında elektrot ısı işleme tabi tutulmuştur. Isıl işlem için daha önce literatürde yer alan bilgiler doğrultusunda 2 saat süre boyunca 450 °C'de tavlama yapılmıştır [19].

### 3.2. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının karakterizasyonu

Elektrokimyasal teknik kullanılarak hazırlanan CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının yapısal karakterizasyonu için öncelikle kristal yapısı ve faz

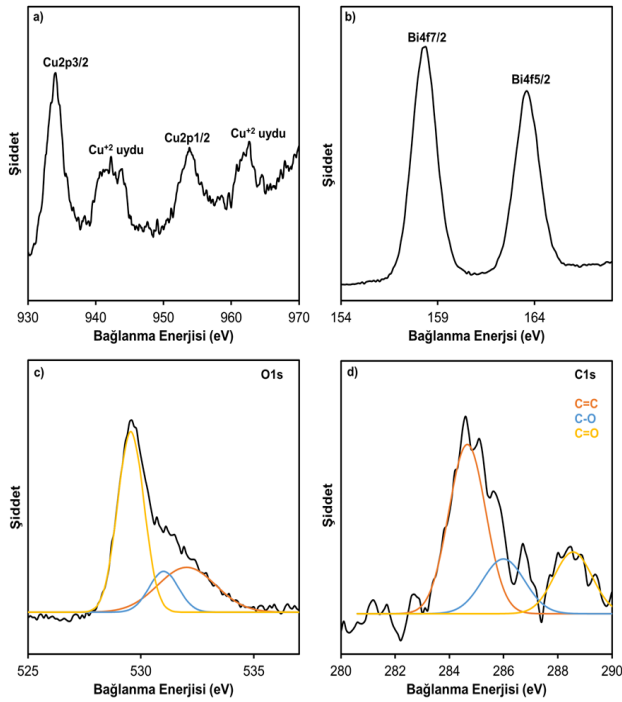
saflığının belirlenmesi amacıyla XRD spektrumu alınmıştır (Şekil 2). Şekil 2'de verilen XRD spektrumu incelendiğinde substrat olan Ni köpüğe ait piklere ek olarak ERGO'nun grafen yapısından kaynaklanan C(002) piki ve CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>'e ait (211), (310), (202), (411), (332) ve (600) kırınım pikleri elde edilmiştir. Kaydedilen XRD spektrumunda metalik Cu, metalik Bi, Cu veya Bi hidroksit yapıları ile Cu veya Bi oksitten kaynaklanan kırınım pikleri gözlenmemiştir. Bu durum elektrokimyasal sentez kullanılarak Cu, Bi ve ERGO'nun eş zamanlı olarak yüzeyde oksit filmi oluşturmak için bir araya geldiğini ve termal tavlama ile bütün hidroksit türlerinin oksit yapısına dönüştüğünü göstermektedir. Ayrıca bu XRD spektrumu CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>'ün saf tetragonal fazının oluşumunu da doğrulamaktadır.



Şekil 2. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarına ait XRD spektrumu

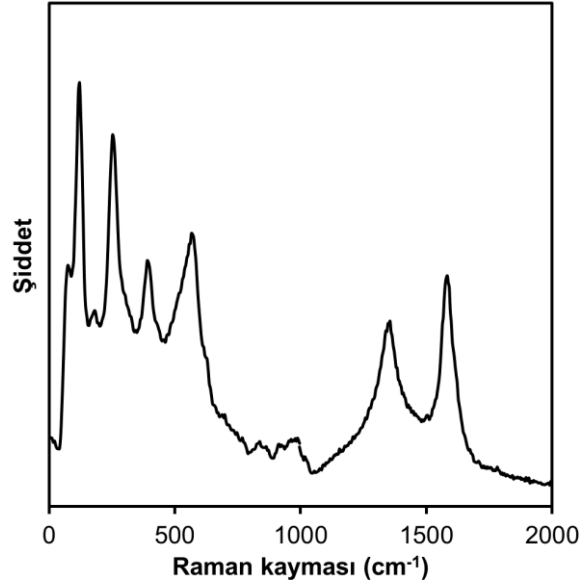
CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının içerisinde mevcut bulunan metal iyonlarının yükseltgenme durumunu araştırmak ve GO'nun ERGO oluşturmak üzere indirgenmesini belirleyebilmek için, XPS analizi yapılmıştır. Bu amaçla her elementin bağlanma enerjisine karşılık gelen bölgelerde kısmi taramalar yapılarak bağlanma durumları tespit edilmiştir. Elektrokimyasal teknik kullanılarak hazırlanan CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapıları için Cu, Bi, O ve C piklerine ait XPS spektrumları Şekil 3a-d'de verilmiştir. Cu2p tepe noktaları 953,9 eV ve 934,1 eV değerlerinde elde edilmiştir ve bu pikler sırasıyla Cu 2p<sub>1/2</sub> ve Cu 2p<sub>3/2</sub> seviyesine karşılık gelmektedir (Şekil 3a). Ek olarak Cu<sup>2+</sup> basamağına karşılık gelen iki uydu tepe noktasının spektrumda yer alması filmin oksit formuna dönüştüğünü göstermektedir. Bi4f çekirdek seviyesi spektrumu için 4f<sub>7/2</sub> ve 4f<sub>5/2</sub>'ye karşılık gelen 158,3 eV ve 163,6 eV'de görülen pikler Bi<sup>3+</sup> iyonunun varlığını gösterir. Literatürde CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> ve CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarına ait XPS spektrumları karşılaştırıldığında benzer spektrumlar elde edilmiştir ve bu spektrumlar CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> ile ERGO arayüzü arasında iyi bir elektronik etkileşimin

olduğunu göstermiştir [25]. O1s için kaydedilen asimetrik XPS spektrumunda 529,5 eV, 530,9, 532,1 eV bağlanma enerjisi değerlerinde üç pik görünümü mevcuttur (Şekil 3c). Düşük bağlanma enerjisindeki pik, CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>'ün kafes oksijenine karşılık gelir. 530,9'daki pikin oksijen boşluğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca ERGO yapısında mevcut bulunan O-C türlerinin varlığı nedeniyle 532,1 eV'de ek bir pik daha gözlenmiştir. O1s spektrumunda olduğu gibi C1s spektrumu için de asimetrik pik elde edilmiştir (Şekil 3d). Bu pik ERGO'te bulunan C=C, C-O ve C=O gibi farklı fonksiyonel gruplara karşılık gelir. Sırası ile 284,6 eV, 286,0 eV ve 288,5 eV değerlerinde kaydedilen bu pikler literatür ile uyumludur [26]. Şekil 3'te incelenen XPS spektrumları elektrokimyasal teknik kullanılarak tek basamakta CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir.



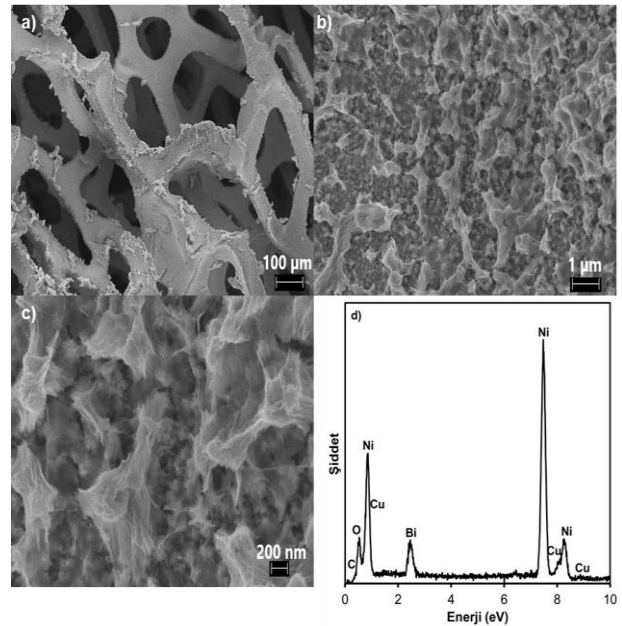
Şekil 3. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarına ait XPS spektrumları Cu2p (a), Bi4f (b), O1s (c) ve C1s (d) bölgeleri.

CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının yapısal karakterizasyonu için kullanılan bir diğer teknik Raman spektrumudur. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapıları için Şekil 4'te kaydedilen Raman spektrumunda 127, 260, 403 ve 580 cm<sup>-1</sup>'deki dört farklı titreşim tepe noktası, CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>'in varlığına karşılık gelir [13, 22]. Kompozitte yer alan ERGO için ise; 1355 ve 1593 cm<sup>-1</sup>'de karakteristik D ve G-bandı tepe noktalarına sahip iki temel titreşim piki elde edilmiştir. Ek olarak; grafen tabanlı kompozit malzeler için oldukça önemli bir parametre D ve G bandının birbirine oranıdır (*I<sub>D</sub>/I<sub>G</sub>*). Daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda GO için bu oran 1,09 olarak hesaplanmıştır [27]. rGO ile kompozit yapıldığında kompozitte yer alan materyal rGO yapısındaki kusurları azalttığı için *I<sub>D</sub>/I<sub>G</sub>* oranının azaldığı bilinmektedir [28]. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapıları için *I<sub>D</sub>/I<sub>G</sub>* oranı 0,97 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarına ait Raman spektrumu

CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının morfolojik karakterizasyonu FE-SEM tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı büyüme oranları için alınan FE-SEM görüntüleri Şekil 5 a-c'de verilmiştir. Şekil 5a'da görüldüğü gibi Ni köpüğün yüzeyinin tamamen ve homojen olarak CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapıları ile kaplanmıştır. Ayrıca yüksek büyütme oranlarında alınan görüntülerde (Şekil 5b ve 5c), CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoyapılarının kıvrımlı grafen yapısı ile sarıldığı net bir şekilde görülmektedir. Ek olarak CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapıları için alınan EDS spektrumunda (Şekil 5d) substrattan kaynaklanan Ni pikleri ile CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarındaki ERGO'ten gelen C ve CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>'den dolayı Cu, Bi ve O pikleri gözlenmiştir. Bu piklere ek olarak başka elementel pik bulunmaması sentezlenen nanoyapıların elementel boyutta oldukça saf olduğunu göstermiştir.



Şekil 5. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarına ait FE-SEM görüntüleri (a-c) ve EDS spektrumu (d).

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma kapsamında CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının Cu<sup>+2</sup>, Bi<sup>+3</sup> ve GO içeren tek bir çözelti ortamından elektrokimyasal teknik kullanılarak Ni köpük substrat yüzeyinde sentezi ilk defa gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla öncelikle Cu<sup>+2</sup>, Bi<sup>+3</sup> ve GO içeren çözeltide dönüşümlü voltamogram kaydedilmiş ve hem CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> hem de ERGO nanoyapılarının eş zamanlı biriktirilebilmeleri için uygulanması gereken potansiyel değeri -500 mV (Ag/AgCl'e karşı) olarak tespit edilmiştir. Elektrokimyasal teknik kullanılarak hazırlanan CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının karakterizasyonu için XRD, XPS, Raman, FE-SEM ve EDS teknikleri kullanılmıştır. Yapılan karakterizasyonlar sonucunda CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO nanoyapılarının Ni köpük elektrodunun yüzeyinde başarıyla büyütüldüğü görülmüştür. Üretilen CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ERGO modifiye Ni köpük elektrotların gelecekte sensör ve enerji uygulamalarında elektrot materyali olarak kullanılması düşünülmektedir.

#### Teşekkür

Bu çalışmanın bir kısmı Atatürk Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: FBA-2020-7553).

#### Etik Beyanı

*Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.*

#### Kaynakça

- [1] Janani, G., Chae, Y., Surendran, S., Sim, Y., Park, W., Kim, J. K., Sim, U. 2020. Rational Design of Spinel Oxide Nanocomposites with Tailored Electrochemical Oxygen Evolution and Reduction Reactions for ZincAir Batteries. Appl. Sci., 10(9), 3165.
- [2] Berglund, S. P., Abdi, F. F., Bogdanoff, P., Chemseddine, A., Friedrich, D., Krol, R. 2016. Comprehensive Evaluation of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> as a Photocathode Material for Photoelectrochemical Water Splitting. Chem. Mater., 28(12), 4231-4242.
- [3] Wang, F., Septina, W., Chemseddine, A., Abdi, F. F., Friedrich, D., Bogdanoff, P., Krol, R., Tilley, S. D., Berglund, S.P. 2017. Gradient Self-Doped CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> with Highly Improved Charge Separation Efficiency. J. Am. Chem. Soc., 139(42), 15094-15103.
- [4] Sharma, G., Zhao, Z., Sarker, P., Nail, B. A., Wang, J., Huda, M. N., Osterloh, F. E. 2016. Electronic

structure, photovoltage, and photocatalytic hydrogen evolution with p-CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanocrystals. J. Mater. Chem. A, 4, 2936-2942.

- [5] Jia, L., Yang, H., Deng, J., Chen, J., Zhou, Y., Ding, P., Li, L., Han, N., Li, Y. 2019. Copper-Bismuth Bimetallic Microspheres for Selective Electrochemical Reduction of CO<sub>2</sub> to Formate. Chinese Journal of Chemistry, 37(5), 497-500.
- [6] Ensafi, A. A., Rezaei, N. A. B. 2015. Electrochemical preparation of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles on nanoporous stainless steel as a binder-free supercapacitor electrode. Journal of Alloys and Compounds, 652, 39-47.
- [7] Pulipaka, S., Boni, N., Ummethala, G., Meduri, P. 2020. CuO/CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> heterojunction photocathode: High stability and current densities for solar water splitting. Journal of Catalysis, 387, 17-27.
- [8] Dumitru, R., Negrea, S., Păcurariu, C., Surdu, A., Ianculescu, A., Pop, A., Manea, F. 2021. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Synthesis, Characterization and Application in Sensitive Amperometric/Voltammetric Detection of Amoxicillin in Aqueous Solutions. Nanomaterials, 11(3), 740.
- [9] Wu, C. H., Onno, E., Lin, C. L. 2017. CuO nanoparticles decorated nano-dendrite-structured CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> for highly sensitive and selective electrochemical detection of glucose. Electrochimica Acta, 229, 129-140.
- [10] Nakabayashi, Y., Nishikawa, M., Nosaka, Y. 2014. Fabrication of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> photocathode through novel anodic electrodeposition for solar hydrogen production. Electrochimica Acta, 125, 191-198.
- [11] Xie, Y., Zhang, Y., Yang, G., Liu, C., Wang, J. 2013. Hydrothermal synthesis of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanosheets and their photocatalytic behavior under visible light irradiation. Materials Letters, 107, 291-294.
- [12] Abdulkarem, A. M., Li, J., Aref, A. A., Ren, L., Elssfah, E. M., Wang, H., Ge, Y., Yu, Y. 2011. CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> single crystal nanorods prepared by hydrothermal method: Growth mechanism and optical properties. Materials Research Bulletin, 46(9), 1443-1450.
- [13] Duployer, B., Tenailleau, C., Thimont, Y., Lenormand, P., Barnabé, A., Presmanes, L. 2020. Preparation and study of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> thin films by RF magnetron sputtering. Materials Research Bulletin, 130, 110940.
- [14] Zhang, Y., Wang, L., Xu, X. 2021. A bias-free CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-CuWO<sub>4</sub> tandem cell for solar-driven water splitting. Inorg. Chem. Front., 2021, 3863-3870.
- [15] Wang, F., Chemseddine, A., Abdi, F. F., Krol, R. V., Berglund, S. P. 2017. Spray pyrolysis of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> photocathodes: improved solution chemistry for

- highly homogeneous thin films. *J. Mater. Chem.*, 5, 12838-12847.
- [16] Zhang, Y. C., Yang, H., Wang, W. P., Zhang, H. M., Li, R. S., Wang, X. X., Yu, R.C. 2016. A promising supercapacitor electrode material of CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> hierarchical microspheres synthesized via a coprecipitation route. *Journal of Alloys and Compounds*, 684, 707-713.
- [17] Jiwen, Z., Yanyan, J., Wenyan, G., Hongshun, H. 2015. Synthesis and visible photocatalytic activity of new photocatalyst MBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M = Cu, Zn). *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 26(3), 1866-1873.
- [18] Muthukrishnaraj, A., Vadivel, S., Joni, I. M., Balasubramanian, N. 2015. Development of reduced graphene oxide/CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> hybrid for enhanced photocatalytic behavior under visible light irradiation. *Ceramics International*, 41(5), 6164-6168.
- [19] Hahn, N. T., Holmberg, V. C., Korgel, B. A., Mullins, C. B. 2012. Electrochemical Synthesis and Characterization of p-CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Thin Film Photocathodes. *J. Phys. Chem. C*, 116(10), 6459-6466.
- [20] Elbasuney, S., El-Sayyad, G. S., Tantawy, H., Hashem, A. H. 2021. Promising antimicrobial and antibiofilm activities of reduced graphene oxide-metal oxide (RGO-NiO, RGO-AgO, and RGO-ZnO) nanocomposites. *RSC Adv.*, 11, 25961-25975.
- [21] Warsi, M. F., Bashir, B., Zulfiqar, S., Aadil, M., Khalid, M. U., Agboola, P.O., Shakir, I., Yousuf, M. A., Shahid, M. 2021. Mn<sub>1-x</sub>Cu<sub>x</sub>O<sub>2</sub>/ reduced graphene oxide nanocomposites: Synthesis, characterization, and evaluation of visible light mediated catalytic studies. *Ceramics International*, 47(4), 5044-5053.
- [22] Shah, A. K., Sahu, T. K., Banik, A., Gogoi, D., Peela, N. R., Qureshi, M. 2019. Reduced graphene oxide modified CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> as an efficient and noble metal free photocathode for superior photo electrochemical hydrogen production. *Sustainable Energy Fuels*, 3, 1554-1561.
- [23] Doğan, H. Ö. 2019. Ethanol electro-oxidation in alkaline media on Pd/electrodeposited reduced graphene oxide nanocomposite modified nickel foam electrode. *Solid State Sciences*, 98, 106029.
- [24] Therese, G. H. A., Kamath, P. V. 2000. Electrochemical Synthesis of Metal Oxides and Hydroxides. *Chem. Mater.*, 12, 1195-1204.
- [25] Kang, D., Hill, J. C., Park, Y., Choi, K. 2016. Photoelectrochemical Properties and Photostabilities of High Surface Area CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> and Ag-Doped CuBi<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Photocathodes. *Chem. Mater.*, 28(12), 4331-4340.
- [26] Doğan, H. Ö., Ekinci, D., Demir, Ü. 2013. Atomic scale imaging and spectroscopic characterization of electrochemically reduced graphene oxide. *Surface science*, 611, 54-59.
- [27] Doğan, H. Ö., 2014. Grafit Oksitin Elektrokimyasal İndirgenmesi ile Grafen ve Metal-Grafen kompozit Sentezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 233s, Erzurum.
- [28] Öznülüer, T., Demir, Ü., Doğan, H. Ö. 2018. Fabrication of underpotentially deposited Cu monolayer/electrochemically reduced graphene oxide layered nanocomposites for enhanced ethanol electro-oxidation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 235, 56-65.

## Nano-elektrokimyasal Biyosensörler Kullanılarak DNA ile Doksorubisin Etkileşiminin Araştırılması

Yeşim Tuğçe YAMAN\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, 06800, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 06800, Ankara, Türkiye

(Alınış / Received: 20.12.2021, Kabul / Accepted: 16.03.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

Biyosensör,  
Voltametri,  
Elektrokimya,  
DNA-ilaç etkileşimi

**Öz:** Bu çalışmada, tek kullanımlık nano-elektrokimyasal biyosensörler kullanılarak çift sarmallı deoksiribonükleik asit (dsDNA) ve doksorubisin (DOX) arasındaki etkileşim diferansiyel puls voltametri yöntemiyle araştırılmıştır. Biyosensör yüzeyi setil trimetilamonyum (sab) ve karbon nanotüp (knt) içeren çözeltiden elektrodepozisyon yöntemiyle poli(sab)-knt sentezi ile hazırlanmıştır. DNA-ilaç etkileşimi araştırmak için indikatör olarak dsDNA elektroaktif bazların voltametrik sinyalleri kullanılmıştır. İlaç-DNA etkileşimi sonrası hem guanin hem de adenin bazlarının oksidasyon pik akımlarının azaldığı gözlenmiştir. DOX için doğrusal çalışma aralığı  $0,39-25 \mu\text{g mL}^{-1}$  arasında ve gözlenebilir sınıırı  $0,26 \mu\text{g mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Ayrıca UV-vis spektroskopisi kullanılarak spektrokimyasal olarak ta ilaç-DNA etkileşimi ortaya konmuştur. Elektrokimyasal ve spektrokimyasal çalışmalar, DOX ve dsDNA arasındaki etkileşim mekanizmasının interkalasyon modu ile gerçekleştiğini göstermiştir.

## Investigation of Doxorubisin Interactions with DNA by Using Nano-electrochemical Biosensors

### Keywords

Biosensor,  
Voltammetry,  
Electrochemistry,  
DNA-drug interaction

**Abstract:** In this study, the interaction between double-stranded deoxyribonucleic acid (dsDNA) and doxorubicin (DOX) was investigated using nano-electrochemical biosensors by differential pulse voltammetry. The biosensor surface was prepared from a solution containing cetyl trimethylammonium (cab) and carbon nanotubes (cnt) with the synthesis of poly(sab)-knt by electrodeposition method. Voltammetric signals of dsDNA electroactive bases were used as indicators to investigate DNA-drug interactions. It was observed that the oxidation peak currents of both guanine and adenine bases decreased after drug-DNA interaction. The linear range for DOX was found to be between  $0.39-25 \mu\text{g mL}^{-1}$  and limit of detection was found as  $0.26 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Besides, the drug-DNA interaction was demonstrated spectrochemically by UV-vis spectroscopy. Electrochemical and spectrochemical studies have shown that the interaction mechanism between DOX and dsDNA occurs with the intercalation mode.

### 1. Giriş

Nanoteknoloji ve biyosensör teknolojisinde DNA, kararlı, düşük maliyetli ve kolayca uyarlanabilir olduğundan yeni cihazların yapımı için mükemmel bir yapı taşı görevi görmektedir. DNA'nın elektroaktif bileşiklerle etkileşimi, farmasötik, çevresel izleme ve ilaç tespiti açısından önemlidir. Farmasötik ajanların etki tarzlarını ve bağlanmadaki reaksiyonların yapısal özgünlüğünü anlamak için DNA ile etkileşimlerine dayalı olarak incelenmelidir [1, 2]. İlaçların rasyonel tasarımında, DNA ve küçük moleküller arasındaki

etkileşim yoluyla yapısal bir kılavuz elde edilebilir. Bu da daha yüksek seçici aktiviteye, klinik etkinliğe ve daha düşük toksisiteye sahip yeni ilaçların gelişmiş sentezine katkıda bulunur. İlaçların DNA ile bağlanma etkileşimlerini araştırmak için UV-spektrofotometre [3], floresans spektroskopisi [4], dairesel dikroizm [5], rezonans raman spektroskopisi [6], Fourier dönüşümü kızılötesi infrared spektroskopisi [7] ve tek moleküllü kuvvet spektroskopisi [8] gibi farklı teknikler literatürde yerini almıştır. Elektrokimyasal teknikler ise, bu ölçümlere yönelik yüksek hassasiyet, düşük maliyet, basitlik, kolay kullanım, hızlilik,



mikrofabrikasyon teknolojisine uyumluluk ve hasta başı tespiti gibi önemli avantajlar sunar [9]. Burada, en çok uygulanan yaklaşım, tanıma için bir elektrokimyasal dönüştürücü üzerinde immobilize hale getirilecek bir nükleik asit elemanından oluşan elektrokimyasal DNA biyosensörlerini kullanmaktır. Bu element, spesifik bir DNA dizisini seçici olarak tespit etmeye veya ilaç molekülleriyle etkileşimi sırasında DNA yapısındaki değişiklikleri izlemeye yardımcı olur. DNA biyosensörleri duyarlılık, seçicilik, basitlik, hızlılık ve düşük maliyet gibi önemli özellikleri nedeniyle yoğun bir biçimde çalışılmaktadır [10].

Tek kullanımlık grafit elektrotlar diğer karbon temelli elektrotlara göre düşük maliyeti, yüzey parlatma gibi zaman alıcı işlemlere gerek duymayan, kullanım kolaylığı ve yüksek algılama hassasiyeti gibi avantajlara sahip olan bir elektrokimyasal elektrottur. Grafit elektrotlar çeşitli voltametrik tekniklerle çok çeşitli analitlerin belirlenmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır [11]. Çünkü tek kullanımlık şekilde geliştirilen bu elektrotların elektrokimyasal modifikasyonu diğer modifikasyon işlemlerine göre daha basit ve az zaman alan strateji olarak görünmektedir. Elektrokimyasal DNA biyosensörlerinde sinyal güçlendirilmesi için nanomalzemelerin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Çalışma elektrotlarının nanomalzemelerle modifiye edilmesi elektroaktif yüzey alanını artırır ve bunun sonucunda kimyasal analiti karakterize etmek için artan bağlanma bölgesi sayısına bağlı olarak analitin tutunması (birikim) ve hassasiyet artırılabilir. Nano-karbon malzemeler, yüksek hassasiyette ve seçici DNA biyosensörlerinin geliştirilmesi için sıklıkla kullanılmıştır. Bu bağlamda, elektrokimyasal tespit için mükemmel kimyasal, mekanik, iletkenlik, geometrik ve yüzey özelliklerine sahip nanomalzemeler olarak karbon nanotüplerin (knt'ler) kullanılmasına önem verilmiştir [12, 13]. Ayrıca, yüzey aktif maddelerin kullanımı elektrokimyasal süreci olumlu yönde etkileyip elektrokimyasal cevabın artmasına neden olur. Katyonik yüzey aktif madde olan setil trimetilamonyum bromür (sab), bazı biyomoleküllerin elektroanalizi için uygulanmıştır [14, 15]. Elektrolit çözeltisindeki sab'ın varlığı, analitlerin elektrokimyasal cevabını büyük ölçüde artırır ve asidik ortamda elektrodepozit edilmiş sab iletken matris olarak görev yapabilir.

Doksorubisin (DOX); meme ve mesane kanseri, kaposi sarkoması, lenfoma ve akut lenfositik lösemi kemoterapisinde uygulanan sitostatik ilaçlar ailesine aittir [16, 17]. DOX, makromoleküler biosentezin birleştirilmesi ve inhibisyonu yoluyla DNA ile etkileşime girebilir. Sonuç olarak, DOX kullanıldıktan sonra, topoizomeras II enziminin fonksiyonu inhibe edilir, DNA çözülür ve kopyalanır [18]. Ayrıca, molekülün düzlemsel aromatik kromofor kısmı iki baz DNA çifti arasında birleşir. 1974 yılında tıbbi başvuru için onaylanmış olması nedeniyle DOX tek başına ve

çeşitli karışımlarda uygulanan en sık kullanılan preparatlardan biri olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, klinik aktivitesi akut kardiyotoksisite ile sınırlıdır. DOX'un neoplastik hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri nedeniyle vücutta uzun süreli gastrointestinal yaralar, karaciğer yetmezliği, böbrek yetmezliği, hipoalbuminemi ve pansitopeni nedeniyle kullanımı sınırlıdır [19]. Diğer ciddi yan etkiler anafilaksi, kalp hasarı, doku hasarı gibi alerjik reaksiyonlardır. Bu ilacın farmakolojik etkisi DNA'nın çift sarmalı ile etkileşime atfedilmiştir ve kanser hücrelerindeki antrasiklin kısmı DNA'nın replikasyonunu ve transkripsiyonunu inhibe eder [18]. Bu nedenle, hastaların biyolojik sıvılarında analiz için hassas bir tekniğin geliştirilmesiyle DOX dozajının kontrol edilmesi klinik ve farmasötik uygulamalarda terapötik etkinliğin ve yan etkilerin değerlendirilmesi açısından oldukça önemli bir konudur. Son zamanlarda DNA'nın bir biyosensör yüzeyine immobilize edilmesi ile DOX tutuklayıcı olarak kullanılabilmesi gösterilmiştir [12, 13, 20]. Ancak yapılan literatür taraması sonucunda poli(sab)-knt modifiye grafit elektrotlar ile elektrokimyasal DNA-DOX etkileşiminin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Önerilen çalışma kapsamında poli(sab)-knt modifiye tek kullanımlık grafit temelli DNA-nanobiyosensörü ile DOX arasındaki etkileşim ilk kez araştırılmıştır. Böylece bu çalışma ileride yeni antikanser ilaçların tasarımı, hastalık teşhisi, bakım-noktası-uygulamaları ve rutin klinik uygulamalar için sekans seçici DNA hibridizasyonu gibi genosensörler gibi ileri çalışmalar için temel oluşturmuştur.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Reaktifler ve cihazlar

Çift sarmal Deoksiribo nükleik asit (dsDNA) ve sülfürik asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) satın alınmıştır. dsDNA stok çözeltisi ultra saf su içinde hazırlanmıştır. Destek elektrolit olarak 50 mM asetat tamponu (ABS), pH 4,8 çözeltisi 20 mM sodyum klorür (NaCl) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Çözelti homojen hale gelinceye kadar 4 °C'de 12 sa bekletilmiştir. 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde 0,045 M olacak şekilde sab çözeltisi hazırlanmıştır. Knt'ler ise, 0,5 mg mL<sup>-1</sup> derişiminde sab çözeltisi içinde dağıtılmış ve 30 dk boyunca ultrasonik olarak karıştırılmıştır.

Elektrokimyasal ölçümlerin tümü Autolab PGSTAT302N model potansiyostat/galvanostat cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Çalışma elektrodu olarak kalem grafit (PGE), referans elektrot olarak doymuş kalomel (SCE) ve karşıt elektrot olarak ise platin tel kullanılmıştır. Geliştirilen sensör yüzeyinin morfolojik olarak araştırılmasında taramalı elektron mikroskobu (SEM, Tescan-Czech Republic) kullanılmıştır. Modifiye elektrot yüzeylerinin kimyasal karakterizasyonu için

Azaltılmış toplam yansıma Fourier dönüşümlü kızılötesi Spektrometresi (FTIR-ATR, Thermo Fisher Scientific-USA) kullanılmıştır. Ayrıca ilaç-DNA etkileşimlerinin spektrofotometrik incelemesinde ise, Shimadzu 2600 model UV-vis absorpsiyon spektrofotometresinden faydalanılmıştır.

## 2.2. Nanobiyosensörlerin hazırlanması

Öncelikle elektrot yüzeyi elektrodepozisyon yöntemiyle poli(sab)-knt kullanılarak modifiye edilmiştir. Bu amaçla dönüşümlü voltametri yöntemiyle 10 döngü olacak şekilde  $100 \text{ mVs}^{-1}$  tarama hızında ve  $-0,8 \text{ V}$  ile  $+1,2 \text{ V}$  (SCE'ye karşı) potansiyel aralığında taramalar gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan elektrotlar poli(sab)-knt olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra bu elektrotlar  $150 \mu\text{g mL}^{-1}$  derişiminde ve pH 4,8 AB çözelti ortamında hazırlanan dsDNA çözeltilerine 30 dk daldırılmıştır. Pasif adsorpsiyon yöntemi ile dsDNA molekülleri elektrot yüzeyine immobilize edilmiştir. Elektrot yüzeyinden gevşek şekilde bağlanmış dsDNA'yı uzaklaştırmak için 5 sn boyunca pH 4,8 AB çözeltisi ile yıkanmıştır. Her deneysel ölçüm için yeni bir nanobiyosensör hazırlanmıştır.

## 2.3. DNA-DOX etkileşiminin araştırılması ve DOX tayini

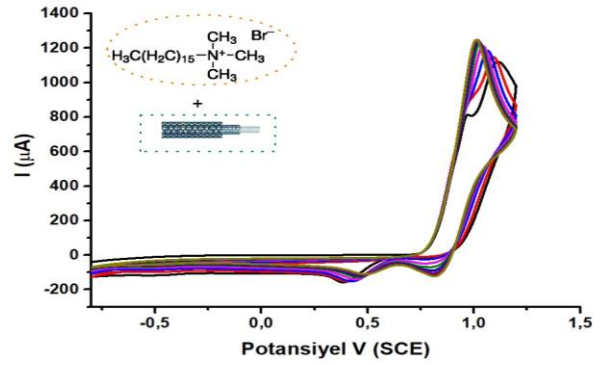
DOX'un dsDNA/poli(sab)-knt grafit ile biyo-etkileşiminde elektrotlar 30 dk süreyle  $10 \text{ mM}$  Tris-EDTA tampon çözeltisi (TBS), pH 8,0 içinde farklı derişimlerde hazırlanan DOX çözeltilerine daldırılmıştır. Daha sonra tampon ile yıkarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra elektrotlar pH 4,8'de yeni bir AB çözeltisine aktarılmış, ardından aşağıdaki koşullar altında DPV kaydedilmiştir:  $50 \text{ mV}$  darbe genliği,  $2 \text{ mV}$  adım potansiyeli,  $0,07 \text{ s}$  modülasyon süresi,  $0,4 \text{ s}$  aralık süresi.

## 3. Bulgular

### 3.1. Elektrokimyasal DNA-nanobiyosensörlerin hazırlanması ve karakterizasyonu

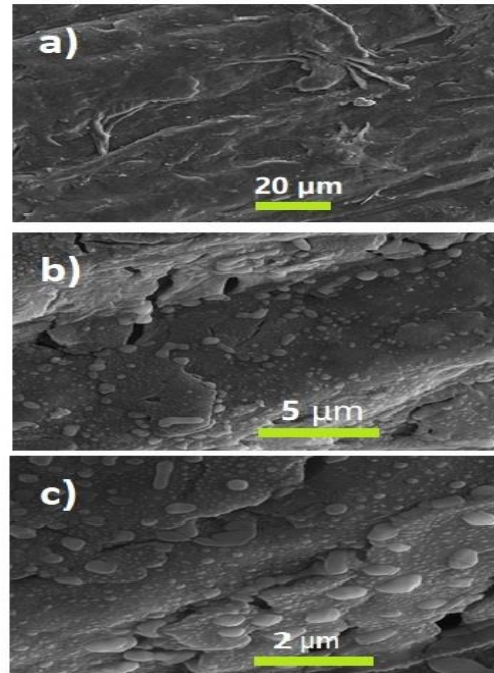
Etkileşim mekanizması, hedeflenen ilaçla etkileşimden önce ve sonra DNA elektrokimyasal sinyallerini gözlemleyerek kanıtlanabilir. En çok uygulanan yaklaşım, tanıma için bir elektrokimyasal dönüştürücü üzerinde immobilize edilecek bir nükleik asit elementinden oluşan elektrokimyasal DNA biyosensörlerini kullanmaktır [21]. Bu amaçla nanokompozit modifiye grafit yüzeyler dsDNA çözeltisine daldırılarak pasif adsorpsiyon yöntemiyle immobilize edildi. DOX ile etkileşimi sırasında DNA yapısındaki değişiklikleri izlemek amacıyla dsDNA immobilize yüzeyler hazırlandı. Öncelikle daha hassas ve seçici DNA biyosensörlerinin geliştirilmesi amacıyla grafit yüzeyi nanotüp (knt) içeren polimerik yapıyla (poli(sab)) modifiye edildi. Tek aşamalı elektrodepozisyon işlemi, potansiyel  $-0,8 \text{ V}$  ile  $+1,2 \text{ V}$

(SCE'ye karşı) arasında taranarak 10 döngü sonunda elde edildi (Şekil 1). Şekil 1'de gösterilen voltamogramlardan ilk döngüde sab'a ait yaklaşık  $+0,9 \text{ V}$ 'de (SCE'ye karşı) iyi tanımlanmış bir yükseltgenme piki ve ters yöndeki döngüde ise yaklaşık  $+0,5 \text{ V}$ 'de (SCE'ye karşı) bir indirgeme piki gözlemlendi. Önceki çalışmalara göre elektrodepozisyon sırasında ortaya çıkan bu pikler poli(sab) oluşumunun bir göstergesi oldu [22-25]. Böylece polimerik kompozit yapı elektrot yüzeyinde başarıyla sentezlendi.



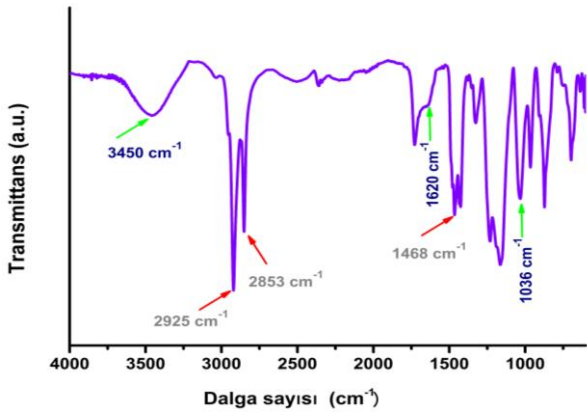
Şekil 1. Poli(sab)-knt'nin eş zamanlı elektrodepozisyonuna ait 10 döngü dönüşümlü voltamogramları. ( $E_i$ ):  $-0,8 \text{ V}$ , ( $E_f$ ):  $1,2 \text{ V}$  (vs. SCE). Tarama hızı (SR):  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Elde edilen yüzeyin özellikleri farklı karakterizasyon çalışmaları ile ortaya çıkarıldı. Grafit yüzeyler üzerine poli(sab-knt) birikimi sonucu elektrot yüzeyindeki değişimin mikroskobik olarak incelenmesi amacıyla taramalı elektron mikroskobu kullanıldı ve ilgili sonuçlar Şekil 2'de verildi. Elektrodepozisyon sonrasında grafit tabakaların üstünü örtecek şekilde poroz bir yapıda film oluşumu gözlemlendi ve yüzey alanının arttığı da anlaşıldı.



Şekil 2. Farklı büyütme ölçeklerinde kaydedilen poli(sab)-knt modifiye grafit yüzeylere ait elektron mikroskobu görüntüleri a)  $20 \mu\text{m}$ , b)  $5 \mu\text{m}$  ve c)  $2 \mu\text{m}$ .

Nanokompozit yapının Şekil 3'te verilen IR spektrumu incelendiğinde, sab'tan poli(sab) elde edilebildiğinin göstergesi olarak  $2925\text{ cm}^{-1}$  ve  $2853\text{ cm}^{-1}$ 'de sab zincirindeki karakteristik pikler gözlemlendi. Bu iki bant, sırasıyla  $\text{CH}_3\text{-CH}_2$  asimetrik ve simetrik gerilmeden kaynaklanmaktadır.  $1468\text{ cm}^{-1}$ 'deki keskin bant ise  $\text{CH}_3\text{-CH}_2$  bükülmesini gösterdi. Benzer spektrum elektrokimyasal olarak depozit edilmiş poli(sab)/grafen oksit kompozit film için de bildirilmiştir [25]. Ayrıca FTIR spektrumunda yer alan  $3450$  ve  $1620\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler sırasıyla knt-COOH'nin yapısındaki karboksil gruplarındaki O-H gerilmesini ve C=O titreşimindeki gerilmeyi gösterdi. Ek olarak,  $1036\text{ cm}^{-1}$ 'deki tepe noktası, C-O germe titreşimine atfedildi. Bu piklerin varlığı, knt'lerin yüzeyinde COOH gruplarının yer aldığını gösterdi ve G.D. Vukovic ve grubu tarafından da yayınlanan sonuçlarla uyumludur [26].



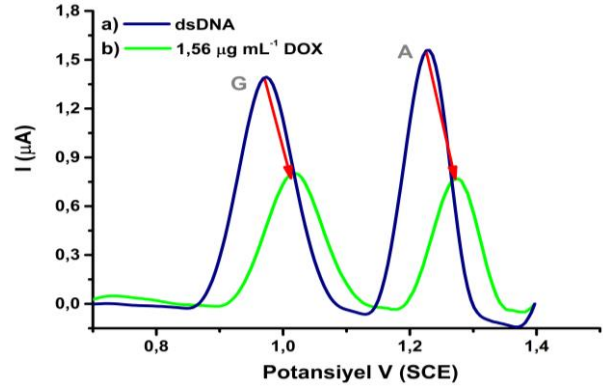
Şekil 3. poli(sab-knt) modifiye grafit yüzeye ait ATR-FTIR spektrumu.

Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucunda grafit yüzeylerin nanokompozit yapıyla modifikasyonunun başarıyla gerçekleştirildiği belirlendi. Daha sonra, bu yüzeye dsDNA immobilizasyonu pasif adsorpsiyon yöntemiyle gerçekleştirildi. Böylece dsDNA temelli nanobiyosensörler hazırlandı.

### 3.2. DNA-nanobiyosensörlerle DOX etkileşiminin araştırılması

Grafit yüzeye dsDNA immobilizasyonunun kanıtı için geliştirilen sensör yüzeylerin voltametrik davranışı incelendi. Şekil 4.a'da gösterildiği gibi öncelikle, AB pH 4,8 destek elektrolit içerisinde ds-DNA immobilize edilmiş grafit elektrodun diferansiyel puls voltametri (DPV) ile elektrokimyasal davranışı incelendi. Şekil 4.a'da dsDNA immobilizasyonundan sonra DNA yapısında bulunan guanin (G) ve adenin (A) nükleobazlarına ait sırasıyla yaklaşık  $+0,95\text{ V}$  ve  $+1,20\text{ V}$  (SCE'ye karşı) potansiyellerinde iki adet yükseltgenme sinyali elde edildi ve bu sonuç literatürde yayınlanan çalışmalarla uyum içerisinde [27-28]. DNA bazlarına ait gözlenen iki yükseltgenme pikinin varlığı grafit yüzeyine DNA'nın başarılı bir şekilde immobilize edilebildiğini kanıtladı. Şekil 4.b'de, 30 dk DOX etkileşiminden sonra ise G ve

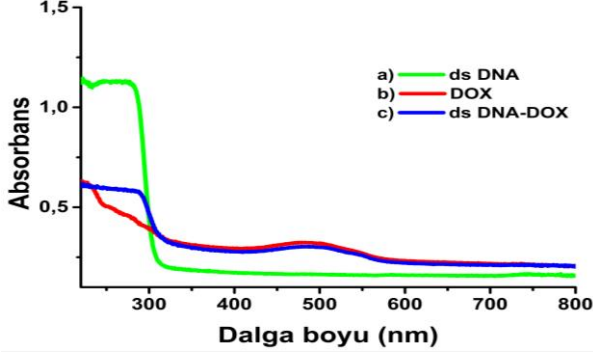
A'ya ait pik akımlarının azaldığı gözlemlendi. Ek olarak, G ve A'nın pik potansiyellerinin, etkileşim sonrası daha pozitif potansiyellere kaydığı belirlendi. G bazının pik potansiyelindeki kayma, DOX'un aromatik halka yapısının DNA sarmalına eklenmesiyle (interkalasyon) açıklanabilir. Klinik kullanımdaki birçok etkili antikanser ilacı DNA ile etkileşime girer ve bazıları bunu interkalasyon yoluyla yapar [29]. Bağlanma işlemi, genel istifleme düzenini bozmadan, bir DNA molekülünün bitişik baz çiftleri arasında yerleştirilen düzlemsel bir aromatik veya heteroaromatik sistemin kabiliyetini yansıtmaktadır.



Şekil 4. a) dsDNA/poli(sab-knt) modifiye grafit ve b)  $1,56\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$  DOX etkileşiminden sonra dsDNA/poli(sab-knt) grafit için AB (pH 4,8) içinde kaydedilen diferansiyel puls voltamogramları.

ilaç ve DNA arasındaki etkileşimin doğasını doğrulamak için etkileşim öncesi ve sonrasında UV-vis absorpsiyon spektrumları da araştırıldı. Şekil 5.a'da gözlenen serbest dsDNA'nın absorpsiyon spektrumu, pürin ve pirimidin bazlarının varlığı nedeniyle  $260\text{ nm}$ 'de karakteristik bir absorpsiyon piki sergilediği gözlemlendi. Fakat  $300\text{-}800\text{ nm}$  arasında herhangi bir pik gözlemlenmedi. DOX spektrumunda ise, moleküler yapısındaki kromoforların  $\pi\text{-}\pi^*$  uyarılma geçişlerinden kaynaklanan ve DOX'a karakteristik olan görünür bölgede  $483\text{ nm}$ 'de geniş bir absorpsiyon piki gözlemlendi (Şekil 5.b). DOX'un DNA ile etkileşiminden sonraki absorpsiyon spektrumuna bakıldığında ise (Şekil 5.c),  $483\text{ nm}$ 'de bulunan maksimum DOX absorpsiyonunda hipokromik etki olduğu gözlemlendi. Bu sonuç ilaç molekülleri ve DNA bazları arasında  $\pi\text{-}\pi$  istifleme etkileşimleri olduğunu gösterdi [30]. İnterkalasyon, bitişik baz çiftleri arasındaki ayrılmada bir artışı ve çift sarmalın kısmen çözülmesini içerir. Bu da büküm açısında değişikliklere ve şeker-fosfat omurgasında bozulmalara neden olur. İyi bilinmektedir ki, DOX moleküllerinin biyolojik aktivitesi DNA bağlama özellikleri ile ilişkilidir ve antitümör aktivitesinin esas olarak DNA'nın baz çiftlerindeki interkalasyondan kaynaklandığı literatürde bildirilmiştir. Buradan elde edilen sonuca göre DNA-DOX etkileşiminin bir çeşit interkalasyon modu olduğu belirlendi [31]. Bu nedenle DOX-DNA spektrumunda her iki yapıya ait karakteristik pikler gözlemlendi ancak yoğunluklarının daha düşük olduğu belirlendi. Bu

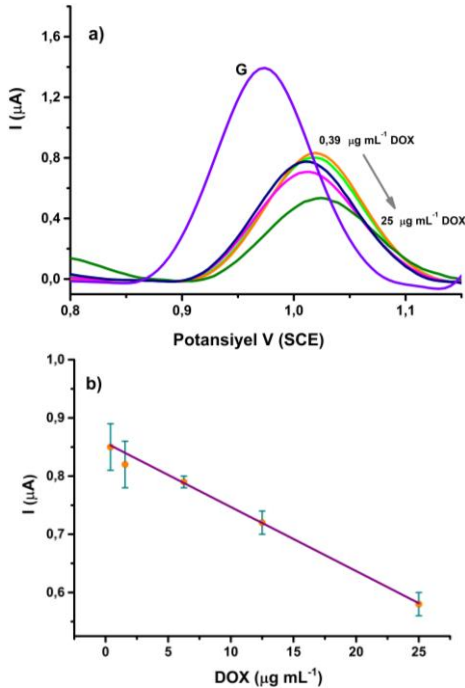
sonuç DOX'un  $\pi$  serbest orbitali ile DNA'daki bazların  $\pi$  orbitalinin birleşmesi, enerji seviyesinin düşmesine ve  $\pi$ - $\pi$  geçişlerindeki enerji azalmasına neden olmasından ileri gelmektedir [32-34]. Elde edilen bulgular hem elektrokimyasal hem de spektrokimyasal olarak DOX-DNA etkileşiminin interkalasyon moduyla gerçekleştiğini gösterildi.



Şekil 5. a) dsDNA, b) DOX ve c) DOX-dsDNA çözeltisinin UV-vis spektrumları.

### 3.3. DOX'un elektrokimyasal tayini

DOX'un elektrokimyasal tayini için geliştirilen nanobiosensörün elektrokimyasal performansı değerlendirildi. Şekil 6'dan görüldüğü gibi, DOX derişiminin G sinyalleri üzerindeki etkisi, dsDNA/poli(sab)-knt grafit üzerinde 30 dk bağlanma süresinde 0,39–25,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  DOX aralığında incelendi. Şekil 6.a'da kaydedilen voltamogramlar, DOX'un derişiminin 0,39'dan 25,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'ye artmasıyla guanin oksidasyon pik akımlarının doğrusal olarak azaldığını gösterdi.



Şekil 6. a) 0,39  $\mu\text{g mL}^{-1}$  - 25,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  aralığında değişen DOX konsantrasyonları ile etkileşimden sonra G'ye ait diferansiyel puls voltamogramları ve b) doğrusal kalibrasyon eğrisi (n = 3).

Elde edilen doğrusal kalibrasyonun üst sınırı 25,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak tespit edildi. Bu sonuç 25,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'den yüksek DOX konsantrasyonları için, dsDNA çift sarmalındaki tüm aktif bölgelerin hâlihazırda DOX ile doldurulmuş olduğu anlamına gelmektedir. Buradan elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiği Şekil 6.b'de gösterildi. Buradan elde edilen kalibrasyon grafiğinin denklemi;

Akım ( $\mu\text{A}$ )= -0,0651 C DOX ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) + 1,459  $R^2 = 0,9995$  olarak elde edildi. Elde edilen doğrusal kalibrasyon grafiğinin eğiminden yararlanılarak düşük DOX seviyelerini tespit edebilen gözlenebilirme sınırı (LOD) değeri 0,26  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak hesaplandı.

Ayrıca geliştirilen nanobiosensörün tekrar-üretilebilirlik sonuçlarının değerlendirilmesi için aynı yollarla hazırlanan 5 elektrodun ölçüm sonuçları kıyaslandı. 5 elektrot için kaydedilen G oksidasyon sinyallerinin bağıl standart sapma (RSD, %) değeri % 2,1 olarak hesaplandı. Bu değer, sunulan sensör sisteminin yüksek oranda tekrarlanabilir sonuçlara sahip olduğunu gösterdi.

### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, grafit yüzeyinin artan yüzey alanı ve DNA ile iyi etkileşmesi nedeniyle poli(sab)-knt üretiminde elektrodepozisyon modifikasyon stratejisi yürütüldü. Bu amaçla sab-knt çözeltisinden *in situ* elektrodepozisyon yöntemiyle nanokompozit yapısı başarıyla sentezlendi. Grafit yüzeyde sentezlenen nanoyapının elektrokimyasal, mikroskobik ve kimyasal karakterizasyonları gerçekleştirildi. Karakterizasyon çalışmalarının sonucunda nanokompozit yapının elektrot yüzeyinde başarılı bir şekilde oluşturulduğu belirlendi. Daha sonra ise, poli(sab)-knt modifiye grafit elektrotlar, antrasiklinler grubundan olan DOX'un dsDNA ile etkileşiminin araştırılması için tasarlandı. Grafit yüzeyler hazırlanan dsDNA çözeltileriyle fiziksel adsorpsiyon yöntemi esasına dayanılarak etkileştirildi ve DNA'nın sahip olduğu bazlardan olan Adenin (A) ve Guanin (G) bazlarına ait voltametrik pikler başarıyla kaydedildi. dsDNA bazlarının pik akım sinyallerindeki değişim temel alınarak dsDNA-DOX etkileşimi nitel ve nicel olarak DPV ile araştırıldı. DOX için doğrusal çalışma aralığı 0,39-25,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  derişim aralığında ve LOD değeri ise 0,26  $\mu\text{g mL}^{-1}$  olarak bulundu. Önerilen nanobiosensörün tek kullanımlık olması, daha az dsDNA tüketimi sağlaması, kolay hazırlanması ve iyi hassasiyet göstermesi açısından öne çıkan özelliklere sahiptir.

### Teşekkür

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (FBA-2019-18385) desteklenmiştir. Yazar ayrıca, faydalı yorumları için Prof. Dr. Serdar Abacı ve Dr. Gülçin Bolat'a teşekkür eder.

## Etik Beyanı

*Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.*

## Kaynakça

- [1] Erdem, A., Ozsoz, M. 2001. Interaction of the anticancer drug epirubicin with DNA, *Analytica Chimica Acta*, 437(1), 107–114.
- [2] Yola, M. L., Özaltın, N. 2011. Electrochemical studies on the interaction of an antibacterial drug nitrofurantoin with DNA, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 653(1-2), 56–60.
- [3] Marky, L. A., Snyder, J. G., Remeta, D. P., Breslauer, K. J. 1983. Thermodynamics of Drug-DNA Interactions, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1(2), 487–507.
- [4] Bi, S., Qiao, C., Song, D., Tian, Y., Gao, D., Sun, Y., Zhang, H. 2006. Study of interactions of flavonoids with DNA using acridine orange as a fluorescence probe, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 119(1), 199–208.
- [5] Garbett, N. C., Ragazzon, P. A., Chaires, J. O. B. 2007. Circular dichroism to determine binding mode and affinity of ligand-dna interactions, *Nature Protocols*, 2, 3166–3172.
- [6] Manfait, M., Alix, A. J. P., Jeannesson, P., Jardillier, J. -C., Theophanides, T. 1982. Interaction of adriamycin with DNA as studied by resonance Raman spectroscopy, *Nucleic Acids Research*, 10(12), 3803–3816.
- [7] Agudelo, D., Bourassa, P., Bérubé, G., Tajmir-Riahi, H. A. 2016. Review on the binding of anticancer drug doxorubicin with DNA and tRNA: Structural models and antitumor activity, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 158, 274–279.
- [8] Ros, R., Eckel, R., Bartels, F., Sischka, A., Baumgarth, B., Wilking, S. D., Pühler, A., Sewald, N., Becker, A., Anselmetti D. 2004. Single molecule force spectroscopy on ligand-DNA complexes: From molecular binding mechanisms to biosensor applications, *Journal of Biotechnology*, 112(1-2), 5–12.
- [9] Erdem, A., Ozsoz, M. 2002. Electrochemical DNA Biosensors Based on DNA-Drug Interactions, *Electroanalysis*, 14(14), 965–974.
- [10] Congur, G., Eksin, E., Erdem, A. 2019. Chitosan modified graphite electrodes developed for electrochemical monitoring of interaction between daunorubicin and DNA, *Sensing and Bio-Sensing Research*, 22, 100255.
- [11] Yaman, Y. T., Abacı, S. 2016. Sensitive Adsorptive Voltammetric Method for Determination of Bisphenol A by Gold Nanoparticle/Polyvinylpyrrolidone-Modified Pencil Graphite Electrode, *Sensors*, 16, 756.
- [12] Hajian, R., Tayebi, Z., Shams, N. 2017. Fabrication of an electrochemical sensor for determination of doxorubicin in human plasma and its interaction with DNA, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(1), 27–33.
- [13] Hassani, Moghadam, F., Taher, M. A., Karimi-Maleh, H. 2021. Doxorubicin anticancer drug monitoring by ds-dna-based electrochemical biosensor in clinical samples, *Micromachines*. 12(7), 808.
- [14] Kakaei, K., Hasanpour, K., 2014. Synthesis of graphene oxide nanosheets by electrochemical exfoliation of graphite in cetyltrimethylammonium bromide and its application for oxygen reduction, *Journal of Materials Chemistry A*, 2, 15428 -15436.
- [15] Toh, H. S., Compton, R. G. 2015. Electrochemical detection of single micelles through "nano-impacts," *Chemical Science*, 6, 5053–5058.
- [16] Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., Gianni, L. 2004. Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity, *Pharmacological Review* 56(2), 185–229.
- [17] Carvalho, C., Santos, R., Cardoso, S., Correia, S., Oliveira, P., Santos, M., Moreira, P. 2009. Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect, *Current Medical Chemistry*, 16(25), 3267–3285.
- [18] Deepa, S., Swamy, B. E. K., Pai, K. V. 2020. A surfactant SDS modified carbon paste electrode as an enhanced and effective electrochemical sensor for the determination of doxorubicin and dacarbazine its applications: A voltammetric study, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 879, 114748.
- [19] Ghanbari, M. H., Norouzi, Z. 2020. A new nanostructure consisting of nitrogen-doped carbon nanooxions for an electrochemical sensor to the determination of doxorubicin, *Microchemical Journal*, 157, 105098.
- [20] Porfireva, A., Vorobev, V., Babkina, S., Evtugyn, G. 2019. Electrochemical Sensor Based on Poly(Azure B)-DNA Composite for Doxorubicin Determination, *Sensors*. 19(9), 2085.
- [21] Erdem, A., Congur, G. 2013. Impedimetric detection of in situ interaction between anticancer drug bleomycin and DNA, *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 295–301.
- [22] Yang, Y. J., Guo, L., W. Zhang, W. 2016. The electropolymerization of CTAB on glassy carbon

- electrode for simultaneous determination of dopamine, uric acid, tryptophan and theophylline, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 768, 102–109.
- [23] Bolat, G., Yaman, Y. T., Abaci, S. 2018. Highly sensitive electrochemical assay for Bisphenol A detection based on poly (CTAB)/MWCNTs modified pencil graphite electrodes, *Sensors and Actuators B:Chemical*, 255(1), 140–148.
- [24] Hasanzadeh, M., Mohammadzadeh, A., Jafari, M., Habibi B. 2018. Ultrasensitive immunoassay of glycoprotein 125 (CA 125) in untreated human plasma samples using poly (CTAB-chitosan) doped with silver nanoparticles, *International Journal of Biological Macromolecules*, 120(B), 2048–2064.
- [25] Abraham, P., Renjini, S., Nancy, T. E. M., Kumary, V. A. 2020. Electrochemical synthesis of thin-layered graphene oxide-poly(CTAB) composite for detection of morphine, *Journal of Applied Electrochemistry*, 50, 41–50.
- [26] Tehrani, M. S., Azar, P. A., Namin, P. E., Dehaghi, S. M. 2013. Removal of Lead Ions from Wastewater Using Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes with Tris(2-Aminoethyl)Amine, *Journal of Environmental Protection*, 4(6) 529–536.
- [27] Hasanzadeh, M., Shadjou, N. 2016. Pharmacogenomic study using bio- and nanobioelectrochemistry: Drug-DNA interaction, *Materials Science and Engineering: C*, 61, 1002–1017.
- [28] Wang, J. 2002. Electrochemical nucleic acid biosensors, *Anal. Chim. Acta.* 469(1) 63–71.
- [29] Neidle, S. 1997. Crystallographic insights into DNA minor groove recognition by drugs, *Biopolymers*, 44(1) 105–121.
- [30] Chen, Z., Qian, S., Chen, X., Chen, J., Zhang, G., Zeng, G. 2012. Investigation on the interaction between anthracyclines and DNA in the presence of paclitaxel by resonance light scattering technique, *Microchimica Acta*, 177, 67–73.
- [31] Cai, C., Chen, X., Ge, F. 2010. Analysis of interaction between tamoxifen and ctDNA in vitro by multi-spectroscopic methods, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 76(2), 202–206.
- [32] Liao, L. B., Zhou, H. Y., Xiao, X. M. 2005. Spectroscopic and viscosity study of doxorubicin interaction with DNA, *Journal of Molecular Structure*, 749(1-3), 108–113.
- [33] Airoidi, M., Barone, G., Gennaro, G., Giuliani, A. M., Giustini, M. 2014. Interaction of doxorubicin with polynucleotides. a spectroscopic study, *Biochemistry*. 53(13), 2197–2207.
- [34] Hajian, R., Shams, N., Mohagheghian, M. 2009. Study on the interaction between doxorubicin and deoxyribonucleic acid with the use of methylene blue as a probe, *Journal of Brazilian Chemical Society*, 20(8) 1399–1405.

## The Effects of Differences such as Variety, Region and Plant Density on the Relationship between Grain Quality Criteria in Faba Bean

Gulay ZULKADİR<sup>1</sup>, Leyla İDİKUT<sup>2</sup>, Yunus Emre ÇAPAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mersin University, Applied Technology and Management School of Silifke, Organic Farming Management Department, 33940, Mersin, Türkiye

<sup>2</sup>Kahramanmaraş Sutcu Imam University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, 46040, Kahramanmaraş, Türkiye

(Alınış / Received: 22.12.2021, Kabul / Accepted: 27.02.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Keywords

Correlation analysis,  
Principal component  
analysis,  
Protein,  
Quality criteria,  
Starch

**Abstract:** In this study, two varieties of faba beans were grown in two different locations at three different plant densities and their grain quality criteria were examined. As a result, the ash, oil, moisture, protein, starch and hundred grain weight (HGW) values of the faba beans varied between 3.44-3.76%, 1.16-1.70%, 10.63-11.58%, 25.71-31.15%, 37.86-44.75% and 97.53-157.50 g respectively. In correlation analysis, the highest interaction between moisture and oil; between protein and ash, oil and moisture; and between HGW and oil, moisture. In addition, it was determined that the significance level of the interaction among properties varies in terms of factors. PCA results, it was noted that each location formed separate groups. In general, all the features in Sanli-Urfa location were high and positive. In terms of varieties, the data of all properties except HGW were statistically the same, while the HGW value was high in Salkim variety. The distance row spacings significantly affected the starch and HGW properties, the highest values in terms of starch and HGW were obtained between the 60 cm and 50 cm row spacings respectively. According to these results, it was understood that the varieties and plant densities used significantly affected the quality criteria according to the locations.

## Baklada Çeşit, Bölge ve Bitki Yoğunluğu gibi Farklılıkların Tane Kalite Kriterleri Arasındaki İlişkiye Etkileri

### Anahtar Kelimeler

Korelasyon analizi,  
Temel bileşenler analizi,  
Protein,  
Kalite kriterleri,  
Nişasta

**Öz:** Bu çalışmada, iki çeşit bakla iki farklı lokasyonda üç farklı bitki yoğunluğunda yetiştirilmiş ve tane kalite kriterleri incelenmiştir. Sonuç olarak baklagillerin kül, yağ, nem, protein, nişasta ve yüz tane ağırlığı (HGW) değerleri sırasıyla %3.44-3.76, %1.16-1.70, %10.63-11.58, %25.71-31.15, %37.86-44.75 ve 97.53-157.50 g arasında değişmiştir. Korelasyon analizinde, nem ile yağ; protein ile kül, yağ ve nem; yüz tane ağırlığı ile yağ ve nem arasında önemli etkileşim gözlenmiştir. Ayrıca, özellikler arası etkileşimin anlamlılık düzeyinin faktörlere göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. PCA sonuçlarında, her lokasyonun ayrı gruplar oluşturduğu kaydedilmiştir. Genel olarak Şanlı-Urfa lokasyonunda tüm özellikler yüksek ve olumlu bulunmuştur. Çeşitler açısından yüz tane ağırlığı dışındaki tüm özelliklerin verileri istatistiksel olarak aynı iken, yüz tane ağırlığı değeri Salkım çeşidinde yüksektir. Sıra arası mesafeler nişasta ve HGW özelliklerini önemli ölçüde etkilemiş, nişasta ve HGW açısından en yüksek değerler sırasıyla 60 cm ve 50 cm sıra aralıkları arasında elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, kullanılan çeşitlerin ve bitki yoğunluklarının lokasyonlara göre kalite kriterlerini önemli ölçüde etkilediği anlaşılmıştır.

### 1. Introduction

Faba bean is used as a source of protein in human nutrition, as a forage and fodder crop for animals [1].

It plays an important role in the renewal of soil fertility as a suitable rotation product by fixing the free nitrogen in the atmosphere; thus, it saves money by causing less fertilizer use for small scale farmers [2].

Therefore, it is a very valuable legume crop due to its benefits such as improving soil health, reducing diseases, reducing insect pests and weed formation, contributing to the sustainability and diversification of crop systems [3]. It is also included in crop rotation for green manure production or with cereal crops [4].

It is generally accepted that faba bean seed has a long history of use in human food or animal feed due to its high quality nutritional value [3]. Faba beans have been confirmed to be rich in protein and other nutrient contents [5]. However, the starch, protein and fiber contents of faba bean seeds have been exhibited a large genetic variability depending on genotypes. [6]. Plant based proteins have created an alternative to animal derived proteins as a sustainable protein source [7]. In recent years, the trend of consumer has turned to increasing consumption of plant based proteins [8]. Faba beans contain many nutritional compounds such as carbohydrates (starch, sugars, dietary fibers), proteins and amino acids, polyphenols (flavonoids, tannins), alkaloids, terpenoids, jasmonates, organic acids, nucleosides / nucleotides [9]. On the other hand, faba beans are low in terms of sodium and fat, free of cholesterol [10].

Differences in protein concentration may be a result of variety, climate, and cultural processes [7]. Increasing global temperatures and more irregular climate conditions seriously affect legumes [11]. *Vicia faba* is resistant to lower temperatures than other grain legumes [12]. Therefore, grain legumes are grown especially in conditions of seasonal weather fluctuations such as rainfall and temperature [13]. It is also a source of cash to farmers and foreign currency to the country and serves as a "break" to pests and restores soil fertility when grown in rotation with cereals and other crops [14]. As a long day plant, faba bean grows better in cool climates [3], flowering and seed filling periods, in watery conditions [15]. However, when the faba bean is exposed to biotic and abiotic stresses (soil acidity and others), the average yield decreases [16]. For this reason, in faba bean cultivation, the area grown, the variety used, the climatic conditions, the plant density and cultural processes are very important to obtain high quality and high yield.

In this study, faba bean, which is an important plant in many aspects, was investigated in terms of varieties, locations and plant densities. Thus, the effects of these factors on grain quality were tried to be determined.

## 2. Material and Method

The study was conducted both Kahramanmaras (K) and Sanliurfa (U) locations in 2017. In the study, 2 cultivars [Salkim (S) and Fontes (F)] supplied from a commercial company. The experiment was analyzed according to the divided plots pattern in random blocks repeated in different places and in factorial order with 4 replications. Sowing in Kahramanmaras conditions on January 24, 2017, harvest on June 6, 2017; In Sanliurfa, the sowing was done on 25 January 2017 and the harvest was on 26 May 2017. Row spacing were determined as 40 cm (1), 50 cm (2) and 60 cm (3) and also intra-row distance was determined 10 cm. And the plots were constituted as 4 rows.

Soil samples belonging to the trial sites were taken from 0-30 cm depth to represent the whole area and analyzed according to Kara et al. [17] (Table 1). According to Table 1, the soil of the trial area in Kahramanmaras was composed that it is very low in organic matter, high in potassium and phosphorus content. The texture of soil was sandy-clay loam, pH was light alkaline near neutral. Other hands, the soil of the trial area in Sanliurfa was composed with medium in organic matter, very high in potassium and low in phosphorus content. The texture of soil was Clayey-loam, pH was light alkaline near neutral.

Some climate data in experiment areas were given in Table 2. The Kahramanmaras region has characteristic temperature and humidity of the mediterranean climate. But the Sanliurfa region has characteristic of the terrestrial climate. Temperature and humidity values of vegetation period were lower to the Sanliurfa region, and temperature values were higher to Kahramanmaras. However, the rainfall was erratic and inadequate compared with the long years average.

All traits investigated on grains collected from per plot. Ash, oil, moisture protein and starch in grain and hundred grain weight were measured, means and standard deviations values were calculated. The values obtained were subjected to variance analysis according to the randomized complete block design using the SAS package program, and differences between means were tested at 1% significance level according to Duncan multiple comparison method. Also, these values were first subjected to correlation analysis Using a Pearson correlation model implemented in the SPSS package program. A Principal

**Table 1.** Properties of soil in the study area

Location	Structure		pH		Organic matter %		Phosphorus (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) kg/da		Potassium (K <sub>2</sub> O) kg/da	
	Values	Comment	Values	Comment	Values	Comment	Values	Comment	Values	Comment
Kahramanmaras	32.1	Sandy-clay loam	7.60	Light Alkali	0.73	Very low	11.4	High	50.40	High
Sanliurfa	56.1	Clayey-loam	7.78	Light Alkali	2.50	Medium	3.73	Low	119.72	Very high



**Table 2.** Some climate values of belonging to the Kahramanmaraş and Şanlıurfa provinces covering the research season

	Rainfall (mm)				Average Temperature (°C)				Relative Humidity (%)			
	Kahramanmaraş		Şanlıurfa		Kahramanmaraş		Şanlıurfa		Kahramanmaraş		Şanlıurfa	
	2017	Long years average	2017	Long years average	2017	Long years average	2017	Long years average	2017	Long years average	2017	Long years average
January	126.7	129.3	9.0	85.7	3.8	4.9	5.4	5.7	65.9	70.2	61.9	70.3
February	3.7	112.8	1.8	71.4	7.4	6.6	7.7	7.0	44.0	66.4	60.1	66.9
March	74.5	97.5	55.2	64.1	12.2	10.8	12.7	11.0	55.4	60.4	57.1	60.4
April	67.8	73.4	79.2	46.8	15.8	15.5	16.6	16.2	49.0	58.0	50.2	56.2
May	105	40.6	7.2	28.1	19.6	20.3	22.9	22.3	55.0	54.5	39.0	44.9
June	3.1	6.8	0.0	3.6	26.4	25.2	29.7	28.2	42.9	49.1	27.0	32.8
Total	380.8	460.4	152.4	299.7	85.2	83.3	95.0	90.4	312.2	358.6	295.3	331.5
Mean	55.2	76.7	25.4	49.95	14.2	13.9	15.8	15.1	52.0	59.8	49.2	55.25

References: [18; 19]

Component Analysis (PCA) on the investigated traits was carried out considering the overall mean values of both region using the PCORD 6 program.

### 3. Results

The two faba bean varieties were grown as three different row spacing in two different locations. As a results of the study, the grain quality characteristics of beans were measured. According to this, the means and standard deviation values of examined features were shown Table 3, and differences between means of examined features according to Duncan test and distribution to groups were shown Table 4.

The ash values were changes between 3.44 to 3.76%. The highest ash was determined in UF1 and the lowest one was observed KF3. However, the difference between locations was statically significant, other

hand, difference between varieties and row spaces were not significant ( $p>0.05$ ). The oil values were change between 1.16 (KF3) to 1.70 % (UF3). Oil had a significant variation among locations. But, differences the terms of varieties and row space were not significant.

The values obtained in terms of moisture content varied between 10.63 to 11.58%. The lowest of these values was obtained from KF2 with 10.63, while the highest value was obtained from UF2 with 11.58. The moisture contents were found to significantly differ between locations ( $p<0.01$ ). On the other hand, the values obtained in terms of protein content varied between 25.71 to 31.15% and were found to significantly differ between locations ( $p<0.01$ ). The lowest of these values was obtained from KS2 with 25.71, while the highest value was obtained from UF1 with 31.15.

**Table 3.** The means and standard deviation values of examined features

Location	Variety	RS	Ash	Oil	Moisture	Protein	Starch	HGW
K	S	1	3.67 ±0.20	1.18 ±0.09	10.94 ±0.39	28.15 ±2.61	<b>37.86</b> ±3.62	118.27 ±12.34
K	S	2	3.57 ±0.23	1.22 ±0.08	10.86 ±0.18	<b>25.71</b> ±1.78	40.31 ±4.56	134.42 ±15.41
K	S	3	3.52 ±0.04	1.29 ±0.05	10.81 ±0.21	26.52 ±0.47	43.37 ±0.47	122.52 ±18.14
K	F	1	3.48 ±0.09	1.18 ±0.08	10.78 ±0.20	28.18 ±0.86	42.08 ±1.01	102.96 ±4.74
K	F	2	3.55 ±0.11	1.23 ±0.13	<b>10.63</b> ±0.33	27.99 ±1.09	42.36 ±0.73	109.78 ±4.06
K	F	3	<b>3.44</b> ±0.03	<b>1.16</b> ±0.03	10.96 ±0.09	27.81 ±0.62	43.90 ±0.60	<b>97.53</b> ±13.46
U	S	1	3.68 ±0.09	1.63 ±0.07	11.40 ±0.18	30.12 ±1.40	43.74 ±1.57	142.50 ±11.90
U	S	2	3.73 ±0.12	1.62 ±0.21	11.47 ±0.18	29.94 ±0.73	44.22 ±1.61	<b>157.50</b> ±18.20
U	S	3	3.70 ±0.12	1.59 ±0.16	11.49 ±0.10	30.53 ±0.81	44.45 ±1.39	142.50 ±15.00
U	F	1	<b>3.76</b> ±0.22	1.59 ±0.12	11.56 ±0.29	<b>31.15</b> ±0.37	43.08 ±2.85	121.25 ±14.93
U	F	2	3.74 ±0.13	1.59 ±0.25	<b>11.58</b> ±0.23	30.52 ±1.36	43.51 ±2.22	128.75 ±8.54
U	F	3	3.69 ±0.08	<b>1.70</b> ±0.11	11.50 ±0.24	29.98 ±0.97	<b>44.75</b> ±1.37	126.25 ±11.09

K: Kahramanmaraş; U: Şanlıurfa; S: Salkim; F: Fontes; RS: Row space; HGW: Hundred grain weight

**Table 4.** Differences between means of examined features according to Duncan test and distribution to groups

	Ash	Oil	Moisture	Protein	Starch	HGW
Location	14.67**	248.88**	99.23**	87.41**	7.81*	66.17**
Kahramanmaraş	3.54 b	1.21 b	10.83 b	27.39 b	41.65 b	114.25 b
Şanlıurfa	3.72 a	1.62 a	11.50 a	30.37 a	43.96 a	136.46 a
Variety	0.55	0.34	0.02	5.91	1.35	64.13**
Salkim	3.65	1.42	11.16	28.49	42.32	136.29 a
Fontes	3.61	1.41	11.17	29.27	43.28	114.42 b
Row Spacing	1.24	0.31	0.24	2.98	8.41**	3.86*
40 cm	3.65	1.39	11.17	29.40	41.69 b	121.25 b
50 cm	3.65	1.41	11.13	28.54	42.60 b	132.61 a
60 cm	3.59	1.43	11.19	28.71	44.12 a	122.20 b

The starch values of grain were changes between 37.86-44.75 %. The highest starch was determined in UF3 and the lowest one was observed KS1. However, the difference between locations were statically significant ( $p < 0.05$ ) and the difference between row spaces were statically significant ( $p < 0.01$ ). The other hand, difference between varieties were not significant ( $p > 0.05$ ). The HGW values were change between 97.53 (KF3) to 157.50 g (US2). HGW had a significant variation among locations and varieties ( $p < 0.01$ ). But, differences the terms of row space were significant ( $p < 0.05$ ).

### 3.1. Correlation analysis

The correlation coefficients between the quality traits for all factors and general means are reported in Table 5. Protein values showed a high correlation ( $r = 0.79^{**}$ )

with moisture values in terms of 60 cm row spacing. Also, oil values had a positive significant correlation with ash values of Fontes variety ( $r = 0.55^{**}$ ), 60 cm row space ( $r = 0.61^*$ ) and means of all factors ( $r = 0.35^*$ ) but oil values had negative significant correlation with ash values of Sanliurfa location ( $r = -0.62^{**}$ ). Moisture values had a positive significant correlation with ash values of Fontes variety ( $r = 0.53^{**}$ ), 60 cm row space ( $r = 0.78^{**}$ ) and means of all factors ( $r = 0.37^{**}$ ) but oil values had negative significant correlation with ash values in Kahramanmaras location ( $r = -0.57^{**}$ ). Moisture value had a positive significant correlation with oil values in terms of Salkim variety ( $r = 0.58^{**}$ ), Fontes ( $r = 0.55^{**}$ ), 20 cm row space ( $r = 0.59^*$ ), 60 cm row space ( $r = 0.67^{**}$ ) and means of all factors ( $r = 0.56^{**}$ ) but moisture values had negative significant correlation with oil values in terms of Kahramanmaras ( $r = -0.59^{**}$ ) and Sanliurfa location ( $r = -0.60^{**}$ ).

**Table 5.** Correlation coefficients among the quality traits of faba bean on mean data each factor and means of all factors.

Characters	Factors	Ash	Oil	Moisture	Protein	Starch
Oil	Kahramanmaras	0.14				
	Sanliurfa	-0.62**				
	Salkim	0.10				
	Fontes	0.55**				
	20 cm	0.37				
	40 cm	0.20				
	60 cm	0.61*				
	Means of all factors	0.35*				
Moisture	Kahramanmaras	-0.57**	-0.59**			
	Sanliurfa	0.34	-0.60**			
	Salkim	0.17	0.58**			
	Fontes	0.53**	0.55**			
	20 cm	0.13	0.59*			
	40 cm	0.40	0.47			
	60 cm	0.78**	0.67**			
	Means of all factors	0.37**	0.56**			
Protein	Kahramanmaras	0.45*	-0.16	-0.38		
	Sanliurfa	0.14	0.15	0.08		
	Salkim	0.68**	0.64**	0.49*		
	Fontes	0.63**	0.76**	0.69**		
	20 cm	0.51*	0.69**	0.39		
	40 cm	0.68**	0.62*	0.54*		
	60 cm	0.69**	0.73**	0.79**		
	Means of all factors	0.61**	0.65**	0.55**		
Starch	Kahramanmaras	-0.85**	0.08	0.03	-0.46*	
	Sanliurfa	-0.85**	0.38	-0.19	-0.23	
	Salkim	-0.44*	0.62**	0.62**	0.05	
	Fontes	-0.32	0.34	0.28	0.07	
	20 cm	-0.43	0.49	0.59*	0.13	
	40 cm	-0.40	0.49	0.43	0.09	
	60 cm	-0.02	0.61*	0.30	0.44	
	Means of all factors	-0.38**	0.46**	0.44**	0.09	
HGW	Kahramanmaras	0.22	0.06	0.17	-0.43*	-0.28
	Sanliurfa	-0.07	0.19	-0.23	-0.15	0.03
	Salkim	0.18	0.51*	0.51*	0.32	0.32
	Fontes	0.60**	0.74**	0.61**	0.61**	0.12
	20 cm	0.18	0.63**	0.55*	0.08	0.30
	40 cm	0.38	0.45	0.38	0.37	-0.01
	60 cm	0.56*	0.59*	0.58*	0.38	0.21
	Means of all factors	0.36*	0.53**	0.45**	0.24	0.12

\* Significant at  $p < 0.05$ ; \*\* Significant at  $p < 0.01$ .

The grain protein values had a positive significant correlation with ash values in terms of Kahramanmaras location ( $r= 0.45^*$ ), Salkim ( $r= 0.68^{**}$ ), Fontes varieties ( $r= 0.63^{**}$ ), 20 cm row space ( $r= 0.51^*$ ) 40 cm row space ( $r= 0.68^{**}$ ), 60 cm row space ( $r= 0.69^{**}$ ) and means of all factors ( $r= 0.61^{**}$ ). Protein values had a positive significant correlation with oil values in terms of Salkim ( $r= 0.64^{**}$ ), Fontes varieties ( $r= 0.76^{**}$ ), 20 cm row space ( $r= 0.69^{**}$ ), 40 cm row space ( $r= 0.62^*$ ), 60 cm row space ( $r= 0.73^{**}$ ) and means of all factors ( $r= 0.65^{**}$ ). Protein values had a positive significant correlation with moisture values in terms of Salkim ( $r= 0.49^*$ ), Fontes varieties ( $r= 0.69^{**}$ ), 40 cm row space ( $r= 0.54^*$ ), 60 cm row space ( $r= 0.79^{**}$ ) and means of all factors ( $r= 0.55^{**}$ ).

The grain starch values showed a lowest correlation ( $r= -0.85^{**}$ ) with ash values in terms of Kahramanmaras and Sanliurfa locations. Also, starch values had a positive significant correlation with oil values in terms of Salkim ( $r=0.62^{**}$ ) and means of all factors ( $r= 0.46^{**}$ ); with moisture values in terms of Salkim variety ( $r= 0.62^{**}$ ) and means of all factors ( $r= 0.44^{**}$ ). But starch values had negative significant correlation with ash values in terms of Salkim variety ( $r= -0.44^*$ ) and means of all factors ( $r= -0.38^{**}$ ); with protein values in terms of Kahramanmaras location ( $r= -0.46^*$ ).

The HGW had a positive significant correlation with ash values in terms of Fontes ( $r= 0.45^*$ ), Salkim varieties ( $r= 0.68^{**}$ ), Fontes variety ( $r= 0.63^{**}$ ), 20 cm row space ( $r= 0.51^*$ ) 40 cm row space ( $r= 0.60^{**}$ ), 60 cm row space ( $r= 0.56^*$ ) and means of all factors ( $r= 0.36^*$ ); with oil values of Salkim ( $r= 0.51^*$ ), Fontes

varieties ( $r= 0.74^{**}$ ), 20 cm row space ( $r= 0.63^{**}$ ), 60 cm row space ( $r= 0.59^*$ ) and means of all factors ( $r= 0.53^{**}$ ). HGW had a positive significant correlation with moisture values of Salkim ( $r= 0.51^*$ ), Fontes varieties ( $r= 0.61^{**}$ ), 20 cm row space ( $r= 0.55^*$ ), 60 cm row space ( $r= 0.58^*$ ) and means of all factors ( $r= 0.45^{**}$ ); with protein values of Fontes variety ( $r= 0.61^{**}$ ). But HGW had negative significant correlation with protein values in terms of Kahramanmaras location ( $r= -0.43^*$ ).

### 3.2. Principal component analysis

The first three principal components (PCs) computed for the quality traits explained about 97% of the total variation among the traits evaluated (Figure 1 and Table 6). Oil and moisture were the important variables, and contributed largely to the first principal component (PC1; -0.979 and -0.963, respectively), explaining 71 % of the total variation.

The values of the investigated characteristics showed significant differences in both Sanliurfa and Kahramanmaras locations. However, it has been determined that the values of Sanliurfa location are higher than those of Kahramanmaras location. When the applications of the study were evaluated in terms of quality characteristics, moisture, oil and protein properties came to the fore in UF1, UF2 and US1 applications in order of importance. The application is protein, oil and moisture, whose importance is US3; Among other applications, it has been noted that starch and protein, respectively, of UF3, and ash, moisture and HGW properties of US2 are dominant.

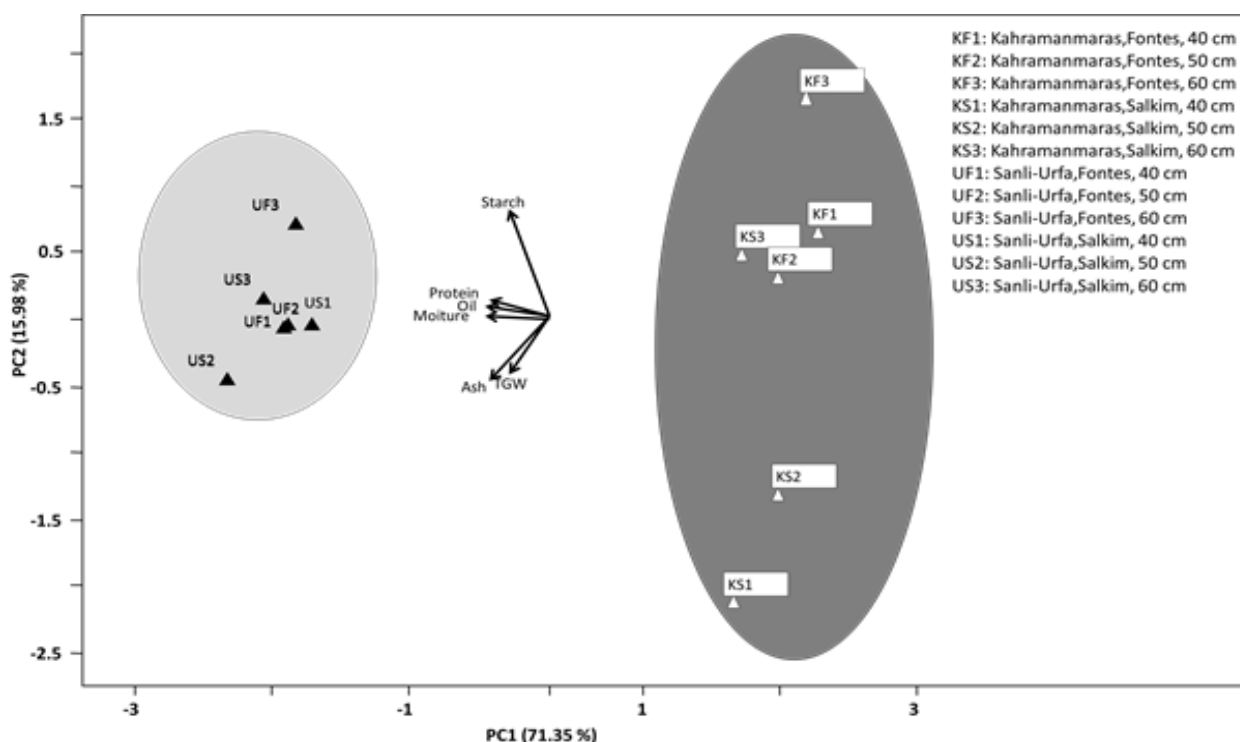


Figure 1. Principal component graph of quality traits based on the all of the factors.

**Table 6.** Principal component analysis factor loadings (PC1, PC2, and PC3) among the quality traits of faba bean based on the mean data of the each factor and means of all factors.

Traits	PC1	PC2	PC3
Ash	-0.875	-0.429	-0.173
Oil	-0.979	0.079	0.075
Moisture	-0.963	0.023	-0.125
Protein	-0.884	0.133	-0.402
Starch	-0.580	0.768	0.262
HGW	-0.715	-0.401	0.562
Standard deviation	4.281	0.959	0.597
Propotion of variance	71.347	15.982	9.955
Cumulative propotion	71.347	87.329	97.284

On the other hand, KF3 application attracted attention in terms of starch, KF1, KF2 and KS3 applications in order of importance in terms of protein, starch and oil properties. Among the remaining applications, KS2 was found to be higher in terms of HGW and ash properties, respectively, while KS1 application had higher ash and HGW properties.

The second component (PC2) accounted for 16% of the total variation and differentiated the accessions by starch and protein (0.768 and 0.133, respectively). The third component (PC3) explained an additional 10% of the total variation and was attributed HGW for positive loadings (0.562) and protein for negative loadings (-0.402).

#### 4. Discussion and Conclusion

In this study, the quality performance of two faba bean varieties were investigated to grown three different row spacing in two different locations. When the results obtained were evaluated, it was seen that different locations caused significant differences in terms of all traits even for the same cultivars. It has been understood that these differences are mainly due to the differences in the soil structure as well as the climate. On the other hand, the reaction of varieties to environmental factors also causes differences.

Regarding the ash and moisture contents of the faba bean grain, Yıldız [20] determined 4.0-6.7% and 12.1-12.6% respectively, while Baloch et al. [21] reported that it varied between 3.7-3.8% and 7.5-9.5%. The fat content has been measured by Baloch et al. [21] 1.7-2.1% and Ksiezak et al. [22] determined it as 1.3-1.8% in faba bean. In this study, in which the differences between variety, location and row were examined, it was observed that the ash, oil and moisture contents obtained were compatible with previous studies. Sarah et al. [23] reported that the content of proteins, carbohydrates, ash, fat, and fibre depends on a cultivar.

Starch concentrations are the dominant and significant component of faba bean and it was determined in the previous studies that the starch concentration varied between 39-42% [24; 25]. Our findings were equal to or even slightly higher than these values. However, some researchers also

obtained values such as 12.6-34.9% [20] and 12.4-40.5% [26] in their studies. These results were found to differ according to the varieties used, the regions where they were grown and different cultural practices. Furthermore, Mekkei [27] stated that regardless of a variety, large faba bean seeds contain more protein and carbohydrates.

Another important component after starch is protein. In previous studies, it was reported that during seed development, faba beans can accumulate up to 25-35% of protein in dry seeds [28; 15]. In some other studies, protein contents 19.9-26.8% [20], 27.5-33.4% [26], 21.6-22.4% [21] and 26.4-29.2% [22] was determined. It has been determined that the protein values of this study were showed different according to cultivar and enviromental.

In this study, it was seen that the HGW value, which is an important reference in determining yield and quality, ranged between 114.3-136.5 g. Other researchers reported the HGW values as 25.3-64.8 g [20], 62.3-97.0 g [29] and 59.9-187.9 g [30]. It has been observed that the values obtained from other studies except Turkeri [30] study are quite low compared to this study. It was recognized that HGW were affected by the variety characters as well as environmental.

According to Hendawey and Younes [31], the differences between faba bean cultivars resulted from both genetic and environmental factors. Musalam et al. [32] studied the chemical composition of pod seeds under soil irrigation conditions. They found that such seeds had higher protein, ash and fiber content but significantly lower fat and carbohydrate content. Pisulewska et al. [33] found a strong correlation between oil content in seeds and weather conditions during the growing season.

It has been determined that the correlation values of the examined quality characteristics of faba bean beans vary depending on the factors. It has been observed that the most and important differences are between moisture and oil, protein and ash, oil and moisture, HGW and oil and moisture. In some studies, they stated that the nutritional value of legume seeds is variable and depends on a number of factors such as

variety, environmental and agrotechnical factors (growing conditions, fertilization) [34-36].

As a result of research, it has been observed that the values of all properties are high in Sanli-Urfa location. The difference of the varieties used only caused a significant difference in the HGW feature and it was determined that the Salkim variety got a higher HGW value than the Fontes. It was noted that row spacing significantly affected starch and HGW properties, the highest starch value was obtained from 60 cm row spacing and the highest HGW value was obtained from 50 cm row spacing.

When the correlation values between features are examined, it was also determined that it varies depending on the factors. The PCA results revealed the importance of location difference by separating the samples into two different groups. The samples within the groups are positioned according to their dominance in terms of quality criteria. It has been observed that all these differences and distributions vary between locations depending on the climate and soil structure, and the effect of higher temperatures in Sanli-Urfa location has positive results in quality parameters. Differences in varieties and plant densities have caused changes in the proportions of quality components in the grain.

The study also revealed that the obtained data can be analyzed with different statistical programs and methods, correlation analysis can not only be done on different genotypes, but also the effects of environmental and cultural processes can be investigated. It was determined that PCA application can not only be performed in genotype x environment interaction, but also can be analyzed by adding factors such as plant density. In fact, it has been clearly observed that making these analyzes as used in our study can evaluate multiple factors on a single platform, and it is concluded that a better evaluation will be made.

### Acknowledgment

Yunus Emre Çabar's master's thesis was used to obtain data on the Kahramanmaraş location of the research, and this thesis was supported by the KSU Scientific Research Projects fund with the number 2017/1-13YLS. This research was partially supported by 'TÜBİTAK 2237 BİDEB Project number: 1129B371901423'. We thank our colleagues from 'TÜBİTAK and Isparta University of Applied Sciences' who provided insight and expertise that greatly assisted the research, although they may not agree with all of the interpretations/conclusions of this paper.

### Declaration of Ethical Code

*In this study, we undertake that all the rules required to be followed within the scope of the "Higher Education*

*Institutions Scientific Research and Publication Ethics Directive" are complied with, and that none of the actions stated under the heading "Actions Against Scientific Research and Publication Ethics" are not carried out.*

### References

- [1] Maalouf, F. 2011. Faba Bean Improvement at ICARDA: Constraints and Challenges. *Grain legumes*, 56, 13-14.
- [2] IFPRI (International Food Policy Research Institute). 2010. Fertilizer and Soil Fertility Potential in Ethiopia. Working Paper. Washington: IFPRI. Institute. UK. 26- 47p.
- [3] Jensen, E. S., Peoples, M., Hauggaard-Nielsen, H. 2010. Faba Bean in Cropping Systems. *Field Crops Research*, 115(3), 203-216.
- [4] McVicar, R., Panchuk, D., Brenzil, C., Hartley, S., Pearce, P., Vandenberg, A. 2013. Faba Bean Gov. Saskatchewan, Agriculture, Crops.
- [5] Fekadu, G., Lire, E., Asfaw, A., Alemayehu, F., Rezene, Y., Ambachew, D. 2012. GGE-Biplot Analysis of Grain Yield of Faba Bean Genotypes in Southern Ethiopia. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 3(3), 898-907.
- [6] Duc, G., Pascal, M., Paolo, A. 2011. Breeding Priorities for Improved Nutritional Value of Vicia faba Seeds. *Grain Legumes*, 56, 17-18.
- [7] Multari, S., Stewart, D., Russell, W. R. 2015. Potential of Faba Bean as Future Protein Supply to Partially Replace Meat Intake in the Human Diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 14(5), 511-522.
- [8] Vasilean, I. I., Aprodu, I., Vasilean, I., Patraşcu, L. 2018. Pulse Flour Based Emulsions - The Effect of Oil Type on Technological and Functional Characteristics. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Chemia.*, 63, 199-214.
- [9] El-Feky, A. M., Elbatanony, M. M., Mounier, M. M. 2018. Anti-cancer Potential of the Lipoidal and Flavonoidal Compounds from *Pisum sativum* and *Vicia faba* Peels. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences.*, 5(4), 258-264.
- [10] Shevkani, K., Singh, N., Chen, Y., Kaur, A., Yu, L. 2019. Pulse Proteins: Secondary Structure, Functionality and Applications. *Journal of Food Science and Technology.*, 56(6), 2787-2798.
- [11] Daryanto, S., Wang, L., Jacinthe, P. A. 2017. Global Synthesis of Drought Effects on Cereal, Legume, Tuber and Root Crops Production: A Review. *Agricultural Water Management* 179, 18-33.
- [12] Maalouf, F., Hu, J., Sullivan, D. M. O., Zong, X., Hamwieh, A., Kumar, S., Baum, M. 2019. Breeding and Genomics Status in Faba Bean (*Vicia faba*). *Plant Breeding.*, 138, 465-473.

- [13] Daryanto, S., Wang, L., Jacinthe, P. A. 2015. Global Synthesis of Drought Effects on Food Legume Production. *PLoS One*, 10(6), e0127401.
- [14] Tadele, M. 2019. Breeding Achievements of Faba Bean (*Vicia faba* L.) and Its Impact In The Livelihood of Ethiopian Farmers. *International Journal of Agriculture and Bioscience*, 8 (5), 263-269.
- [15] Parvin, S., Uddin, S., Tausz-Posch, S., Fitzgerald, G., Armstrong, R., Tausz, M. 2019. Elevated CO<sub>2</sub> Improves Yield and N<sub>2</sub> Fixation But Not Grain N Concentration of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Subjected to Terminal Drought. *Environmental and Experimental Botany*, 165, 161-173.
- [16] Gemechu, K., Asnake, F., Million, E. 2016. Reflections on Highland Pulses Improvement Research in Ethiopia. *Ethiopian Journal of Agricultural Sciences*, 1(16), 17-50.
- [17] Kara, Z., Yururduramaz, C., Cokkizgin, A., Keles, H., Gonen, E. 2021. The Effects of Wheat Straw used as Mulch on Some Chemical Properties of the Soil and Grain Yield in Durum Wheat. *Elixir Agriculture* 154, 55382-55386.
- [18] Anonymous, 2018a. Records of Kahramanmaras Meteorology Directorate. Kahramanmaras.
- [19] Anonymous, 2018b. Sanliurfa Meteorology Directorate Records. Sanliurfa.
- [20] Yildiz, K. 2018. Determination of Using Suitable Genotypes of Faba Bean (*Vicia faba* L.) for the Purpose of Fresh and Dry Grains. Ondokuz Mayıs University, Graduate School of Sciences, Department of Agronomy, Master's Thesis, 110s, Samsun.
- [21] Baloch, K., Rizwan, S., Mahmood, K., Jan, M. H., Hussain, J., Shah, A., Khan, I., Mehmood, Z., Iqbal, S., Azam, M., Sajjad, A. 2017. Biochemical and Trace Elements Composition of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Cultivated in Panjgur and Kech Districts of Balochistan. *Pure and Applied Biology (PAB)*, 6(3), 981-988.
- [22] Ksiezak, J., Bojarszczuk, J., Staniak, M. 2018. Evaluation of the Concentration of Nutrients in the Seeds of Faba Bean (*Vicia faba* L. major) and Pea (*Pisum sativum* L.) Depending on Habitat Conditions. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27(3), 1133-1143.
- [23] Sarah, A., Abusin, E., Hassan, A. B., Babiker, E. E. 2009. Nutritional Evaluation of Cooked Faba Bean (*Vicia faba* L.) and White Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. *Australian Journal of Applied Science*, 3(3), 2484.
- [24] Crépon, K., Marget, P., Peyronnet, C., Carrouée, B., Arese, P., Duc, G. 2010. Nutritional Value of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Seeds for Feed and Food. *Field Crops Research*, 115, 329-339.
- [25] Ivarsson, E., Neil, M. 2018. Variations in Nutritional and Antinutritional Contents Among Faba Bean Cultivars and Effects on Growth Performance of Weaner Pigs. *Livest Science*, 212, 14-21.
- [26] Korsvold, K. K. 2020. Starch and Protein Accumulation During Seed Development of Field Grown Faba Beans (*Vicia faba* L. cv. vertigo) in Norway. Norwegian University of Life Sciences, Faculty of Biosciences, Master's Thesis, 38s, Norway.
- [27] Mekkei, M. E. 2014. Effect of Intra-Row Spacing and Seed Size on Yield and Seed Quality of Faba Bean (*Vicia faba* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 7(10), 665-670.
- [28] Karkanis, A., Ntatsi, G., Lepse, L., Fernández, J. A., Vågen, I. M., Rewald, B., Alsina, I., Kronberga, A., Balliu, A., Olle, M., Bodner, G., Dubova, L., Rosa, E., Savvas, D. 2018. Faba Bean Cultivation – Revealing Novel Managing Practices for More Sustainable and Competitive European Cropping Systems. *Frontiers in Plant Science*, 9(1115), 1-14.
- [29] Akgun, D. 2020. Evaluation and Selection of Some Faba Bean (*Vicia faba* L.) Genotypes for Agricultural and Biochemical Properties. Akdeniz University, Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Field Crops, Master's Thesis, 60s, Antalya.
- [30] Turkeri, M. 2016. Determining Some Morphological and Agronomical Characters of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Landraces Collected from Turkey. Cukurova University, Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Field Crops. PhD Thesis, 120s, Adana.
- [31] Hendawey, M. H., Younes, A. M. A. 2013. Biochemical Evaluation of Some Faba Bean Cultivars Under Rainfed Conditions at El-heikh Zuwayid. *Annals of Agricultural Sciences*, 5892, 183.
- [32] Musalam, I. W., Al-Karaki, G., Ereif, K. I., Tawaha, A. M. 2004. Chemical Composition of Faba Bean Cultivars Under Rained and Irrigation Conditions. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6(2), 359.
- [33] Pisulewska, E., Hanczakowski, P., Szymczyk, B., Ernest, T., Kulig, B. 1996. Comparison of Chemical Composition, Content of Anti-Nutritive Substances and Nutritive Value of Seeds of Nine Faba Bean Varieties (*Vicia faba* L.) Cultivated in Two Growing Seasons. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, 23(2), 253.
- [34] Fordoński, G., Pszczółkowska, A., Krzebietke, S., Olszewski, J., Okorski, A. 2015. Yield and Mineral Composition of Seeds of Leguminous Plants and Grain of Spring Wheat as well as Their Residual Effect on the Yield and Chemical Composition of

Winter Oilseed Rape Seed. Journal of Elementology, 20 (4), 827.

- [35] Woźniak, A., Soroka, M., Stępniewska, A., Makarski, B. 2014. Chemical Composition of Pea (*Pisum sativum* L.) Seeds Depending on Tillage Systems. Journal of Elementology, 19(4), 1143.
- [36] Milczarek, A., Osek, M. 2016. Partial Replacement of Soya Bean with Low-Tannin Faba Bean Varieties (Albus or Amulet): Effects on Growth Traits, Slaughtering Parameters and Meat Quality of Pulawska Pigs. Annals of Animal Science, 16(2), 477.

## Antalya İli Marul Üretim Alanlarında *Mirafiori Marul İri Damar Virüsü (MiLBVV)*'nin Belirlenmesi

Emine ERDAŞ<sup>1</sup>, Handan ÇULAL KILIÇ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 32260, Isparta, Türkiye

(Alınış / Received: 29.12.2021, Kabul / Accepted: 15.03.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

MiLBVV,  
Marul,  
DAS-ELISA,  
RT-PCR

**Öz:** Bu çalışma 2019-2021 yılları arasında Antalya ili marul üretim alanlarında marul iri damar virüsü (*Mirafiori lettuce big vein virus*: MiLBVV)'nin belirlenmesi amacı ile yürütülmüştür. Arazi çalışmalarında 240 marul örneği toplanmış ve bütün örnekler MiLBVV'ye spesifik antiserumlar kullanılarak DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile testlenmiştir. Testlenen bitki örneklerinin 44 adedinin MiLBVV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Testlenen örneklerdeki hastalık oranı ise %18.33 olarak belirlenmiştir. DAS-ELISA testinde pozitif çıkan 44 örnekten, absorbans değeri yüksek olan 29 adet bitki örneği total RNA izolasyonu ve RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) çalışmalarında kullanılmıştır. RT-PCR testlemelerinde, MiLBVV'ye spesifik primer çiftleri kullanılmış ve MiLBVV'nin 469 bp'lik kılıf protein gen bölgesi çoğaltılarak agaroz jelde UV altında görüntülenmiştir. Agaroz jel elektroforezde MiLBVV'ye özgü beklenen seviyede bant gözlemlenmiştir. Vektör fungus olan *Olpidium* spp.'nin oluşturduğu spor yapılarının belirlenmesi için de marul bitkilerinin enfekteli kökleri trypan blue solüsyon çözeltisi ile boyanmış ve vektör fungusun sporları tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Antalya ili marul üretim alanlarında MiLBVV'nin varlığı serolojik ve moleküler olarak ilk defa ortaya konulmuştur.

## Detection of *Mirafiori Lettuce Big Vein Virus* in Lettuce Growing Areas of Antalya Province

### Keywords

MiLBVV,  
Lettuce,  
DAS-ELISA,  
RT-PCR

**Abstract:** This study was conducted for detection of *Mirafiori lettuce big vein virus* (MiLBVV) in the fields where the lettuce production in Antalya province in 2019-2021 years. A total 240 plant samples were collected from fields and all samples were tested for MiLBVV using specific antiserum by double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay (DAS-ELISA). 44 samples were found to be infected with MiLBVV. MiLBVV infection ratio was determined as %18.33 of field samples. 29 samples with a high absorbance value out of 44 samples that tested positive as a result of the DAS-ELISA test were used to studies of total RNA isolation and Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) studies. In RT-PCR studies, specific primer pairs were used for MiLBVV and 469 bp fragments of MiLBVV representing the coat protein region was amplified and observed under the UV light. The size of expected band for MiLBVV was observed on agarose gel electrophoresis. In order to determine the fungal structures of the vector fungus *Olpidium* spp. for lettuce roots were stained with trypan blue solution and examined on the fungal spore structures under a light microscope. In this study, as serological and molecular the presence of MiLBVV was revealed for the first time in lettuce production areas in Antalya province.

### 1. Giriş

Sebzeler, kendilerine has aroma ve tatlarının yanı sıra içerdikleri vitamin ve mineraller bakımından beslenmemizde çok önemli bir yer tutmaktadır [1].

İşlenerek ya da taze olarak tüketilmekte olan sebze türleri arasında önemli bir çeşitlilik gözlemlenmektedir [2]. Bu sebze çeşitleri arasında, anavatanı Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkistan olarak kabul edilmekte olan marul bitkisi *Asteraceae*



familyası içerisinde yer alan ve yaprağı yenen bir bitki grubunda bulunmaktadır [3].

Ülkemizde 2021 yılı verilerine göre göbekli marul üretimi 212 091 ton, kıvırcık marul üretimi 234 048 ton ve aysberg marul üretimi 94 430 ton olmak üzere toplam marul üretimi 540 569 ton olarak tespit edilmiştir [4].

TÜİK verilerine göre; Antalya marul üretiminde Ankara, Adana ve Mersin illerinden sonra 4. sırada yer almaktadır. Türkiye'de toplam marul üretiminin %5'i Antalya'dan sağlanmaktadır. Antalya ilinin sahip olduğu toprak özellikleri ve iklim koşulları sayesinde toplam 14 669 dekar alanda; 14 640 ton kıvırcık, 4 482 ton aysberg ve 16 934 ton göbekli marul tipi üretimi gerçekleştirilmektedir [4]. Ülkemizde göbekli marul tipinin yarıya yakını Akdeniz Bölgesi tarafından karşılanmaktadır [3].

Dünyada marul üretim alanlarında, üretimi sınırlandıran çok sayıda fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmeni bulunmaktadır. Bunların içerisinde virüslerin neden olduğu hastalıklar aktif bir mücadele yönteminin olmaması nedeni ile önemli bir yer tutmaktadır [5].

Marul iri damar hastalığı ilk olarak 1934 yılında California'da tespit edilmiştir [6], daha sonra Kuwata vd.'nin yaptıkları çalışmada marulda oluşturduğu simptomdan dolayı bu virüse marul iri damar virüsü (lettuce big vein virus: LBVV) ismi verilmiştir [7]. 2000'li yıllarda ise iri damar simptomuna neden olan etmenlerin mirafiori marul iri damar virüsü (mirafiori lettuce big vein virus: MiLBVV) ile lettuce big vein virus olduğu ortaya konulmuştur [8].

MiLBVV, 3-10 nm çapında ince iplikli formdadır. Tek iplikçikli RNA genomuna sahiptir. Viral genom negatif duyarlılıkta RNA 1, RNA 2, RNA 3 ve RNA 4 ile yedi açık okuma çerçeve bölgesine sahip moleküllerden oluşmaktadır [9].

MiLBVV, *Olpidium* spp. toprak funguslarının zoosporları ile taşınmaktadır [8]. Bu virüsün bitkideki en tipik belirtisi; yapraklarda ağ görüntüsünün oluşmasıdır. Virüs, hasta bitkinin yapraklarında anormal damar büyümesi, kloroz, mozayik, deformasyon, bitki boyunda kılma, baş büyüklüğünde azalma ve baş oluşumunda gecikme gibi simptomlara neden olmaktadır. Virüsün ürün kalitesinde ve veriminde önemli azalmalara sebep olduğu bildirilmektedir [10].

Bu çalışma, ön surveyler sırasında iri damar simptomlarının gözlenmesi ve üreticilerden gelen şikayetler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Günümüze kadar Antalya ilinde bulunan marul üretim alanlarında MiLBVV'nin varlığına yönelik çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada marul üretim alanlarında MiLBVV'nin varlığı araştırılmıştır. Ayrıca virüse vektörlük yapan *Olpidium* spp'nin marul köklerinde

oluşturduğu spor yapılarının varlığı ortaya konulmuştur. Bu çalışma; bölgede marul üretim alanlarında MiLBVV'nin serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanınması bakımından ilk çalışma niteliğindedir.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Arazi çalışması ve hastalıklı bitki örneklerinin toplanması

Çalışma, 2019-2021 yılları arasında, Antalya ili Serik, Finike, Muratpaşa, Aksu ve Kaş ilçelerinde örtü altı marul üretim alanlarında sonbahar ve kış yetiştirme döneminde yürütülmüştür. Örnek alma işlemi arazide W şeklinde gezilerek gerçekleştirilmiştir [11]. Örnek alma işlemi sırasında; yapraklarda iri damar oluşumu, yapraklarda ağ görüntüsü, kloroz, mozayik, deformasyon, bodurluk ve baş oluşumunda gecikme gibi belirti gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır. Yaprak örnekleri, üreticinin ismi, bitkinin türü, örneğin alındığı yer ve tarihin yazıldığı etiket ile polietilen torbalara konulmuş ve buz kutusunda laboratuvara getirilerek -20°C de muhafaza edilmiştir. Örnek alınan ilçeler ve örnek sayıları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Aynı zamanda örneklerin toplanmış olduğu üretim alanlarından, kökte bulunan ve MiLBVV'nin taşınmasında görev alan, *Olpidium* spp.'nin incelenmesi amacı ile toprak örnekleri alınmıştır.

**Tablo 1.** Örnek alınan Antalya'nın ilçeleri ve toplanan örnek sayıları

İlçeler	Alınan örnek sayısı
Serik	65
Finike	59
Muratpaşa	40
Aksu	40
Kaş	36
<b>Toplam</b>	<b>240</b>

### 2.2. DAS-ELISA testinin uygulanması

Araziden toplanan şüpheli marul yaprak örneklerinin MiLBVV ile enfekteli olup olmadığının belirlenmesi için ilk olarak DAS-ELISA testi uygulanmıştır. ELISA çalışmalarında Loewe (Biochemica GmbH, Almanya) firmasından temin edilen kitler kullanılmış ve firmanın önerileri doğrultusunda çalışmalar yürütülmüştür. Referans olarak kitin içerisinde bulunan pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır.

### 2.3. Total RNA izolasyonu ve RT-PCR çalışmaları

Marul yaprak örnekleri için kullanılan DAS-ELISA testi sonucunda MiLBVV ile enfekteli olduğu belirlenen örneklerden, RT-PCR çalışmalarında kullanılmak üzere total RNA izolasyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Yaprak örneklerinden total RNA izolasyonunda Ribospin TM Total RNA izolasyon kiti kullanılmış ve

izolasyon üretici firmanın belirttiği şekilde yapılmıştır.

RT-PCR çalışmalarında, DAS-ELISA testinde absorbans değeri yüksek, pozitif sonuç veren 29 marul yaprak örneği kullanılmıştır. RT-PCR reaksiyonları tek aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

MiLBVV için, Navarro vd, tarafından yapılan çalışmalarda daha öncede kullanılan kılıf protein gen bölgesine spesifik 469 bp'lik bir kısmı amplifiye eden spesifik primer çifti;

(F) 5'- TATCAGCTCACATACTCCCTATCG -3'; (R) 5' CAACTAGCTCAGAATACATGCAG -3' kullanılmıştır [12].

RT-PCR çalışmalarında tek bir reaksiyon karışımı; 1 µl total RNA, 1 µl forward primer, 1.5 µl reverse primer, 10 µl master mix karışımı ve 6.5 µl ultra saf su ile 20 µl hazırlanmıştır.

RT-PCR çalışması için belirlenmiş olan en uygun sıcaklık, zaman ve döngü sayısı aşağıda verilmiştir.

- 55°C 40 dk
  - 94°C 2 dk
  - 94°C 30 sn
  - 52°C 30 sn
  - 72°C 1 dk
  - 72°C 5 dk
  - +4 °C ∞
- } 35 döngü

RT-PCR sonuçları, büyüklükleri bilinen DNA marker ile (100 bp DNA Ladder) birlikte %1'lik agaroz jel ve TBE tampon solüsyonu kullanılarak 100 V'de 1 saat süre ile elektroforetik ayırma tabi tutulmuş olup virüse özgü spesifik bantların varlığı araştırılmıştır. UV ışığı altında jelin fotoğrafları çekilmiştir.

#### 2.4. MiLBVV'ye vektörlük yapan *Olpidium spp.*'nin bitki köklerinde belirlenmesi

MiLBVV'ye vektörlük yapan *Olpidium spp.*'nin tespiti için, MiLBVV semptomu gösteren bitkilerin kökünden yaklaşık 15-30 cm derinlikten toprak örneği alınmıştır (11). Alınan toprak örneklerine sağlıklı marul tohumları ekilerek Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, iklim odalarında marul bitkisi yetiştirilmiştir. Kontrol bitkisi olarak steril toprak ve kum karışımında yetiştirilmiş olan marul bitkileri kullanılmıştır.

MiLBVV ile bulaşık olduğu düşünülen bitki örneklerinin kökleri, bol su ile yıkanarak topraktan arındırılmış ve saf sudan geçirilmiştir. Temizlenmiş olan marul kökleri, trypan blue boya solüsyonu ile boyanmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir [13].

### 3. Bulgular

#### 3.1. Marul üretim alanlarında yapılan survey çalışmaları

Survey çalışmaları, Antalya iline bağlı ilçelerde 2019-2021 yılları arasında sonbahar ve kış üretim sezonunda gerçekleştirilmiştir. MiLBVV'nin en tipik semptomu olan ağsı damarlanma semptomu dikkat çekmiştir (Şekil 1, Şekil 2).



Şekil 1. Marul yapraklarında iri damar semptomu



Şekil 2. Marul bitkisinde oluşan iri damar oluşumu

#### 3.2. DAS-ELISA testi sonuçları

Antalya ilçelerinden toplanan 240 marul yaprak örneğine uygulanan DAS-ELISA testi sonucunda Kaş ilçesinden 6 ve Finike ilçesinden 38 olmak üzere toplam 44 bitki örneğinin MiLBVV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Serik, Muratpaşa ve Aksu ilçelerinden alınan örneklerde MiLBVV enfeksiyonuna rastlanılmamıştır (Tablo 2).

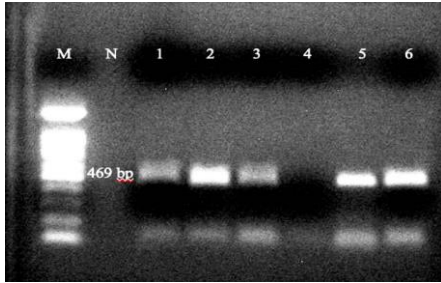
Tablo 2. Antalya ili marul üretim alanlarından toplanan ve MiLBVV ile enfekteli bulunan örnek sayısı

Örnek alınan yerler	Toplanan örnek sayısı	MiLBVV ile enfekteli örnek sayısı
Serik	65	0
Finike	59	38
Muratpaşa	40	0
Aksu	40	0
Kaş	36	6
<b>Toplam</b>	<b>240</b>	<b>44</b>

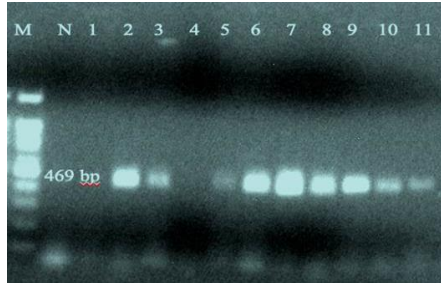
### 3.3. Total RNA izolasyonu ve RT-PCR çalışma sonuçları

Total RNA izolasyonu çalışmalarında; DAS-ELISA testi sonuçlarında pozitif çıkan 44 örnekten absorbans değeri yüksek olan 29 marul yaprak örneği ile kontrol olarak sağlıklı marul bitkisinin yaprakları kullanılmıştır. Elde edilen toplam RNA'lar %1'lik agaroz jelde elektroforez yöntemiyle ayrıştırılmıştır.

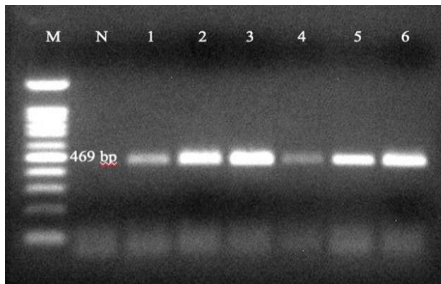
RT-PCR çalışmaları; total RNA izolasyonu sonucu elde edilen RNA'lar ile tek aşamalı olarak yürütülmüştür. RT-PCR çalışmalarında MiLBVV'nin kılıf protein (coat protein: CP) geninin 469 bp'lik bir kısmını amplifiye eden primer kullanılarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon denemelerinde optimum bağlanma sıcaklığı 52°C olarak belirlenmiştir. RT-PCR sonucunda elde edilen PCR ürünleri 100 bp'lik DNA ladder ile birlikte %1'lik agaroz jel elektroforezde ayrıştırılarak analiz yapılmıştır (Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6).



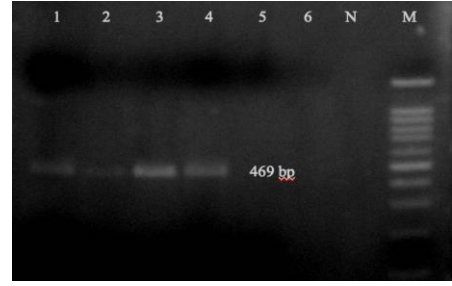
**Şekil 3.** Antalya ili marul örneklerinden MiLBVV Finike izolatlarının RT-PCR sonuçları. M: 100 bp DNA ladder, N: Negatif Kontrol, 1-Finike\_10, 2-Finike\_11, 3-Finike\_12, 4-Finike\_13, 5-Finike\_14, 6-Finike\_15



**Şekil 4.** Antalya ili marul örneklerinden MiLBVV Finike izolatlarının RT-PCR sonuçları. M: 100 bp DNA ladder, N: Negatif Kontrol, 1-Finike 16, 2-Finike 17, 3-Finike 18, 4-Finike 19, 5-Finike 20, 6-Finike 21



**Şekil 5.** Antalya ili marul örneklerinden MiLBVV Kaş izolatlarının RT-PCR sonuçları. M: 100 bp DNA ladder, N: Negatif Kontrol, 1-Kaş 1, 2-Kaş 2, 3-Kaş 3, 4-Kaş 4, 5-Kaş 5, 6-Kaş 6

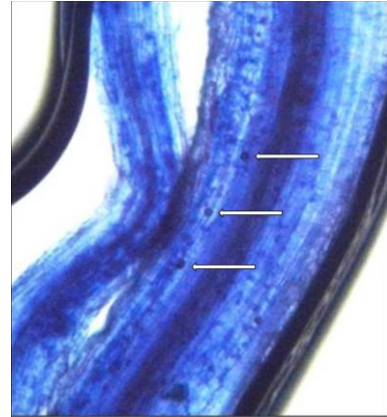


**Şekil 6.** Antalya ili marul örneklerinden MiLBVV Finike izolatlarının RT-PCR sonuçları. M: 100 bp DNA ladder, N: Negatif Kontrol, 1-Finike\_22, 2-Finike\_23, 3-Finike\_24, 4-Finike\_25, 5-Finike\_26, 6-Finike\_27

RT-PCR çalışmaları sonucunda; DAS-ELISA testi sonucunda pozitif reaksiyon veren 29 izolatin, 24 adedinin beklenen seviyede bant verdiği ve MiLBVV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Negatif kontrolde ise herhangi bir bant oluşumu gözlenmemiştir.

### 3.4. *Olpidium* spp.'nin bitki köklerinde incelenmesi

MiLBVV'nin vektörü olan *Olpidium* spp.'nin marul kılcal köklerinde oluşturduğu sporlar Şekil. 7'de gösterilmiştir.



**Şekil 7.** Enfekteli marul bitkisinin köklerinde bulunan *Olpidium* spp.'nin sporları

### 4. Tartışma ve Sonuç

Marul bitkisi içerdiği vitamin ve mineraller sayesinde insanların hayatında önemli bir yer tutmakta olup üretimi her daim sağlanmaktadır. İnsan sağlığına önemli faydaları olmakla beraber üreticilere iç pazarda ekonomik katkı sağlamaktadır.

Antalya ilinde de var olan üretim her geçen gün artarak devamlılığını korumaktadır. Özellikle sonbahar ve kış döneminde üretim yoğun olarak gerçekleşmekte olup yaz döneminde ise rakımı yüksek olan yerlerde üretim sürdürülebilmektedir.

Viral hastalık etmenlerinin teşhisinde, gözleme dayanılarak yapılan simptomolojik çalışmaların, yapılacak serolojik ve moleküler testlerle de desteklenmesi gerekmektedir. Ancak etmenin tanısı

yapıldıktan sonra bu virüs hastalığının kontrolüne yönelik önlemler alınabilmektedir.

Araştırma kapsamına giren alanlarda surveyler sırasında marul yapraklarında kloroz, nekroz, mozayik, deformasyon, bitki boyunda kısılma, baş oluşumunda gecikme ve ağ yaprak oluşumu gözlemlenmiştir. Özellikle ağ yaprak oluşumu bu hastalık için karakteristik olup birçok araştırmacı tarafından da bu hastalık belirtileri ifade edilmiştir [14-17].

Çalışmada, DAS-ELISA yöntemi ile testlenen 240 marul yaprak örneğinin 44 adedinin MiLBVV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Testlenen örneklerde % 18.33 oranında MiLBVV enfeksiyonu saptanmıştır.

DAS-ELISA yönteminin güvenilir ve çok sayıda örneğin test edilmesi gibi avantajlarından dolayı rutin testlerde kullanılabilirliği ifade edilmektedir [18]. Farklı araştırmacılar da MiLBVV'nin tanınması çalışmalarında DAS-ELISA yönteminden yararlanmışlardır [19-21].

Yapılan bu çalışmada; DAS-ELISA testi sonuçlarına göre; Finike ilçesi üretim alanlarından toplanmış olan 59 marul yaprak örneğinin 38'i (%64.40) ve Kaş ilçesi üretim alanlarından toplanmış olan 36 örneğin 6'sı (%16.66) virüs ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Serik, Muratpaşa ve Aksu ilçelerinden alınan marul örneklerinde MiLBVV'ye rastlanılmamıştır. Ağ yaprak oluşumu simptomsu sergileyen bazı yaprak örneklerinin MiLBVV'ye özgü spesik kit ile yapılan tanılama çalışmalarında negatif sonuç vermesi; bu örneklerin LBVV ile bulaşık olabileceğini düşündürmektedir.

Roggero vd., Ertunç ve Zelyüt ile Akbaş vd. yaptıkları çalışmada virüslerin tek başına ve karışık olarak bulduklarını ve arazide benzer simptomlara neden olduklarını ortaya koymuşlardır [15, 21, 22].

Buna karşın farklı çalışmalarda MiLBVV'nin, LBVV etmeninin varlığına bağlı olmaksızın tek başına veya LBVV ile karışık enfeksiyonlarının simptomlara sebep olduğu ve marul iri damar hastalığına neden olduğunu, LBVV'nin ise tek başına marul bitkisinde bulunduğu herhangi bir simptom meydana getirmedeğini vurgulamışlardır [16, 23, 24].

Çalışmada; DAS-ELISA'da pozitif reaksiyon veren ve absorbans değeri yüksek olan 29 izolatin total RNA izolasyonu yapılmıştır. Buradan elde edilen nükleik asitler, RT-PCR çalışmalarına kaynak oluşturmuştur.

RT-PCR reaksiyonunda MiLBVV'nin kılıf protein geninin yaklaşık 469 bp'lik bir kısmını çoğaltan primerler kullanılmıştır. RT-PCR çalışmaları sonucunda 29 izolattan 24 adetinin beklenen seviyede bant verdiği ve MiLBVV ile enfekteli olduğu ortaya konulmuştur. Serolojik çalışmalarda pozitif çıkan 5

örnekten moleküler çalışmalarda beklenen seviyede bant elde edilememesi RNA izolasyonu veya virüs konsantrasyonunun düşmesi ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

Benzer şekilde çeşitli araştırmacılar tarafından da MiLBVV'nin kılıf protein geninin yaklaşık 469 bp'lik bir kısmı çoğaltılmış ve bu çalışma ile paralel sonuçlar elde edilmiştir [25, 26].

Ürdün'de 2020 yılında yapılan bir çalışmada marullarda iri damar simptomsuna sebep olan etmenlerin MiLBVV ve LBVV olduğu bildirilirken, virüslerin teşhisinde RT-PCR yöntemini kullanmışlardır. Ayrıca çalışmada virüslerin taşınmasına vektörlük eden fungusun, *O. virulentus* olduğunu belirtmişlerdir [26].

Suudi Arabistan'da 2017 yılında yapılan benzer bir çalışmada da 97 marul ve 7 yabancı ot üzerinde MiLBVV ve LBVV'nin varlığını belirlemek için DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemlerini kullanmışlar ve DAS-ELISA testi sonuçlarına göre LBVV'nin enfeksiyon oranını %25, MiLBVV'nin enfeksiyon oranını %9, karışık enfeksiyon oranının ise %63 olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada ayrıca *Olpidium* spp.'nin, her iki virüsün taşınmasında etkili olduğunu vurgulamışlardır [27].

Ülkemizde marul iri damar virüsüne neden olan etmenlerin tanınması ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Ertunç ve Zelyüt, Ankara marul üretim alanlarında virüs hastalıklarının belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada da, MiLBVV ve LBVV'lerin teşhisinde DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemini kullanmışlar ve 544 marul yaprak örneğinin 39'unda MiLBVV'yi ve 6'sında LBVV'yi tespit etmişler, 5 örnekte ise karışık enfeksiyona rastlamışlardır [21].

Benzer şekilde Akbaş vd. Ankara, Konya ve Eskişehir illerinde marul üretim alanlarında virüs hastalıklarının belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada serolojik ve moleküler yöntemleri kullanarak en yaygın virüsün marul iri damar hastalığına sebep olan MiLBVV ve LBVV olduğunu vurgulamışlardır [22].

Marul bitkilerinin kılcal kökleri Phillips ve Hayman'ın belirttiği kök boyama yöntemine göre boyanarak ışık mikroskopunda incelenmiş ve fungusun spor yapıları gözlemlenmiştir [13]. Benzer şekilde spor yapılarını görüntülemek için farklı araştırmacılar tarafından da bu boyama yöntemi kullanılmıştır [28, 29].

Bu çalışma Antalya ilinde bulunan marul üretim alanlarında MiLBVV'nin varlığını ortaya koymaktadır. Ayrıca çalışmada MiLBVV'nin vektörü olan *Olpidium* spp.'nin marul köklerinde oluşturduğu spor yapıları da gözlemlenmiştir.

Gerçekleştirilen çalışma ile Antalya ilinde MiLBVV'nin varlığı serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak ilk kez tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçların ileride yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca daha sonra yapılacak çalışmalarda LBVV'nin de tanınması, MiLBVV ile ilişkilerinin ortaya konulması ve izolatların dizi analizlerinin belirlenmesi üzerine daha detaylı çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

### Teşekkür

Bu çalışma yüksek lisans tezi olup, 2020-YL1-0094 No'lu Proje ile Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı tarafından maddi olarak desteklenmiştir. Destekleri ve katkıları için teşekkür ederiz.

### Etik Beyanı

*Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.*

### Kaynakça

- [1] Abak, K., Düzyaman, F., Şeniz, V., Gülen, H., Pekşen, A., Kaymak, H. Ç. 2010. Sebze Üretimini Geliştirme Yöntem Ve Hedefleri. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak, Ankara, 477-492.
- [2] Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ. C., Duman, İ., Ergün, M. 2013. İzmir ili ve Çevresindeki Bazı Kışlık Sebzelerde Görülen Viral Etmenlerin Saptanması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 50(3), 311-322.
- [3] Balkaya, A., Sarıbaş, Ş., Özgen, T. 2018. Türkiye'de Kışlık Sebze Türlerinin Tarımsal Üretimdeki Yeri ve Önemi. Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi, 5(20), 8-12.
- [4] TÜİK, 2021. Bitkisel üretim istatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. (Erişim Tarihi: 01.02.2022).
- [5] Moreno, A., Fereres, A. 2012. Virus Diseases in Lettuce in the Mediterranean Basin. *Advances in Virus Research*, 84, 247-288.
- [6] Jagger, I. C., Chandler, N. 1934. Big vein, a disease of Lettuce. *Phytopathology*, 24, 11.
- [7] Kuwata, S., Kubo, S., Yamashita, S., Doi, Y. 1983. Rod-Shaped Particles, a Probable Entity of Lettuce Big Vein Virus. *Japanese Journal of Phytopathology*, 49(2), 246-251.

- [8] Roggero, P., Lot, H., Souche, S., Lenzi, R., Milne, R. G. 2003. Occurrence of Mirafiori lettuce virus and Lettuce Big-Vein Virus in Relation to Development of Big-Vein Symptoms in Lettuce Crops. *European Journal of Plant Pathology*, 109(3), 261-267.
- [9] Garcia, M. L. 2012. Ophioviruses: state of the art. INTECH Open Access Publisher.
- [10] Araya, C., Peña, E., Salazar, E., Román, L., Medina, C., Mora, R., Rosales, I. M. 2011. Symptom Severity and Viral Protein or RNA Accumulation in Lettuce Affected by Big-Vein Disease. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71(1), 63.
- [11] Barnett, O. W. 1986. Surveying for plant viruses: Design and consideration in plant virus epidemics: Monitoring, modeling and predicting outbreaks. Academic Press, Sydney, Orlando, 147-166.
- [12] Navarro, J. A., Botella, F., Maruhenda, A., Sastre, P., Sánchez-Pina, M. A., Pallas, V. 2004. Comparative Infection Progress Analysis of Lettuce Big-Vein Virus and Mirafiori Lettuce Virus in Lettuce Crops by Developed Molecular Diagnosis Techniques. *Phytopathology*, 94(5), 470-477.
- [13] Phillips, J. M., Hayman, D. S. 1970. Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-161.
- [14] Lot, H., Campbell, R. N., Souche, S., Milne, R. G., Roggero, P. 2002. Transmission by *Olpidium brassicae* of Mirafiori lettuce virus and Lettuce Big-Vein Virus, and Their Roles in Lettuce Big-Vein Etiology. *Phytopathology*, 92(3), 288-293.
- [15] Roggero, P., Ciuffo, M., Vaira, A. M., Accotto, G. P., Masenga, V., Milne, R. G. 2000. An Ophiovirus Isolated from Lettuce with Big-Vein Symptoms. *Archives of Virology*, 145(12), 2629-2642.
- [16] Sağlam, H. N., Kamberoğlu, M. A. 2019. Identification and Characterization of Lettuce Big Vein Disease (LBVD) in Lettuce (*Lactuca Sativa*) Crops in Adana and Mersin Provinces in Turkey. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32(3), 315-321.
- [17] Zelyüt, F. R., Ertunç, F. 2021. Population Genetic Analysis of Lettuce Big-Vein Disease Viruses and Their Vector Fungi *Olpidium Virulentum* in Ankara Province, Turkey. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 113.
- [18] Clark, M. F., Adams, A. N. 1977. Characteristics of The Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34(3), 475-483.

- [19] Alan, B. 2012. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilen bazı kışlık sebzelerde hastalık yapan virüslerin tanınması ve karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 134s, Adana.
- [20] Sertkaya, G. 2015. Hatay İli Marul ve Ispanak Alanlarında Bazı Virüslerin Araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(1), 7-12.
- [21] Ertunç, F., Zelyüt, F. R. 2019. Virus Diseases of Lettuce in Ankara Province. International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences, 3(2), 202-206.
- [22] Akbaş, B., Morca, A. F., Coşkan, S. 2021. Ankara, Eskişehir ve Konya İlleri Marul Üretim Alanlarında Görülen Viral Hastalık Etmenlerinin Tespiti. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 31(2), 387-395.
- [23] Hayes, R. J., Wintermantel, W. M., Nicely, P. A., Ryder, E. J. 2006. Host Resistance to Mirafiori Lettuce Big-Vein Virus and Lettuce Big-Vein Associated Virus and Virus Sequence Diversity and Frequency in California. Plant Disease, 90(2), 233-239.
- [24] Sasaya, T., Fujii, H., Ishikawa, K., Koganezawa, H. 2008. Further evidence of Mirafiori lettuce big-vein virus but not of Lettuce big-vein Associated Virus with Big-Vein Disease in Lettuce. Phytopathology, 98(4), 464-468.
- [25] Zelyüt, F. R. 2016. Ankara İli marul ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 51S, Ankara.
- [26] Salem, N., Odeh, S., Muslem, M. A., Tahzima, R. 2020. Occurrence and Partial Genetic Characterisation of Lettuce Big-Vein Associated Virus and Mirafiori Lettuce Big-Vein Virus Infecting Lettuce in Jordan. Annals of Applied Biology, 177(1), 90-100.
- [27] Umar, M., Amer, M. A., Al-Saleh, M. A., Al-Shahwan, I. M., Shakeel, M. T., Zakri, A. M., Katis, N. I. 2017. Characterization of Lettuce Big-Vein Associated Virus and Mirafiori Lettuce Big-Vein Virus Infecting Lettuce in Saudi Arabia. Archives of Virology, 162(7), 2067-2072.
- [28] Varanda, C. M., Silva, M. S., Maria do Rosário, F. F., Clara, M. I. E. 2011. Evidence of Olive Mild Mosaic Virus Transmission by *Olpidium Brassicae*. European Journal of Plant Pathology, 130(2), 165-172.
- [29] Woltjen, C. D. 2010. Responding to industry needs from the field to the greenhouse: Dieback and cankers of *Gleditsia triacanthos* var. *inermis* and characterization of an Ohio isolate of Melon necrotic spot virus and its vector, *Olpidium bornovanus*, collected from *Cucumis sativus*. (Doctoral dissertation, The Ohio State University).

## Buğdayda *Pratylenchus thornei* ve *Rhizoctonia solani* Etkileşimi

Fatma Gül GÖZE ÖZDEMİR\*<sup>1</sup>, Şerife Evrim ARICI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 32200, Isparta, Türkiye

(Alınış / Received: 30.12.2021, Kabul / Accepted: 08.05.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

Buğday,  
Kök çürüklüğü,  
Hastalık kompleksi,  
Nematod-fungus  
interaksiyonu

**Öz:** Çalışma kontrollü koşullar altında 2021 yılının Mart-Temmuz ayları arasında *Pratylenchus thornei* ve *Rhizoctonia solani*'nin buğday üzerinde eş zamanlı ve ardışık inokulasyonlarıyla 6 farklı uygulama ile yürütülmüştür. Buğday tohumlarının ekiminden 10 gün sonra uygulama önceliğine göre nematod ve fungus inokulasyonu gerçekleştirilmiştir. *Pratylenchus thornei* için inokulum yoğunluğu 1000 larva+ergin birey kullanılırken, *R. solani* için hazırlanan kepek kültüründen steril saksı toprağına %5 oranında karıştırılmıştır. Bitkiler yaklaşık 7 hafta sonra sökülerek değerlendirme işlemi *R. solani* hastalık şiddeti, *R. solani*'nin topraktaki yoğunluğu, toprak ve kökteki toplam nematod yoğunluğu (PF) ve *P. thornei* üreme oranı (PF (final)/Pİ (ilk)) üzerinden gerçekleştirilmiştir. Eş zamanlı *R. solani* ve *P. thornei* (N+F) uygulaması (4840 birey /kök) ile *P. thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* (N+2F) uygulamasında (4946 birey/kök) kökteki nematod yoğunluğunun yalnız nematod (N) uygulaması (4166 birey/kök)'nden yüksek olduğu tespit edilmiştir. *Pratylenchus thornei*'nin en düşük üreme oranı *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* (F+2N) uygulamasında (6.7) bulunurken, N (7.0), N+F (7.4) ve N+2F (7.4) uygulamalarının üreme oranları birbirine yakın saptanmıştır. Sadece *R. solani* uygulamasının (% 40.2) hastalık şiddeti N+F (% 48.6) ve N+2F (% 50.4) uygulamalarından daha düşük bulunmuştur. Bu sonuç buğdayda *P. thornei*'nin *R. solani*'nin neden olduğu kök çürüklüğü hastalığını arttırdığını göstermektedir.

## Interaction of *Pratylenchus thornei* and *Rhizoctonia solani* on Wheat

### Keywords

Wheat,  
Root rot,  
Disease complex,  
Nematode-fungus interaction

**Abstract:** The present study was carried out with simultaneous and sequential inoculations of *Pratylenchus thornei* and *Rhizoctonia solani* on wheat with 6 different applications under controlled conditions between March and July 2021. Nematode and fungus inoculation was carried out ten days after sowing the wheat seeds according to the application priority. One thousand larva+adult from *P. thornei*, and 5% of the bran culture prepared with *R. solani* were mixed into sterile potting soil. Plants were removed after about 7 weeks and the evaluation was carried out on *R. solani* disease severity, *R. solani* density in soil, total nematode density in soil and root (PF) and *P. thornei* reproduction rate (PF (final)/PI (initial)). It was determined that the nematode density in the root was higher in simultaneous inoculation of *R. solani* and *P. thornei* (N+F) (4840 individuals/root) and *R. solani* inoculation 2 weeks after *P. thornei* (N+2F) (4946 individuals/root) applications than the *P. thornei* application alone (N) (4166 individuals/root). While the lowest reproduction rate of *P. thornei* was found in the application of *P. thornei* (6.7) which was performed two weeks after the application of *R. solani* (F+2N), the reproduction rates of *P. thornei* were found to be close to each other in N (7.0), N+F (7.4) and N+2F (7.4) applications. The disease severity of only *R. solani* application (40.2 %) was found lower than N+F (48.6 %) and N+2F (50.4 %) applications. These results show that *P. thornei* increases root rot disease caused by *R. solani* on wheat.

### 1. Giriş

İnsanlar için önemli bir besin kaynağı olan buğday serin ve ılıman ülkelerde bulunan temel bir tahıl

mahsulüdür. Buğday üretiminde bitki hastalıklarına neden olan bazı patojenler ürün kaybına neden olmaktadır [1]. Bu patojenler arasında yer alan *Rhizoctonia* türleri buğdayda genel olarak çökerten,

\*İlgili yazar: fatmagoze@isparta.edu.tr

kök ve sap çürüklüğü, yaprak ve kın yanıklığı, cüceleşme ve kardeşlenmede azalmaya sebep olmaktadır [2]. Hastalık nedeniyle bitkilerin kümeler halinde ölmesi ya da gelişme geriliği göstermesi sonucu tarlada açık yama (bare patch) adı verilen ve çapları birkaç metreye ulaşan boşluklar meydana gelmektedir [3]. *Rhizoctonia* türleri saprofitik rekabetçiliği, patojenik özellikleri, çok hızlı gelişimi ve geniş konukçu dizisi nedeniyle mücadelesi zor olan patojenlerdir [4]. Dünyada yapılan çalışmalarda tahıllarda *R. solani*, *R. oryzae*, *R. zae* ve *R. cerealis* türleri patojen olarak bulunmuştur [5-9]. Ancak başta buğday olmak üzere tahılları etkileyen en yaygın türler *R. solani* ve *R. cerealis*'dir [10, 11]. *Rhizoctonia solani* buğdayda Amerika Birleşik Devletlerinin Pasifik bölgesinde, Güney Afrika, Avustralya, Türkiye, Kanada [12], Birleşik Krallık [13], Asya ve Afrika [14,15], Okyanusya [16] ve Kuzey Amerika [17]'de coğrafik dağılım göstermektedir. Türkiye'de buğdayda *R. solani* ve anastomosis grupları farklı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir [8, 12, 18, 19].

*Pratylenchus thornei*, buğdayda ekonomik açıdan en önemli tür olarak kabul edilmekte olup; Cezayir, Avustralya, Kanada, Hindistan, İsrail, İtalya, Meksika, Fas, Pakistan, Suriye, Türkiye ve Yugoslavya dahil olmak üzere birçok ülkede yaygın olduğu bildirilmiştir [20-23]. Türkiye'de de buğday üretim alanlarında *P. thornei*'nin en yaygın tür olduğu tespit edilmiştir [23, 24]. *Pratylenchus thornei* stileti yardımıyla bitki kök dokusuna giriş yapan ve kök korteks hücrelerinin sitoplazmasından besinleri çekmek için hücre içine göç eden hareketli endoparazit bir nematod türüdür [25]. Beslenmenin ve kök hücrelerinin içinde üremenin neden olduğu hasar nedeniyle su stresi, bodurluk, solma, klorozlu yapraklar gibi besin eksikliğinde görülen belirtiler ortaya çıkmaktadır [26]. Ayrıca kök lezyon nematodlarının bitkilerde penetrasyon ve beslenme sürecinde açtığı yaraların toprak kaynaklı patojenler için giriş kaynağı olduğu belirtilmektedir [27, 28]. *Pratylenchus thornei*'nin buğdayda Avustralya'da %85, Meksika'da %37, İsrail'de %70 ve ABD'de %50 kadar verim kaybına neden olduğu saptanmıştır [29-31].

Kültür bitkilerinde hastalık gelişiminin patojen, konukçu ve mevcut çevre koşulları arasındaki karmaşık etkileşimlere bağlı olduğu bilinmektedir [32]. Bir bitki aynı anda birden çok bitki patojeni ve zararlı tarafından istila edilebilir. Bitki patojeni funguslar ve nematodlar aynı bitkide birlikte ortaya çıktıklarında bağımsız olarak hareket edebilir ve hasar ve verim üzerinde ilave bir etkiye neden olabilir veya sırasıyla daha fazla ve daha az hasara yol açan sinerjistik veya antagonistik bir şekilde birbirleriyle etkileşime girebilirler [33, 34]. Bitki paraziti nematod ve fungus etkileşimlerinin arkasında birkaç olası mekanizma vardır. Birincisi; bitki paraziti nematodlar, konukçu bitkinin köklerinde fungus hiflerinin enfekte olmasını kolaylaştıran çeşitli lezyonlara veya konukçu bitkide kök salgılarının artışına yol açan fizyolojik

değişikliklere neden olabilmektedirler [35, 36]. İkincisi; artan yan kök sayısı ve fungusları çekebilecek kök eksüdatlarının kimyasal bileşimindeki değişiklikler fungus enfeksiyonuna duyarlılığı artırabilmektedir [37, 38]. Üçüncüsü; fungus enfeksiyonu, daha büyük nematod popülasyonlarına yol açabilen konukçu direncinin bozulmasına veya azalmasına neden olabilir [34, 38]. *Rhizoctonia solani* ile daha özelleşmiş beslenme davranışına sahip bitki paraziti nematodlar arasındaki etkileşimler üzerine çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir sera çalışmasında *Heterodera avenae* ve *R. solani*'nin buğday bitkisi üzerindeki etkilerinin, her iki patojenin buğday bitkisinde birlikte olduğunda, her birinin ayrı ayrı bulunduğundan daha fazla olduğu gözlenmiştir [39]. Patateste *R. solani* ile enfekteli stolonlarda, köklere saldıran patates kist nematod larvalarının (*Globodera rostochiensis* ve *G. pallida*) yoğunluğunun daha yüksek olduğu belirtilmektedir [40, 41]. Kök ur nematodları ile *R. solani* etkileşimi farklı konukçularda çalışılmıştır ve bu çalışmaların çoğunda bu iki önemli patojen arasında sinerjik bir etkileşim olduğu bildirilmektedir [42-46].

Kök lezyon nematodları ve *R. solani* ile yürütülen az sayıda çalışma bulunmuştur. *Pratylenchus penetrans* ve *R. solani* ile enfekteli arazilerde patates bitkisinde yumru veriminin düşük oranda olduğu bulunmuştur [47]. Patateste yürütülen başka bir çalışmada ise *P. neglectus* ve *R. solani* arasında herhangi bir etkileşim bulunamamıştır [48]. Buğdayda *R. solani* varlığında kökteki *P. neglectus* popülasyon yoğunluğunun daha yüksek olduğu bildirilmektedir [49]. *Rhizoctonia solani* ve *P. penetrans*'ın patateste verim kaybı üzerinde ilave bir etkisinin olduğu ve fungus ile nematodların patates bitkisinin farklı kısımlarında birbirini farklı şekillerde etkilediği, ancak kesin mekanizmaların hala açıklığa kavuşturulmayı beklediği rapor edilmiştir [34].

Tahıl alanlarında dünyada ve Türkiye'de *R. solani* yaygın bir patojen olarak bildirilmesine rağmen yine tahıl alanlarında ekonomik olarak önemli zarar oluşturan ve yaygın bulunan *P. thornei* arasındaki etkileşim ile ilgili ayrıntılı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın amacı Türkiye'den izole edilen *R. solani* ve *P. thornei* izolatlarının kontrollü koşullar altında buğdayda etkileşiminin araştırılmasıdır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Materyal

Nematod popülasyonu olarak *P. thornei* SK24 popülasyonu kullanılmış [21], nematodun kitle üretimleri ISUBU Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Nematoloji Laboratuvarında Verdejo-Lucas ve Pinochet [50] yöntemiyle havuç disklerinde yapılmıştır. Çalışmanın diğer materyali olan *R. solani* izolatu Burdur Yeşilova ilçesinden toplanan buğday



köklerinden elde edilmiş, morfolojik ve mikroskopik karakterlerine bakılarak tanı ve teşhisi yapılmıştır [51-53]. Çalışma İkizce buğday çeşidinde yürütülmüştür.

## 2.2. Nematod inokulumunun hazırlanması

*Pratylenchus thornei* SK24 izolatının kitle üretimin gerçekleştirildiği havuç diskleri ayrı ayrı 120 mm Petri kutularına aktarılmıştır. Aktarılan havuç diski küçük parçalara bölünmüş ve Petri kutusunu kaplayacak şekilde steril saf su eklenmiştir. Altı saat sonra nematodlar geliştirilmiş Baermann huni yöntemi kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Mezurlar içerisinde elde edilen nematod süspansiyonlarının her bir tekrarı 15 ml'ye düşürülmüş ve santrifüj tüplerine alınmıştır [54]. Santrifüj tüplerinde nematodların dibe çökmesi için 4 saat beklendikten sonra üstteki sıvı atılarak 1 ml ye düşürülmüş ve dipteki kısımdan ergin+larva ışık mikroskobu altında 100X büyütmede sayılmıştır. Daha sonra çalışmada kullanılacak nematod yoğunluğu ayarlanarak saf su içeren ependorf tüpler içerisinde buzdolabında bekletilmiştir.

## 2.3. Fungus inokulumunun hazırlanması

Üçyüz g buğday kepek kültürü 1000 ml'lik cam şişede saf su ile nemlendirilerek otoklavda 1.2 atmosfer basıncında, 121°C'de 20 dakika bir gün arayla 2 kez steril edilmiştir. *Rhizoctonia solani* izolatı PDA besiyerinde 24°C'de 7 gün geliştirilmiş ve bunlardan alınan 5 mm çapındaki 16 miselyum diski buğday kepek kültürüne aktarılmış ve 15 gün, 24°C'de 14 saat ışık ve 10 saat karanlık koşullarda inkubasyona bırakılmıştır. Elde edilecek inokulumun homojen olabilmesi için gün aşırı çalkalanmıştır. Daha sonra denemenin yapılacağı toprağa % 5 oranında (1/19) karıştırılarak patojenle bulaşık topraklar elde edilmiştir [55].

## 2.4. Buğdayda *Pratylenchus thornei* ve *Rhizoctonia solani* etkileşiminin belirlenmesi

Çalışma 2021 yılının Mart-Temmuz ayları arasında kontrollü koşullar altında 25±2°C sıcaklık ve %60±5 orantılı nem içeren iklim odasında yürütülmüştür. Denemede otoklav edilmiş 500 g toprak karışımı olan 500 cc'lik plastik saksılar kullanılmıştır. Her saksıya 3 adet İkizce buğday tohumunun ekimi yapılmıştır. Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 3 buğday bitkisi olacak şekilde kurulmuştur. *Pratylenchus thornei* için inokulum yoğunluğu olarak 1 ml'lik saf su süspansiyonu içerisinde 1000 larva+ergin birey kullanılmıştır [56]. *Rhizoctonia solani* için hazırlanan inokulum steril saksı toprağına %5 oranında karıştırılmıştır [57]. Buğday tohum ekiminden 10 gün sonra kök bölgesi etrafına 2-3 cm toprak derinliğine açılan deliklere plastik puarlı pipetler yardımıyla kombine uygulamaların önceliğine göre nematod ya

da fungus inokulasyonu yapılmıştır. Kontrol olarak nematod ve fungus uygulanmamış bitkiler kullanılmıştır. Çalışma 6 uygulamadan oluşmaktadır. Uygulamalar; Kontrol (K), Sadece *P. thornei* uygulaması (N), Sadece *R. solani* uygulaması (F), Eş zamanlı *P. thornei* ve *R. solani* uygulaması (N+F), *P. thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* uygulaması (N+2F) ve *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulaması (F+2N) şeklinde planlanmıştır [27].

Bitkiler yaklaşık 7 hafta sonra sökülerek değerlendirme işlemi yapılmıştır. Değerlendirme işlemi; *R. solani* hastalık şiddeti, *R. solani*'nin topraktaki yoğunluğu (cfu/ g toprak), toprak ve kökteki toplam nematod yoğunluğu (PF) ve *P. thornei* üreme oranı (PF (final)/Pİ (ilk)) üzerinden gerçekleştirilmiştir. Toprak ve kökteki nematodların elde edilmesinde Baerman huni yöntemi kullanılmıştır [54]. Toprak analizinde 100 g toprak kullanılırken, kökte her bir buğday bitkisinin tüm kökü kullanılmıştır. Hastalık değerlendirmesinde Aktaş ve Bora [58]'nin skala değeri kullanılmış (0: bitki sağlam, 1: kökte %1-15 sararma, 3: %16-40 sararma, 5: %41-70 sararma, 7: %71-100 sararma) ve hastalık şiddeti Tawsend-Heuberger formülü ile hesaplanmıştır [59]. Tawsend-Heuberger formülü: Hastalık şiddeti (%) =  $[\sum (n.V) / Z.N \times 100]$ , n: skalada farklı hastalık derecelerine isabet eden örnek adedi, V: skala değeri, Z: en yüksek skala değeri, N: gözlem yapılan toplam örnek adedi

## 2.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS (versiyon 20.0) programı kullanılmış ve çalışma Tek-Yönlü Sınıflandırma/One-Way Anova/ Tesadüf Parselleri Deneme modeline göre yapılmıştır. Farklı grup ortalamalarını belirlemek amacıyla varyansların homojen olduğu durumlarda "Tukey" kullanılmıştır (p≤0,05).

## 3. Bulgular

Çalışmada İkizce buğday çeşidinde *P. thornei*'nin toprak yoğunluğunda *R. solani* ile farklı şekilde yapılan uygulamalar arasında fark bulunamazken, kökteki yoğunlukta farklılıklar görülmüştür. *Rhizoctonia solani* uygulamasından 2 hafta sonra nematod uygulamasında kökteki *P. thornei* yoğunluğunun (3800 birey/kök) sadece nematod uygulamasından (4166 birey/kök) daha düşük olduğu belirlenmiş ve aralarındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (p≤0.05). Eş zamanlı *R. solani* ve *P. thornei* uygulaması (4840 birey /kök) ile *P. thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* uygulamasında (4946 birey/kök) kökteki nematod yoğunluğunun yalnız nematod uygulaması ile karşılaştırıldığında önemli oranda arttığı saptanmıştır. Toprak ve kökteki toplam nematod yoğunluğu incelendiğinde yine eş zamanlı (7462 birey/kök) ve *P. thornei* uygulamasından

**Tablo 1.** İkizce buğday çeşidinde *Pratylenchus thornei* ve *Rhizoctonia solani* etkileşiminin nematod yoğunluğu ve üreme oranına etkisi

Uygulama <sup>1</sup>	Topraktaki nematod	Kökteki nematod	Toplam nematod	Üreme oranı
	yoğunluğu / 500 g	yoğunluğu/ kök	yoğunluğu (toprak+kök)	
Ortalama±Standart hata				
K	-	-	-	-
N	2838.0±212.3 a	4166.0±135.1 b	7004.0±179.4 ab	7.0±0.1 ab
F	-	-	-	-
N+F	2616.0±243.2 a	4840.0±113.0 a	7462.0±138.7 a	7.4±0.1 a
F+2N	2900.0±124.7 a	3800.0±62.9 c	6700.0±130.3 b	6.7±0.1 b
N+2F	2490.0±149.7 a	4946.0±76.9 a	7436.0±194.2 a	7.4±0.1 a

<sup>1</sup>K: Kontrol, N: Sadece *P. thornei* uygulaması, F: Sadece *R. solani* uygulaması, N+F: Eş zamanlı *P. thornei* ve *R. solani* uygulaması, N+2F: *P. thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* uygulaması, F+2N: *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulaması

\* Aynı sütundaki küçük harfler uygulamalar arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir (p≤0.05).

2 hafta sonra *R. solani* uygulamasında (7436 birey/kök) yoğunluğun yalnız nematod (7004 birey/kök) uygulamasından yüksek olduğu görülmüş ancak aralarında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p≥0.05). En düşük üreme oranı 6.7 ile *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulamasında tespit edilmiştir. *Pratylenchus thornei* üreme oranı bakımından sadece nematod (7.0), eş zamanlı nematod (7.4) ve fungus inokulasyonu ile nematod uygulamasından 2 hafta sonra fungus uygulamasında (7.4) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p≥0.05) (Tablo 1).

**Tablo 2.** İkizce buğday çeşidinde *Pratylenchus thornei* ve *Rhizoctonia solani* etkileşiminin hastalık şiddetine etkisi

Uygulama <sup>1</sup>	<i>Rhizoctonia solani</i>	
	Hastalık şiddeti	yoğunluğu (cfu/g toprak)
Ortalama±Standart hata		
K	-	-
N	-	-
F	40.2±1.8 b	1482.0±53.3 b
N+F	48.6±2.4 a	1794.0±37.0 a
F+2N	43.4±3.0 ab	1544.1±40.5 b
N+2F	50.4±1.7 a	1828.0±40.2 a

<sup>1</sup>K: Kontrol, N: Sadece *P. thornei* uygulaması, F: Sadece *R. solani* uygulaması, N+F: Eş zamanlı *P. thornei* ve *R. solani* uygulaması, N+2F: *P. thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* uygulaması, F+2N: *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulaması

\* Aynı sütundaki küçük harfler uygulamalar arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir (p≤0.05).

Hastalık şiddetinde eş zamanlı uygulama (% 48.6), *P. thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* (% 50.4) ve *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulamaları arasında istatistiki olarak farklılık bulunmamıştır (p≥0.05). Ancak İkizce buğday çeşidinde *R. solani* hastalık şiddetinin nematod ile fungusun beraber olduğu bu uygulamalarda sadece fungus uygulamasından daha yüksek olduğu saptanmıştır. *Pratylenchus thornei*'nin *R. solani* hastalık şiddetine olumlu anlamda katkısının olduğu görülmektedir. Eş zamanlı (1794.0 cfu/ g toprak) ve *P. thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* (1828.0 cfu/ g toprak) uygulamalarının topraktaki *R.*

*solani* yoğunluğu ise sadece *R. solani* (1482.0 cfu/ g toprak) ve *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulamasından daha yüksek tespit edilmiştir. *Pratylenchus thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* uygulamasının topraktaki *R. solani* yoğunluğu *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulamasından daha yüksek belirlenmiş ve aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p≤0.05) (Tablo 2).

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Çalışmada *R. solani* uygulama zamanının *P. thornei* nematod üremesinde önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir. Çalışmada buğdayda eş zamanlı uygulama ve *P. thornei* uygulamasından 2 hafta sonra *R. solani* uygulamasında kökteki *P. thornei* yoğunluğunda artış bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada kökteki patojenlerin nematodların köke giriş ve yumurtadan çıkışı etkileyerek nematod popülasyonunu arttırdığı belirtilmektedir [60]. Hoseini et al. [27] çay bitkisinde *R. solani* ile *P. loosi*'nin eş zamanlı ve ardışık inokulasyonlarında kökteki nematod yoğunluğunu yalnız *P. loosi* uygulamasından daha yüksek olarak bulmuştur. Patateste *R. solani* ile enfekteli stolonlarda köklere saldıran patates kist nematodları larvalarının yoğunluğunun daha yüksek olduğu belirtilmektedir [40, 41]. Ayrıca yapılan bu çalışmada *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulamasında kökteki *P. thornei* yoğunluğunun yalnız nematod uygulamasının yoğunluğunun daha da altına düştüğü belirlenmiştir. Buna nematod penetrasyonunu engelleyecek düzeyde fungus kitlesinin bulunması ya da nematodun beslenmek için seçeceği yerleri fungusun istila etmesi neden olabilir [43]. Ayrıca Varian [61] nematodların çürüyen kökten çıkarak toprağa yönelidiklerini bunun sonucunda da nematod üremesinin azaldığını bildirmektedir. Farklı araştırmacılar farklı konukçularda *R. solani* varlığında kök ur nematodunun meydana getirdiği ur oluşumunun ve nematod popülasyonunun azaldığını belirtmiştir [44-46, 62]. Ayrıca Göze Özdemir ve Arıcı [63], *in vitro* çalışmalarında *R. solani* kültür filtratının *Meloidogyne incognita* ve *M. hapla* yumurtadan çıkışını sırasıyla %86.3 ve %76.7

oranında baskımlarken, yumurta paketinden çıkışı sırasıyla %67.0 ve %54.2 oranında baskıladığını bulmuşlardır. Ayrıca aynı araştırmacılar 2. dönem larva üzerinde ölüm oranını *M. incognita* da %93.8, *M. hapla* da %83.2 olarak bildirmişlerdir. Bu sonuçlar *R. solani*'nin kök ur nematodu üzerinde nematodisidal etkisinin olduğunu göstermektedir.

*Rhizoctonia solani* ve *P. thornei*'nin birlikte olduğu uygulamaların hastalık şiddeti sadece *R. solani* uygulamasından daha yüksek olarak bulunurken, topraktaki *R. solani* yoğunluğunda sadece *R. solani* ve *R. solani* uygulamasından 2 hafta sonra *P. thornei* uygulaması arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Eş zamanlı uygulama ve *P. thornei* inokulasyonundan 2 hafta sonra *R. solani* uygulamalarında hastalık şiddeti ve topraktaki *R. solani* yoğunluğu önemli oranlarda artmıştır. Bu nematod beslenme sonucu kök eksüdatlarının ve rizosfer genişliğinin artması ile fungus kök temas sayısının artmasından kaynaklanabilir [35, 36]. Bir diğer neden de kök eksüdatlarının kimyasal bileşiminde meydana gelen değişiklikler sonucu fungus enfeksiyonuna duyarlılığın artması olabilir [37, 38]. Yapılan bu çalışmada buğdayda eş zamanlı *P. thornei* ve *R. solani* uygulaması ile *P. thornei* inokulasyonundan 2 hafta sonra *R. solani* uygulamalarında nematod ve fungusun birbirinin gelişimine olumlu katkısının olduğu belirlenmiş ve aralarında sinerjistik etki tespit edilmiştir. Özellikle sabit endoparazit beslenme gösteren kök ur nematodlarında farklı konukçularda *R. solani* ile sinerjik bir etkileşim bildirilmektedir [42, 43, 46].

Buğdayda hareketli endoparazit beslenme gösteren *P. thornei* ile *R. solani* arasında da sinerjistik bir ilişki olduğu ve birlikte enfeksiyonun verimde ciddi kayıplara neden olabileceği öngörülmektedir. Verimdeki kayıpları en aza indirmek için bu 2 etmenle de mücadele edilmesi gerekmektedir. İki etmende bitkide erken dönemde daha fazla zarara neden olduğu için buğdayda çıkış öncesi ve çıkış sonrası yapılan ilk uygulamalar hastalık ve nematod baskılanmasında oldukça önemli görülmektedir.

### Etik Beyanı

Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.

### Kaynakça

- [1] González García, V., Portal Onco, M., Rubio, V. (2006). Biology and Systematics of the for genus *Rhizoctonia*. Spanish Journal of Agricultural Research, 4(1), 55-79.
- [2] Garrett, K. A., Dendy, S. P., Frank, E. E., Rouse, M. N., Travers, S. E., 2006. Climate change effects on plant disease: genomes to ecosystems. Annual Rev Phytopathology, 44, 489-509.
- [3] Schillinger, W. F., Paulitz, T. C. 2006. Reduction of *Rhizoctonia* bare patch in wheat with barley rotations. Plant Disease, 90(3), 302-306.
- [4] Mohammadi, M., Banihashemi, M., Hedjaroude, G. A., Rahimian, H. 2003. Genetic diversity among Iranian isolates of *Rhizoctonia solani* Kühn anastomosis group1 subgroups based on isozyme analysis and total soluble protein pattern. Journal of Phytopathology, 151(3), 162-170.
- [5] Tomaso-Peterson, M., Trevathan, L. E. 2007. Characterization of *Rhizoctonia*-like fungi isolated from agronomic crops and turfgrasses in Mississippi. Plant Disease, 91(3), 260-265.
- [6] Hamada, M. S., Yin, Y., Chen, H., Ma, Z. 2011. The escalating threat of *Rhizoctonia cerealis*, the causal agent of sharp eyespot in wheat. Pest Management Science, 67(11), 1411-1419.
- [7] Shu, C., Sun, S., Chen, J., Chen, J., Zhou, E. 2014. Comparison of different methods for total RNA extraction from sclerotia of *Rhizoctonia solani*. Electronic Journal of Biotechnology, 17(1), 50-54.
- [8] Ünal, F., Dolar, S., Akan, A.K. 2015. Determination of reactions of some wheat cultivars against pathogen *Rhizoctonia* species and anastomosis groups. Plant Protection Bulletin, 55(3), 225-237.
- [9] Dada, T. E. 2017. Epidemiology of wheat *Rhizoctonia*. International Journal of Scientific and Research Publications, 7(5), 463-473.
- [10] Lewis, J. A., Lumsden, R. D. 2001. Biocontrol of damping-off of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. Crop Protection, 20(1), 49-56.
- [11] Budge, G. E., Shaw, M. W., Colyer, A., Pietravalle, S., Boonham, N. 2009. Molecular tools to investigate *Rhizoctonia solani* distribution in soil. Plant Pathology, 58(6), 1071-1080.
- [12] Demirci, E., 1998. *Rhizoctonia* species and anastomosis groups isolated from barley and wheat in Erzurum, Turkey. Plant Pathology, 47(1), 10-15.
- [13] Dillion, W. A. R., Garrett, S. D. 1943. *Rhizoctonia solani* associated with a root rot of cereals in Norfolk. Annals of Applied Biology, 30(1), 79-79.
- [14] Tsuda, M., Itoh, H., Wakabayashi, K., Ohkouchi, T., Kato, S., Masuda, K., Sasaki, M. 2000. Simeconazole (F-155), a novel systemic fungicide with broad-spectrum activity for seed treatment. Proceedings of the Brighton Crop Prot Conf – Pests Dis, Brighton Crop Protection Conference (BCPC), Farnham, Surrey, UK, pp 557-562.

- [15] Hammouda, A. M. 2003. First report of sharp eyespot of wheat in Egypt. *Plant Disease*, 87(5), 598-598.
- [16] Cromeey, M. G., Parkes, R. A., Fraser, P. M. 2006. Factors associated with stem base and root diseases of New Zealand wheat and barley crops. *Australasian Plant Pathology*, 35(4), 391-400.
- [17] Wiese, M. V. 1987. Compendium of wheat diseases. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- [18] Ünal, F., Dolar, F. S. 2013. İç Anadolu Bölgesi buğday üretim alanlarındaki *Rhizoctonia* türlerinin anastomosis gruplarının ve bazı buğday çeşitlerinin reaksiyonlarının belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Basılmamış Doktora Tezi, 157.
- [19] Dolar, F., Yeğin, S., Ünal, Filiz, N. Z. 2019. Kırşehir ve Kırıkkale illerinde buğday ve arpa ekim alanlarında görülen kök ve kök boğazı hastalıklarının belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 59(1), 71-84.
- [20] Nicol, J. M., Rivoal, R. 2008. Global knowledge and its application for the integrated control and management of nematodes on wheat. In *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes*, Springer, Dordrecht. pp. 251-294.
- [21] Thompson, J. P., Clewett, T. G., Sheedy, J. G., Reen, R. A., O'reilly, M. M., Bell, K. L. 2010. Occurrence of root-lesion nematodes (*Pratylenchus thornei* and *P. neglectus*) and stunt nematode (*Merlinius brevidens*) in the northern grain region of Australia. *Australasian Plant Pathology*, 39(3), 254-264.
- [22] Toktay, H., Yavuzaslanoglu, E., İmren, M., Nicol, J., Elekcioglu, İ. H., Dababat, A. 2012. Screening for resistance to *Heterodera filipjevi* (Madzhidov) Stelter (Tylenchida: Heteroderidae) and *Pratylenchus thornei* (Sher & Allen)(Tylenchida: Pratylenchidae) sister lines of spring wheat. *Turkish Journal of Entomology*, 36(4), 455-461.
- [23] Toktay, H., Imren, M., Akyol, B. G., Evlice, E., Riley, I. T., Dababat, A. 2020. Phytophagous nematodes in cereal fields in Niğde Province, Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 44(4), 559-569.
- [24] Göze Özdemir, F. G., Yaşar, B., Elekcioglu, H. 2021. Distribution and population density of plant parasitic nematodes on cereal production areas of Isparta and Burdur Provinces of Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 45(1), 53-64.
- [25] Channale, S., Kalavikatte, D., Thompson, J. P., Kudapa, H., Bajaj, P., Varshney, R. K., Thudi, M. 2021. Transcriptome analysis reveals key genes associated with root-lesion nematode *Pratylenchus thornei* resistance in chickpea. *Scientific Reports*, 11(1), 1-11.
- [26] Wish, J. P. M., Thompson, J. P., Clewett, T. G., Lawrence, J. L., Wood, J. 2014. *Pratylenchus thornei* populations reduce water uptake in intolerant wheat cultivars. *Field Crops Research*, 161, 1-10.
- [27] Hoseini, S. M. N., Pourjam, E., Goltapeh, E. M. 2010. Synergistic studies on interaction of nematode-fungal system of tea plant in Iran. *Journal of Agricultural Technology*, 6(3), 487-496.
- [28] Mallaiah, B., Muthamilan, M., Prabhu, S., Ananthan, R. 2014. Studies on interaction of nematode, *Pratylenchus delattrei* and fungal pathogen, *Fusarium incarnatum* associated with crossandra wilt in Tamil Nadu, India. *Current Biotica*, 8(2), 157-164.
- [29] Armstrong, J. S., Peairs, F. B., Pilcher, S. D., Russell, C. C. 1993. The effect of planting time insecticides and liquid fertilizer on the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) and the lesion nematode (*Pratylenchus thornei*) on winter wheat. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 69-74.
- [30] Nicol, J. M., Ortiz-Monasterio, I., 2004. Effects of the root-lesion nematode, *Pratylenchus thornei*, on wheat yields in Mexico. *Nematology*, 6(4), 485-493.
- [31] Smiley, R. W., Whittaker, R. G., Gourlie, J. A., Easley, S. A., Ingham, R. E., 2005. Plant-parasitic nematodes associated with reduced wheat yield in Oregon: *Heterodera avenae*. *Journal of Nematology*, 37(3), 297.
- [32] Wallace, H. R. 1987. Effects of nematode parasites on photosynthesis, in *Vistas on Nematology*. Veech, J. A., Dickson, D. W., eds. Society of Nematologists, Hyattsville, pp. 253-259.
- [33] Edin, E., Gulsher, M., Andersson Franko, M., Englund, J-E., Flöhr, A., Kardell, J., Viketoft, M. 2019. Temporal Interactions between root-lesion nematodes and the fungus *Rhizoctonia solani* lead to reduced potato yield. *Agronomy* 9, 361.
- [34] Viketoft, M., Flöhr, A., Englund, J. E., Kardell, J., Edin, E. 2020. Additive effect of the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans* and the fungus *Rhizoctonia solani* on potato yield and damage. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127(6), 821-829.
- [35] Francl, L. J., Wheeler, T. A. 1993. Interaction of plant-parasitic nematodes with wilt-inducing fungi. Khan, M. W., eds. *Nematode interactions*. Chapman & Hall, London, pp. 79-103.
- [36] LaMondia, J. A. 2003. Interaction of *Pratylenchus penetrans* and *Rhizoctonia fragariae* in strawberry black root rot. *Journal of Nematology*, 35, 7-22.

- [37] Webster, J. M. 1985. Aspects of the host-parasite relationships of plant parasitic nematodes. *Advances in Parasitology*, 13, 225-250.
- [38] Back, M. A., Haydock, P. P. J., Jenkinson, P. 2002. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. *Plant pathology*, 51(6), 683-697.
- [39] Meagher, J. W., Brown, R. H., Rovira, A. D. 1978. The effects of cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) and *Rhizoctonia solani* on the growth and yield of wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29(6), 1127-1137.
- [40] Back, M., Jenkinson, P., Deliopoulos, T., Haydock, P. 2010. Modifications in the potato rhizosphere during infestations of *Globodera rostochiensis* and subsequent effects on the growth of *Rhizoctonia solani*. *European Journal of Plant Pathology*, 128, 459-471.
- [41] Bhattarai, S., Haydock, P. P., Back, M. A., Hare, M. C., Lankford, W. T. 2009. Interactions between the potato cyst nematodes, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, and soil-borne fungus, *Rhizoctonia solani* (AG3), diseases of potatoes in the glasshouse and the field. *Nematology*, 11(4), 631-640.
- [42] Bhagawati, B., Das, B. C., Sinha, A. K. 2007. Interaction of *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani* on okra. *Annals of Plant Protection Sciences*, 1, 533-535.
- [43] Mokbel, A. A., Ibrahim, I. K. A., Shehata, M. R. A., El-Saedy, M. A. M. 2007. Interaction between certain root-rot fungi and the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on sunflower plants. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 35(1), 1-11.
- [44] Kumar, V., Haseeb, A. 2009. Interactive effect of *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani* on the growth and yield of tomato. *Indian Journal of Nematology*, 39(2), 178-181.
- [45] Sagar, B. V., Rao, V. K., Varaprasad, K. S. (2012). Interaction of *Rhizoctonia solani* and *Meloidogyne incognita* on Tomato. *Indian Journal of Nematology*, 42(1), 66-70.
- [46] Al-Hazmi, A. S., Al-Nadary, S. N. 2015. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani* on green beans. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(5), 570-574.
- [47] Kotcon, J. B., Rouse, D. I., Mitchell, J. E. 1985. Interactions of *Verticillium dahliae*, *Colletotrichum coccodes*, *Rhizoctonia solani*, and *Pratylenchus penetrans* in the early dying syndrome of Russet Burbank potatoes. *Phytopathology*, 75(1), 68-74.
- [48] Scholte, K., s' Jacob, J. J. 1989. Synergistic interactions between *Rhizoctonia solani* Kühn, *Verticillium dahliae* Kleb., *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus neglectus* (Rensch) Chitwood & Oteifa, in potato. *Potato Research*, 32(3), 387-395.
- [49] Taheri, A., Hollamby, G. J., Vanstone, V. A., Neate, S. M. 1994. Interaction between root lesion nematode, *Pratylenchus neglectus* (Rensch 1924) Chitwood and Oteifa 1952, and root rotting fungi of wheat. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 22(2), 181-185.
- [50] Verdejo-Lucas, S., Pinochet, J. 1992. Population densities of five migratory endoparasitic nematodes in carrot disk cultures. *Journal of Nematology*, 24(1), 96-98.
- [51] Parmeter, J. R. 1970. *Rhizoctonia solani*: the organism. *Rhizoctonia solani*: the saprophyte. *Rhizoctonia solani*: the pathogen. University of California Press, 255 pp.
- [52] Sneh, B., Burpee, L., Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. St Paul, MN, APS Press, 133 pp.
- [53] Carling, D. E., Summer, D. R. 1992. *Rhizoctonia* in: Singleton L.L., Mihail, J.D. ve Rush, C.M. (eds.) *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*, APS Press, St. Paul Minnesota. pp 157-165.
- [54] Mudiope, J., Coyne, D. L., Adipala, E., Sikora, R. A. 2004. Monoxenic culture of *Pratylenchus sudanensis* on carrot disks, with evidence of differences in reproductive rates between geographical isolates. *Nematology*, 6(4), 617-619.
- [55] Erdurmuş, D. 2006. Buğdayda önemli kök ve kök boğazı hastalık etmenlerine karşı *Trichoderma harzianum*' un Etkinliğinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anbilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 41 pp.
- [56] Göze Özdemir, F.G. 2020. Isparta ve Burdur illeri tahıl alanlarında bitki paraziti nematodların belirlenmesi ve buğdayda endoparazit nematodların *Fusarium culmorum* ile etkileşimlerinin araştırılması. Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bitki Koruma Anbilim Dalı, Doktora Tezi, 273 pp.
- [57] Arslan, Ü., Baykal, N., 2002. Kök ve Kökboğazı fungal patojenlerine karşı bazı buğday çeşitlerinin reaksiyonları ve tohum koruyucu fungusitlerin *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc.'a etkisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16, 69-76.
- [58] Aktas, H., Bora, T. 1981. Untersuchungen über die Biologie und Physiologische Variation von auf Mittelanatolischen Gernsten vorkommenden *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. and Jain und die Reaction der Befallenen Gerstensorten auf den Parasiten. *J.Turkish Phytopath.* 10(1), 1-24.

- [59] Karman, M., 1971. Bitki koruma araştırmalarında genel bilgiler. Denemelerin kuruluşu ve değerlendirme esasları. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Zirai Müc. ve Zir. Karantina Gen. Md. Yayınları, İzmir, 279 s.
- [60] Khan, M. W., 1993. Mechanisms of interactions between nematodes and other plant pathogens. In Nematode interactions (pp. 55-78). Springer, Dordrecht.
- [61] Varian, T.C., 1987. Effect of *Ditylenchus dipsaci* and *Pratylenchus penetrans* on verticillium wilt on alfalfa. Journal of Nematology, 19 (3), 379-383.
- [62] Misiha, P. K., Aly, A. Z., Mahrous, M. E., Tohamy, M. R. A., 2013. Effect of culture filterates of Three *Trichoderma* Species, *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* on egg hatching and juvenile mortality of *Meloidogyne incognita* in vitro. Zagazig Journal of Agricultural Research, 40 (3), 1-9.
- [63] Göze Özdemir, F. G., Arıcı, Ş. E. 2021. Effect of culture filtrate concentration of *Rhizoctonia solani* Kühn against *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla* in vitro. International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences, 5(1), 74-79.

## Kırık Leblebiden Elde Edilen Unun Glutensiz Erişte Üretiminde Değerlendirilmesi

Merve ŞAHİN<sup>1</sup> , Eylem ODABAŞ<sup>1</sup> , Hülya ÇAKMAK<sup>\*2</sup> 

<sup>1</sup>Hitit Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD., 19030, Çorum, Türkiye

<sup>2</sup>Hitit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 19030, Çorum, Türkiye

(Alınış / Received: 05.01.2022, Kabul / Accepted: 11.03.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

Leblebi,  
Glutensiz,  
Erişte,  
Protein

**Öz:** Glutensiz ürünler genellikle nişasta ve pirinç unu bazlı hammaddelerden üretildikleri için düşük besin içeriği ve düşük kaliteye sahiptir. Bu yüzden glutensiz eriştelelerin besin içeriklerini iyileştirmek için alternatif olarak baklagil unu kullanımı son yıllarda büyük ilgi uyandırmaktadır. Bu çalışmada, leblebi üretiminde yan ürün olarak ortaya çıkan düşük kalitedeki kırık leblebilerden elde edilen leblebi unu (LU), artan oranlarda (Ağırlıkça, %10-20-30-40-50-60) ticari glutensiz un karışımına (GU) ilave edilerek glutensiz erişteleler üretilmiştir. Kullanılan LU'nun eriştelelerin besinsel içerikleri ve pişme kalitesine olan etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, LU'nun GU'ya kıyasla oldukça yüksek ham protein ve suda çözünür proteine sahip olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). LU'nun artan oranlarda erişte formülasyonuna ilave edilmesi ise, glutensiz eriştelelerin kül içeriğinin önemli düzeyde azalmasına neden olurken, suda çözünür protein içeriğinin önemli düzeyde artmasına neden olmuştur ( $p<0.05$ ). LU'nun artan oranlarda ilave edilmesi ayrıca pişme süresi, su tutma kapasitesi ve şişme indeksini azaltırken, pişme kaybının artmasına neden olmuştur.

## Utilization of Split Roasted Chickpea Flour in Gluten-free Noodle Production

### Keywords

Roasted chickpea,  
Gluten-free,  
Noodle,  
Protein

**Abstract:** Gluten-free products have a low nutritional capacity and poor quality, because of being produced from starch-based flours. Therefore, alternative ingredients such as legume flours for improving the nutritional composition of gluten-free noodles have been of great interest in recent years. In this study, the flour of split roasted chickpea (LU) which is a low quality by-product emerging through the roasted chickpea production, was used in the gluten-free noodle formulations at increasing levels (w/w, 10-20-30-40-50-60%) by replacing the commercial gluten-free flour mixture (GU). The effects of the LU replacement on nutritional and cooking quality of the gluten-free noodles were investigated. According to results, it was determined that LU had considerably higher crude protein and water-soluble protein compared to GU ( $p<0.05$ ). Therefore, the addition of LU to the noodle formulations at increasing levels caused a significant decrease in the ash content of the gluten-free noodles, whereas a significant increase in the water-soluble protein content was observed ( $p<0.05$ ). The addition of LU at increasing levels also shortened the cooking time, water holding capacity and swelling index, while increasing the cooking loss.

### 1. Giriş

Glutensiz beslenme, dünya nüfusunun yaklaşık %5'ini etkilediği düşünülen glutenle ilgili hastalık taşıyan bireyler tarafından benimsenen ve glutensiz ürünlerin formda kalmaya yardımcı olduğunu düşünen tüketiciler tarafından da tercih edilmesinden kaynaklı olarak moda bir beslenme trendi haline gelmiştir [1, 2]. Bu yüzden son yıllarda glutensiz ürün çeşitliliği ve üretim miktarlarında bir

artış söz konusudur. Glutenle ilgili hastalığı olan tüketicilerin sıkı bir glutensiz diyet ile beslenmeleri sebebiyle ürünlerdeki gluten limitlerinin tespit edilerek etiketlerde belirtilmesi önem taşımaktadır [3]. 2008 yılında Kodeks Alimentarius Komisyonu tarafından açıklanan standarda göre; glutensiz ürünlerde bulunmasına izin verilen maksimum gluten miktarı 20 ppm olarak bildirilmiştir. İspanya, İtalya, İngiltere, Kanada ve Amerika gibi ülkelerde bu miktar 20 ppm iken, Arjantin'de 10 ppm; Avustralya,

\*İlgili yazar: hulyacakmak@hitit.edu.tr

Yeni Zelanda ve Şili'de 3 ppm olarak belirlenmiştir. Ülkemizde ise 2012 yılında yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Tebliğinde glutensiz gıdalar için gluten üst limiti 20 ppm olarak kabul edilmiştir [4].

Erişte, Çin ve diğer Asya ülkelerinde yaygın olarak tüketilen, görünüm, tat, pişirme kalitesi ve doku bakımından önemli özelliklere sahip olan temel besin maddesidir [5]. Pirinç, organoleptik özellikleri ve sağlık yararları ile glutensiz erişte üretmek için en önemli hammadde kaynaklarından olup, Asya ülkelerinde en popüler olan erişte çeşidi pirinç eriştesidir [6]. Ancak glutensiz ürünlerin besleyici ve fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek için kullanılan diğer un ve nişasta kaynaklarında, yapışkanlık ve elastikiyet sağlayan gluten proteini yokluğundan dolayı farklı nişastalar, süt proteinleri, hidrokolloidler, yalancı tahıllar, baklagiller ve diğer bitkisel veya hayvansal protein kaynaklarının ilave edilmesi gerekmektedir [7,8]. Son yıllarda baklagillerden elde edilen unların yüksek protein ve besinsel lif içerikleri sayesinde, özellikle besin kalitesini ve duysal özellikleri iyileştirmek amacıyla glutensiz ürünlerde kullanımı öne çıkmıştır.

Baklagiller arasında önemli bir yere sahip olan nohut (*Cicer arietinum* L.), fasulye ve bezelyeden sonra dünya çapında en çok üretimi gerçekleştirilen üçüncü baklagildir [6]. Nohut, anavatanı Türkiye'nin Güneydoğu bölgesi olarak bilinen ve protein (%20-25), karbonhidrat (%40-60), yağ (%4.5-5.5), esansiyel amino asitler (lizin ve arjinin), kalsiyum, fosfor gibi mineraller ve diyet lifi bakımından oldukça zengin bir baklagildir [9,10]. Ayrıca, yüksek amiloz içeriği ve düşük glisemik indeksi sebebiyle antidiyabetik aktivite göstererek insanların günlük beslenmesine ve vücut fonksiyonlarının düzenlenmesine önemli katkı sağladığı bilinmektedir [9,10].

Nohut leblebinin hammaddesi olup, ülkemizde hasat edilen nohutların %20'sinin leblebi olarak işlendiği belirtilmektedir [9, 11]. Ülkemizde leblebi üretiminde tescillenen yerler; Çorum, Tavşanlı ve Denizli'dir [12]. Leblebi üretiminde kullanılan nohudun Damla cinsi ve kalın kabuklu olması gerekmektedir. Ayrıca Türkiye'de nohuttan kabuklu (sarı leblebi, Çorum leblebisi) ve kabuksuz (beyaz leblebi) olmak üzere iki çeşit leblebi üretilmektedir [13]. Sarı leblebi kabuğu soyularak üretilen leblebi

çeşidi olup, üretilmesi sırasında nohuda uygulanan işlem basamakları, sınıflandırma, tavlama, ısıtma, kavurma ve eleme işlemleridir [12]. Sarı leblebinin besinsel içeriği incelendiğinde, %20.8 protein, %7.9 yağ ve %2.5 kül içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Leblebi, kimyasal bileşimi sayesinde doğal bir fonksiyonel gıda ürünü olarak sınıflandırılmakta ve diğer atıştırmalık ürünlere göre daha yüksek protein, selüloz ve mineral içeriği olduğu bilinmektedir [13]. Ayrıca leblebi yüksek düşük glisemik indekse sahip olduğu için en çok tercih edilen atıştırmalıklardandır. Kırık leblebi ise, kendine özel bir tadı olan ve kabuk ayırma ya da kavurma işlemi sırasında kırılan leblebilerin çifte kavrulması sonucunda elde edilen ekonomik değeri düşük bir yan üründür [9]. Ayrıca boyutunun bütün leblebiye kıyasla daha küçük olması sebebiyle, kavurma sırasında daha çok ısıya maruz kalarak normal leblebiden daha koyu renge sahip olmaktadır.

Bu çalışmada, leblebi üretimi sırasında düşük kalitede yan ürün olarak ortaya çıkan kırık leblebilerden elde edilen unun, nişasta temelli ticari glutensiz un karışımı yerine artan oranlarda (%0-60) kullanımının glutensiz eriştelelerin besinsel içeriği ve pişme kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir.

## 2. Materyal ve Metot

Kırık leblebi Çorum'daki yerel kuruyemişçiden, ticari glutensiz un karışımı (Bileşimi: mısır nişastası, pirinç unu, ksantan gam, guar gam, karboksimetil selüloz, sodyum pirofosfat ve sodyum bikarbonat) Dr. Oetker Gıda San. ve Tic. A. Ş. (İzmir) temin edilmiştir. Bütün taze yumurta ve tuz Çorum'daki yerel marketten satın alınmıştır.

### 2.1. Erişte üretimi

Kırık leblebi, çekiçli değirmende (Brabender, SM3, Almanya) öğütülmüş ve 250 mikronluk elekten geçen un parçacıkları erişte üretiminde kullanılmıştır.

Glutensiz eriştelelerin formülasyonları Tablo 1'de verilmiştir. Kontrol eriştesi sadece GU'dan üretilirken, diğer erişteleler 100 g toplam un miktarı üzerinden GU yerine artan oranlarda LU içermektedir.

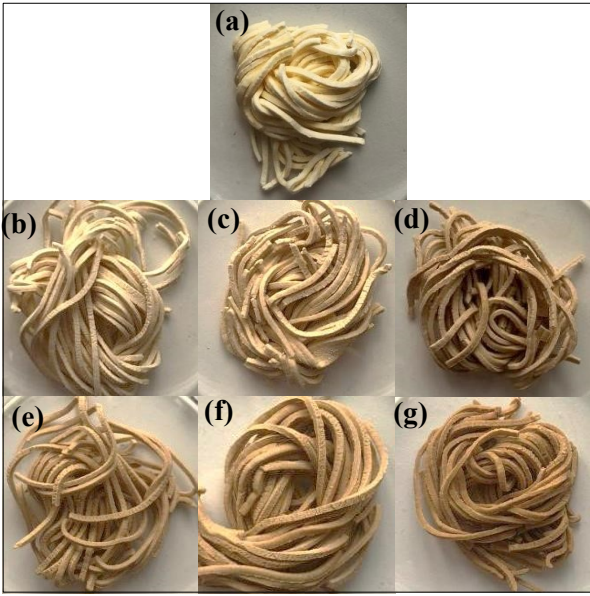
**Tablo 1.** Glutensiz erişte formülasyonları

Örnek*	LU (g)	GU (g)	Tuz (g)	Yumurta (g)	Su (ml)
K	-	100.0	0.5	30.0	35.0
LU10	10.0	90.0	0.5	30.0	35.0
LU20	20.0	80.0	0.5	30.0	37.0
LU30	30.0	70.0	0.5	30.0	38.0
LU40	40.0	60.0	0.5	30.0	40.0
LU50	50.0	50.0	0.5	30.0	42.0
LU60	60.0	40.0	0.5	30.0	44.0

\*K: kontrol eriştesi, LU10: %10 leblebi eriştesi, LU20: %20 leblebi eriştesi, LU30: %30 leblebi eriştesi, LU40: %40 leblebi eriştesi, LU50: %50 leblebi eriştesi, LU60: %60 leblebi eriştesi



Erişte yapımında kullanılan unlar ve tuz karıştırıldıktan sonra üzerine sarısı ve beyazı karıştırılmış bütün yumurta Tablo 1'de belirtilen miktarda ilave edilmiştir. Daha sonra ön denemelerle belirlenen distile su, un karışımına ilave edilerek hamur hazırlanmış ve hamur erişte açma makinesinde (Naturalove, MZ-150-A, Çin) ince bir tabaka haline getirilmiştir. İnceltelen hamur, ince erişte başlığı (2 mm) kullanılarak kesilmiştir. Kesilen eriştelere etüvde 50°C'de (Mommert, UN 55, Almanya) nem içeriği %10'un altına düşene kadar kurutulmuştur. Kurutulan erişte örnekleri Şekil 1'de gösterilmektedir. Kurutulan eriştelere kadar polietilen ambalajlarda kuru bir ortamda oda koşullarında saklanmıştır.



Şekil 1. Glutensiz erişte örnekleri; (a) K, (b) LU10, (c) LU20, (d) LU30, (e) LU40, (f) LU50, (g) LU60 eriştelere

## 2.2. Hammadde analizleri

Un örneklerinin parçacık boyutu analizi ASTM-E11 standardına uygun elek seti ve elek sallama cihazı (Jeotest, JG035/1, Türkiye) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve parçacık boyutu dağılımı ile ortalama parçacık çapı belirlenmiştir.

Un örneklerinin nem içeriği (AACC Metot No: 44-17.01), kül içeriği (AACC Metot No: 08-01) ve protein içeriği (AACC Metot No: 46-11A) AACC standart metotları kullanılarak belirlenmiştir [14].

Suda çözünür protein içeriği Lowry yöntemine göre belirlenmiştir [15]. Öncelikle LU ve GU'nun çözünür ekstraktı hazırlanmış, daha sonra bu ekstrakt Lowry reaktifine muamele edilmiştir. 1 saat karanlıkta bekletilen karışımın absorpsiyonu 750 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) okunmuştur. Sonuçlar ortalama bovin serum albümini (BSA) eşdeğeri (mg BSA/g KM un) olarak ifade edilmiştir.

Su tutma kapasitesi (STK) için, 5 g örnek 25 ml distile suda çözündürülmüş ve 20 dakika sonunda 4000 rpm'de santrifüj (Rotofix 32A, Hettich Zentrifugen, Almanya) edilmiştir. Tüplerde kalan serbest su yüzeyden uzaklaştırıldıktan sonra tüpler tartılmış ve Denklem 1'e göre STK hesaplanmıştır;

$$STK (\%) = \frac{\text{tortu ağırlığı}}{\text{örnek ağırlığı}} \times 100 \quad (1)$$

Un örneklerinin şişme kuvveti ve çözünürlüğü Li ve ark. [16] tarafından yapılan çalışmaya benzer şekilde gerçekleştirilmiştir. Ağırlıkça %2'lik nişasta süspansiyonu, 100°C'deki su banyosunda (Wise bath, Daihan Scientific, Kore) pişirildikten sonra jelatinize olan nişasta santrifüj edilmiştir. Üst faz petri kaplarına koyularak etüvde 105°C'de kurutulmuştur. Şişme kuvveti (g/g) santrifüj tüpünde kalan çirşenmiş nişasta ağırlığının, başlangıçtaki nişasta ağırlığına oranı olarak hesaplanırken, % çözünürlük; üst fazda kalan kuru maddenin, başlangıçtaki nişasta ağırlığına oranı olarak hesaplanmıştır.

Sinerezis değerini belirlemek için ağırlıkça %5'lik nişasta süspansiyonu su banyosunda pişirildikten sonra karışım 4°C'lik buzdolabında depolanmıştır ve 2., 3., 4. ve 7. gün sonunda 5000 rpm'de santrifüj edildikten sonra ortaya çıkan serbest su miktarına göre sinerezis hesaplanmıştır [17].

Un örneklerinin % ışık geçirgenlik değeri Li ve ark. [16] tarafından yapılan çalışmaya benzer şekilde gerçekleştirilmiştir. Ağırlıkça %1 un çözeltisi pişirildikten sonra, 30°C'ye soğutulmuş ve daha sonra 4°C'deki buzdolabında depolanmıştır. Ardışık 5 gün boyunca örneklerin ışık geçirgenliği değeri 640 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) okunmuştur.

Un örneklerinin renk ölçümleri spektrofotometre (Konica Minolta, CM3600D, Japonya) kullanılarak CIE L\*a\*b\* renk uzayına göre ölçülmüştür. Bu renk uzayına göre L\*; parlaklık (0: siyah, 100: beyaz), +a\*; kırmızılık, -a\*; yeşillik, +b\*; sarılık ve -b\*; mavilik değerini göstermektedir.

## 2.3. Glutensiz erişte analizleri

Erişte örneklerinin nem, kül ve renk analizleri hammadde analizleri kısmında belirtilen yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir.

Glutensiz eriştelere pişme süresi (AACC 66-50.01), pişme kaybı, su tutma kapasitesi ve şişme indeksi AACC standartlarına göre belirlenirken [14], sonuçlar Denklem 2, 3 ve 4'e göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Pişme Kaybı} = \frac{W_{\text{kurutulan erişte suyu}}}{W_{\text{pişmemiş erişte}}} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{STK} = \frac{W_{\text{pişmiş erişte}} - W_{\text{pişmemiş erişte}}}{W_{\text{pişmemiş erişte}}} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Şişme İndeksi} = \frac{W_{\text{pişmiş erişte}} - W_{\text{pişip kurutulan erişte}}}{W_{\text{pişip kurutulan erişte}}} \quad (4)$$

Burada farklı indislerle gösterilen W, eriştelerin pişme analizlerinde kullanılan ağırlıkları temsil etmektedir.

## 2.4. İstatistiksel analizler

Sonuçlar SPSS yazılım versiyonu 20.0 kullanılarak analiz edilmiştir. Veriler, varyans analizi (ANOVA) kullanılarak incelenmiş ve ortalama değerler Duncan'ın çoklu kıyaslama testi kullanılarak %95'lik önem düzeyinde karşılaştırılmıştır. Ayrıca bazı sonuçlar yine SPSS yazılımı ile bağımsız örneklem t-testi kullanılarak %95 önem düzeyinde kıyaslanmıştır.

## 3. Bulgular

### 3.1. Hammadde analiz sonuçları

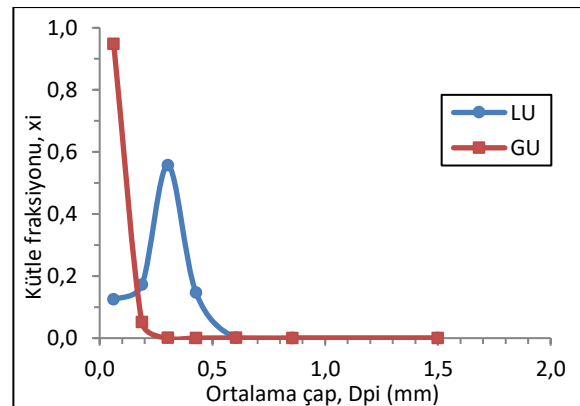
Tablo 2'de un örneklerinin fizikokimyasal özellikleri verilmiş olup, LU ve GU'nun nem içerikleri sırasıyla ortalama %4.40 ve %9.09 olarak bulunmuştur. Baklagiller potasyum, fosfor, magnezyum ve demir gibi mineral maddeler açısından zenginken [18], nohut; fosfor, kalsiyum ve demir içeriği bakımından zengindir. Tablo 1'de verilen sonuçlar incelendiğinde GU'nun kül içeriğinin LU'nun kül içeriğinden önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenirken ( $p < 0.05$ ), GU'nun LU'ya göre yapısında bulunan gam ve diğer gıda katkı maddeleri sebebiyle daha fazla mineral madde içeriğine sahip olduğu düşünülmektedir. Çalışmada LU için belirlenen kül miktarının literatürde verilen değerler ile uyumlu olduğu görülmektedir [9, 14, 19]. Ayrıca LU'nun yağ içeriğinin, GU'ya kıyasla önemli düzeyde yüksek olduğu bulunmuş olup ( $p < 0.05$ ), bu değerlerin de yine literatürdeki değerlerle uyumlu olduğu saptanmıştır [11, 14, 20].

Bu çalışmada unların protein içerikleri iki farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Kjeldahl yöntemiyle LU'nun protein içeriği ortalama %20.8 olarak belirlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda, farklı çeşitlerdeki leblebilerin protein içerikleri ortalama %19.4-26.2 arasında olduğu aktarılmaktadır [9,11,14]. Un örneklerinin suda çözünür protein içeriği incelendiğinde, LU'nun 4.79 mg BSA/g KM, GU'nun 0.37 mg BSA/g KM suda çözünür protein içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Suda çözünür proteinler, özellikle pişme sırasında dağılan

eriştelere suya geçen maddelerle beraber örnekten uzaklaşması sebebiyle eriştelerin besleyici içeriğinin belirlenmesi için önemli bir parametre olduğu düşünülmektedir.

Unların su tutma kapasitesi, unlardan elde edilecek hamurun işlenebilme özelliklerini iyileştirmekte ve elde edilen son üründe pişme sırasındaki nişasta jelatinizasyonu ve yapısında bulunan proteinlerin hidrasyon yeteneğini etkilemektedir. Bu çalışmada kullanılan unların su tutma kapasitesi %204.35-228.64 arasında bulunurken, LU'nun STK'sının GU'dan önemli düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Yapılan bir çalışmada nohut unun STK'sı %101.8 olarak belirtilirken [21], başka bir çalışmada %105 olarak bulunmuştur [2]. Unların şişme kuvveti, nişasta granülünün su tutma kapasitesinin bir göstergesi olup, nişastanın sıcaklık ve su içeriği gibi belirli şartlar altında hidratlaşma yeteneğinin bir ölçüsü olarak belirlenmektedir [22]. Şişme kapasitesinin yüksek olması, nişasta granüllerinin daha zayıf bağlanma kuvvetlerine sahip olmasının bir göstergesi olduğu bildirilmiştir [23]. Sonuçlar incelendiğinde, GU ve LU'nun şişme kuvvetleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ). Chung ve ark. [24] yaptıkları çalışmada, 3 farklı çeşit tohumdan üretilen nohut unlarının şişme gücünü %9.2-10.4 arasında bulmuşlardır ve elde edilen sonuçların bu çalışmadan biraz daha yüksek olduğu görülmektedir. Unların çözünürlük değerleri ise, çözünür protein ve nişasta miktarı ile ilişkili bir özellik olup [25], LU'nun çözünürlük değeri GU'ya kıyasla önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Di Cairano ve ark. [2] tarafından yapılan çalışmada, nohut ununun çözünürlük değerinin bu çalışmaya yakın olduğu (%26) bulunmuştur.

Şekil 2'de erişte üretiminde kullanılan unların parçacık boyutu dağılımı verilmiştir. Şekil incelendiğinde, GU'nun LU'dan daha homojen bir partikül boyutuna sahip olduğu görülürken, LU için ortalama parçacık çapı  $196.71 \pm 7.62 \mu\text{m}$  ve GU için ortalama  $64.77 \pm 0.30 \mu\text{m}$  bulunmuştur. Parçacık boyutu unların su tutma kapasitesini etkilerken, son ürünün dokusunda da bazı farklılıklara yol açabilmektedir.



Şekil 2. LU ve GU'nun parçacık boyutu dağılımı

**Tablo 2.** Un örneklerinin fizikokimyasal özellikleri

Örnek	Nem (% KM)	Kül (% KM)	Yağ (% KM)	Protein (% KM)	Suda çözünür protein (mg BSA/g KM)	STK (% KM)	Şişme kuvveti (g/g)	Çözünürlük (%)
LU	4.40±0.09*	2.61±0.03*	6.80±1.34*	20.78±2.10*	4.79±0.04*	228.64±2.87*	7.61±0.32	22.21±0.48*
GU	9.09±0.05*	3.39±0.03*	0.40±0.14*	3.12±3.12*	0.37±0.18*	204.35±1.98*	8.02±0.17	6.57±0.74*

\*Örnekler arasında farklılık vardır (t-testi, p<0.05)

Sinerezis, jelatinize nişasta zincirlerinin tekrar kristalleşmesini ve suyun salınmasını içeren nişasta jellerinde retrogradasyondan kaynaklanmaktadır [26]. Yapıda zayıf jel oluşumuna düşük amiloz içeriğinin yol açtığı ve sonucunda ise sinerezis değerinde artma gözlemlendiği bilinmektedir [26, 27]. Tablo 3 incelendiğinde en yüksek sinerezis değerinin 7. gün sonunda LU 'da olduğu görülmektedir. Sinerezis değerinin depolama süresine bağlı olarak her iki un örneği için önemli düzeyde arttığı saptanmıştır (p<0.05).

**Tablo 3.** Un örneklerinin sinerezis değerleri

Süre	Sinerezis (g/g)	
	LU	GU
2.gün	1.98±0.03 <sup>a</sup>	0.75±0.01 <sup>a</sup>
3.gün	2.21±0.05 <sup>b</sup>	1.01±0.18 <sup>b</sup>
4.gün	2.48±0.02 <sup>c</sup>	1.24±0.03 <sup>bc</sup>
7.gün	2.57±0.01 <sup>d</sup>	1.29±0.01 <sup>c</sup>

<sup>a-d</sup>Aynı sütunda bulunan farklı harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

Tablo 4'te örneklerin % ışık geçirgenliği değerleri verilmiştir. Un örneklerinin % ışık geçirgenliği nişasta süspansiyonunun retrogradasyonunu takip etmek için incelenen önemli parametrelerden biridir [16]. Retrogradasyon ilerledikçe nişastanın bulanıklığı azalmakta ve bu sayede ışık geçirgenliği artmaktadır. Işık geçirgenliğinin granül boyutu, granül morfolojisi, amiloz içeriği ve şişmiş ve şişmemiş granül kalıntılarında etkilendiği belirtilmiştir [16, 28].

Çalışmada belirlenen en yüksek ışık geçirgenliği değerine LU'nun sahip olduğu ve ışık geçirgenliği değerlerinin LU ve GU'da 6 gün boyunca önemli düzeyde bir azalma gösterdiği belirlenmiştir (p<0.05). Benzer şekilde Odabaş [29], patates nişastasının ışık geçirgenliğinin depolama sırasında azaldığını bulmuş, ancak mercimek unlarında ışık geçirgenliğinin depolamanın ilerleyen aşamalarında giderek arttığını gözlemlemiştir.

**Tablo 4.** Un örneklerinin % ışık geçirgenliği değerleri

Süre	% Işık geçirgenliği	
	LU	GU
1.gün	12.63±0.15 <sup>e</sup>	3.87±0.15 <sup>e</sup>
2.gün	12.07±0.50 <sup>de</sup>	3.20±1.00 <sup>d</sup>
3.gün	11.27±0.23 <sup>d</sup>	2.60±1.00 <sup>c</sup>
4.gün	9.20±0.10 <sup>c</sup>	1.20±0.00 <sup>b</sup>
5.gün	5.03±0.32 <sup>b</sup>	0.60±0.00 <sup>a</sup>
6.gün	2.47±0.32 <sup>a</sup>	0.47±0.06 <sup>a</sup>

<sup>a-e</sup>Aynı sütunda bulunan farklı harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

Un örneklerinin renk değerleri Tablo 5'te verilmiş olup, GU'nun parlaklık değerinin LU'dan önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. LU'nun b\* değerinin GU'ya kıyasla daha yüksek olmasının nohudun kavrulmasıyla beraber leblebide meydana gelen esmerleşmeden kaynaklı olduğu düşünülmektedir [9]. Yapılan bir çalışmada leblebinin L\* değeri 78.73, a\* değeri 2.25 ve b\* değeri 24.83 olarak bulunurken [30], başka bir çalışmada kırık leblebinin L\* değeri 59.82, a\* değeri 7.62, b\* değeri 22.49 olarak aktarılmıştır [9]. Renk değerlerindeki bu varyasyonun nohudun işlenmesi ve özellikle kavurma koşullarındaki olası farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

**Tablo 5.** Un örneklerinin renk değerleri

Örnek	L*	a*	b*
LU	77.77±0.05*	5.68±0.03*	24.37±0.04*
GU	95.53±0.01*	-0.40±0.00*	4.74±0.02*

\*Örnekler arasında farklılık vardır (t-testi, p<0.05)

### 3.2. Glutensiz erişte örneklerinin analiz sonuçları

Tablo 6'da glutensiz erişte örneklerinin nem, kül ve suda çözünür protein içerikleri verilmiştir. Glutensiz eriştelerin nem içerikleri %6.10-8.41 arasında bulunmuştur. En düşük nem içeriği kontrol örneğinde iken, en yüksek nem içeriği LU20 örneğinde bulunmuştur.

Glutensiz erişte örneklerinin kül içerikleri, artan oranlarda LU ilavesi ile önemli düzeyde azalma göstermiştir (p<0.05). GU'nun LU'dan daha yüksek kül içeriğine sahip olmasından kaynaklı olarak LU'nun artan oranlarda ilave edilmesi, kül içeriğinde azalmaya yol açmıştır (Tablo 2.). Padalino ve ark. [31] yaptıkları çalışmada, nohut unu ile zenginleştirilmiş mısır bazlı eriştelere artan oranda nohut unu ilavesi ile kül içeriğinde artış meydana geldiğini belirtirken, nem içeriğinde bir azalma meydana geldiğini bulmuşlardır.

Suda çözünür protein değerleri incelendiğinde, en düşük değer kontrol örneğinde olduğu, en yüksek ise LU60 örneğinde bulunduğu görülmektedir. LU'nun artan oranlarda ilave edilmesinin suda çözünür protein içeriğinde önemli düzeyde artış sağladığı saptanmıştır (p<0.05). Odabaş [29] yaptığı çalışmada, glutensiz eriştelerin sarı mercimek unu ile artan oranlarda zenginleştirilmesinin bu çalışmaya benzer şekilde suda çözünür protein içeriğini önemli düzeyde arttırdığını belirlemiştir (p<0.05).

**Tablo 6.** Glutensiz erişte örneklerinin kimyasal bileşimi

Örnek	Nem (% KM)	Kül (% KM)	Suda çözünür protein (mg BSA/g KM)
K	6.10±0.28 <sup>a</sup>	3.32±0.01 <sup>e</sup>	11.54±0.01 <sup>a</sup>
LU10	7.64±0.29 <sup>c</sup>	3.30±0.03 <sup>e</sup>	12.37±0.12 <sup>b</sup>
LU20	8.41±0.08 <sup>e</sup>	3.18±0.07 <sup>d</sup>	13.14±0.13 <sup>c</sup>
LU30	8.10±0.04 <sup>d</sup>	3.11±0.05 <sup>d</sup>	14.78±0.04 <sup>d</sup>
LU40	7.04±0.02 <sup>b</sup>	3.01±0.04 <sup>c</sup>	14.44±0.31 <sup>d</sup>
LU50	7.04±0.03 <sup>b</sup>	2.90±0.05 <sup>b</sup>	15.17±0.11 <sup>e</sup>
LU60	6.21±0.04 <sup>a</sup>	2.78±0.04 <sup>a</sup>	16.71±0.18 <sup>f</sup>

<sup>a-f</sup>Aynı sütunda bulunan farklı harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

Tablo 7’de glutensiz erişte örneklerinin pişme kalitesi sonuçları verilmiştir. LU’nun artan oranlarda ilave edilmesi pişme süresini önemli düzeyde kısaltmıştır (p<0.05). Pişme süresinin LU miktarına bağlı olarak kışalmasını, azalan nişasta ile artan protein içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir [6]. Edilmesi pişme süresini önemli düzeyde kısaltmıştır (p<0.05). Bu çalışmaya benzer şekilde, Padalino ve ark. [31] nohut unundan üretilen spagettide, Odabas [29] ise sarı mercimek unundan üretilen glutensiz erişte de baklagil unu artışının bu çalışmaya benzer şekilde pişme süresini azalttığını bildirmişlerdir.

Mineral maddeler pişme sırasında pişme suyuna sızdığı için eriştinin besleyici kalitesi düşmektedir. Bu nedenle kaliteli eriştelerin pişme kaybının düşük üretilen glutensiz eriştelerde pişme kaybı, artan oranda LU eklenmesi ile önemli düzeyde artış göstermiştir (p<0.05). En yüksek pişme kaybı LU60’ta belirlenmiştir, ancak bu değer literatürde belirtilen nişastalı erişteler için kabul edilebilir pişme kaybı olan %10’dan az olduğu görülmektedir [33]. Baklagil unlarının artan oranlarda spagetti ve erişteye ilave edilmesinin bu çalışmaya benzer şekilde pişirme kaybını artırdığı literatürde bildirilmiştir [29, 34]. Chillo ve ark. [35] yaptıkları çalışmada, amarant bazlı nohut spagettisinin pişme süresinin 7 dk ve pişme kaybının %9.2 olduğunu belirtmişlerdir.

Pişirme sırasında eriştelerin su tutma kapasitesi ve şişme indeksi değerlerinin yüksek olması istenilen özelliklerden biri olup, bu değerlerin yüksek olması pişme sonrası eriştelerin sert bir tekstüre sahip olmasına neden olmaktadır [29, 36]. LU’nun artan

**Tablo 7.** Glutensiz erişte örneklerinin pişme özellikleri

Örnek	Pişme süresi (dk)	Pişme kaybı (g/g)	Su tutma kapasitesi (%)	Şişme indeksi (%)
K	12.00±0.71 <sup>d</sup>	7.59±0.06 <sup>a</sup>	288.70±1.39 <sup>e</sup>	3.31±0.04 <sup>c</sup>
LU10	11.00±0.71 <sup>cd</sup>	8.00±0.26 <sup>ab</sup>	282.16±2.89 <sup>e</sup>	3.28±0.05 <sup>c</sup>
LU20	10.50±0.71 <sup>cd</sup>	8.39±0.03 <sup>bc</sup>	274.42±3.78 <sup>d</sup>	3.11±0.14 <sup>c</sup>
LU30	10.00±0.71 <sup>bc</sup>	8.51±0.51 <sup>cd</sup>	237.70±2.16 <sup>c</sup>	2.82±0.08 <sup>b</sup>
LU40	9.50±0.71 <sup>bc</sup>	8.73±0.36 <sup>de</sup>	227.61±3.55 <sup>b</sup>	2.71±0.07 <sup>ab</sup>
LU50	8.50±0.71 <sup>ab</sup>	9.00±0.05 <sup>de</sup>	221.34±0.79 <sup>b</sup>	2.62±0.04 <sup>ab</sup>
LU60	7.50±0.71 <sup>a</sup>	9.25±0.21 <sup>e</sup>	211.05±4.12 <sup>a</sup>	2.54±0.16 <sup>a</sup>

<sup>a-e</sup>Aynı sütunda bulunan farklı harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

oranlarda ilave edilmesi su tutma kapasitesi ve şişme indeksinde azalmaya neden olmuştur. Yapılan çalışmalarda, pişme süresinin kısalması ile su tutma kapasitesinin azaldığı bildirilmiştir [29, 34]. Çünkü yapıda bulunan fazla su, pişme sırasında nişasta ve protein matrisleriyle etkileşime girebilmektedir.

Gıda ürünlerinin rengi, tüketici tercihini etkileyen birincil kalite faktörüdür. Erişte örneklerinin renk değerleri incelendiğinde (Tablo 8), LU oranı artışının eriştelerin L\* değerinde düşüşe neden olduğu bulunmuştur. En yüksek a\* değeri ve en yüksek b\* değeri LU60’ta gözlemlenirken, en düşük a\* ve b\* değerlerinin ise nişasta temelli ticari glutensiz un karışımından üretilen kontrol örneğinde olduğu bulunmuştur. Nohut unu ile zenginleştirilmiş mısır unlu eriştelerin renk değerlerinin incelendiği bir çalışmada, nohut ununun artan oranda ilave edilmesinin L\* değerini düşürdüğü bildirilirken [31], yapılan başka bir çalışmada, kırık leblebi ununun artan oranlarda mufinlere ilave edilmesinin benzer şekilde L\* değerini düşürdüğü bildirilmiştir [9].

**Tablo 8.** Glutensiz erişte örneklerinin renk değerleri

Örnek	L*	a*	b*
K	90.72±0.25 <sup>g</sup>	1.44±0.01 <sup>a</sup>	12.88±0.10 <sup>a</sup>
LU10	90.21±0.15 <sup>f</sup>	1.72±0.01 <sup>b</sup>	13.83±0.06 <sup>b</sup>
LU20	86.76±0.06 <sup>e</sup>	2.60±0.02 <sup>c</sup>	16.06±0.15 <sup>c</sup>
LU30	83.88±0.07 <sup>d</sup>	3.47±0.02 <sup>d</sup>	18.18±0.04 <sup>d</sup>
LU40	82.34±0.05 <sup>c</sup>	3.92±0.05 <sup>e</sup>	19.49±0.03 <sup>e</sup>
LU50	81.85±0.13 <sup>b</sup>	3.98±0.01 <sup>f</sup>	19.88±0.15 <sup>f</sup>
LU60	79.79±0.14 <sup>a</sup>	4.34±0.01 <sup>g</sup>	20.17±0.14 <sup>g</sup>

<sup>a-g</sup>Aynı sütunda bulunan farklı harfler, örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05)

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, atık veya değersiz bir yan ürün olarak sınıflandırılan kırık leblebiden üretilen leblebi unu ile besleyici içeriği iyileştirilmiş glutensiz erişte üretimi gerçekleştirilmiştir. Ticari glutensiz un karışımı ve kırık leblebi ununun mineral madde içeriklerinin yüksek olmasına bağlı olarak bu unlardan üretilen glutensiz eriştelerin kül içerikleri yüksek bulunmuştur. Ham protein ve suda çözünür protein içeriği yüksek olan LU’dan üretilen eriştelerin suda çözünür protein içerikleri, LU’nun artışına bağlı olarak önemli düzeyde arttığı bulunmuş olup

( $p < 0.05$ ), bir yan ürün olan kırık leblebinin glutensiz ürünlerin protein içeriğini arttırmak amacıyla rahatlıkla kullanılabilmesi görülmektedir. Ayrıca LU'nun artan oranlarda ilave edilmesi ile üretilen glutensiz erişte örneklerinin optimum pişme süresi kısalırken, pişme kaybının arttığı belirlenmiştir. Ancak söz konusu pişme kaybı tüm örnekler için kabul edilebilir sınırın altında kalarak üretilen eriştelerin pişme kalitesinin kabul edilebilir düzeyde olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda artan oranlarda LU ilavesi, pişme süresinin kısalmasından kaynaklı olarak su tutma kapasitesi ve şişme indeksinin azalmasına neden olmuştur.

Bu sonuçlar ışığında, glutensiz erişte üretiminde düşük kalitede yan ürün olan kırık leblebi ununun kullanılması, üretilen glutensiz eriştelerin besin içeriğinin ve kalitesinin iyileştirilmesinde yardımcı olduğu belirlenmiş olup, bu unun diğer glutensiz ürünlerde benzer amaçlarla kullanılması konusunda çalışmalar yapılabileceği öngörülmektedir.

### Kaynakça

- [1] Elli, L., Branchi, F., Tomba, C., Villalta, D., Norsa, L., Ferretti, F., Bardella, M. T. 2015. Diagnosis of Gluten Related Disorders: Celiac Disease, Wheat Allergy and Non-Celiac Gluten Sensitivity. *World Journal of Gastroenterology*, 21(23), 7110.
- [2] Di Cairano, M., Condelli, N., Caruso, M. C., Marti, A., Cela, N., Galgano, F. 2020. Functional Properties and Predicted Glycemic Index of Gluten Free Cereal. *Pseudocereal and Legume Flours*, 133, 109860.
- [3] Serin, Y., Akbulut, G. 2017. Çölyak Hastalığı ve Glutensiz Diyet Tedavisine Güncel Yaklaşım. *Türkiye Klinikleri Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(3), 192-200.
- [4] Anonim 2012. Türk Gıda Kodeksi Gluten İntoleransı Olan Bireylere Uygun Gıdalar Tebliği (Tebliğ No: 2012/4). <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/01/20120104-8.htm>. (Erişim Tarihi: 04.01.2022).
- [5] Zhang, S. B., Lu, Q. Y., Yang, H., Meng, D. D. 2011. Effects of Protein Content, Glutenin-to-Gliadin Ratio, Amylose Content, and Starch Damage on Textural Properties of Chinese Fresh White Noodles. *Cereal Chemistry*, 88(3), 296-301.
- [6] El-Sohaimy, S. A., Brennan, M., Darwish, A. M., Brennan, C. 2020. Physicochemical, Texture and Sensorial Evaluation of Pasta Enriched with Chickpea Flour and Protein Isolate. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(1), 28-34.
- [7] Pellegrini, N., Agostoni, C. 2015. Nutritional Aspects of Gluten-Free Products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(12), 2380-2385.
- [8] Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C. G. 2007. Effects of Hydrocolloids on Dough Rheology and Bread Quality Parameters in Gluten-Free Formulations. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1033-1047.
- [9] Ataman, Ç., Gül, H. 2020. Leblebi Üretiminde Yan Ürün Olarak Açığa Çıkan Kırık Leblebi Ununun Mufin Kalitesi Üzerine Etkisi. *Black Sea Journal of Agriculture*, 3(4), 308-316.
- [10] Kaur, R., Prasad, K. 2021. Nutritional Characteristics and Value-Added Products of Chickpea (*Cicer arietinum*)—A Review. *Journal of Postharvest Technology*, 9(2), 1-13.
- [11] Coşkun, Y., Karababa, E. 2004. Leblebi: a Roasted Chickpea Product as a Traditional Turkish Snack Food. *Food Reviews International*, 20(3), 257-274.
- [12] Özbey, F., 2018. Tarihten Gelen Lezzet Çorum Leblebisi. *Çorum Belediyesi Kültür ve Sosyal İşler Müdürlüğü, Çorum*.
- [13] Özbey, F., Görgülü, M. 2016. Survey of Trace Element and Dietetic Fiber Composition of "Leblebi" Which is a Local Snack Food Consumed in Turkey. *Food Science and Technology*, 36, 351-355.
- [14] AACC. 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 11th Edition, St. Paul, MN, USA.
- [15] Aydemir, L. Y., Akçakaya, F. G. 2019. Determination of the Best Functional Chickpea Cultivars by TOPSIS Technique. *Food and Health*, 5(4), 239-252.
- [16] Li, W., Tian, X., Liu, L., Wang, P., Wu, G., Zheng, J., Zhang, G. 2015. High Pressure Induced Gelatinization of Red Adzuki Bean Starch and Its Effects on Starch Physicochemical and Structural properties. *Food Hydrocolloids*, 45, 132-139.
- [17] Sodhi, N. S., Singh, N. 2003. Morphological, Thermal and Rheological Properties of Starches Separated From Rice Cultivars Grown in India. *Food Chemistry*, 80(1), 99-108.
- [18] Ertop, M. H., Bektaş, M., Atasoy, R. 2020. Effect of Cereals Milling on the Contents of Phytic Acid and Digestibility of Minerals and Protein. *Ukrainian Food Journal*, 9(1), 136-147.
- [19] Barışık, D., Tavman, Ş. 2018. Glütensiz Ekmek Formülasyonlarında Nohut Unu Kullanımının Ekmegin Kalitesi Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda*, 16(1), 33-41.
- [20] Sayaslan, A., Akarçay, E., Tokatlı, M. 2016. Kavrulmuş Mısır, Buğday ve Nohut Leblebi

- Çerezlerinin Beslenme Açısından Önemli Karbonhidrat Fraksiyonları. *Akademik Gıda*, 14(3), 284-292.
- [21] Jagannadham, K., Parimalavalli, R., Babu, A. S., Rao, J. S. 2014. A study on Comparison Between Cereal (Wheat) and Non Cereal (Chickpea) Flour Characteristics. *International Journal Current Trend Research*, 3(2), 70-76.
- [22] Tiwari, B. K., Gowen, A., McKenna, B. (Eds.). 2011. *Pulse foods: Processing, Quality and Nutraceutical Applications*. Academic Press.
- [23] Mir, S. A., Bosco, S. J. D. 2014. Cultivar Difference in Physicochemical Properties of Starches and Flours from Temperate Rice of Indian Himalayas. *Food Chemistry*, 157, 448-456.
- [24] Chung, H. J., Liu, Q., Hoover, R., Warkentin, T. D., Vandenberg, B. 2008. In Vitro Starch Digestibility, Expected Glycemic Index, and Thermal and Pasting Properties of Flours from Pea, Lentil and Chickpea Cultivars. *Food Chemistry*, 111(2), 316-321.
- [25] Wang, L., Xie, B., Shi, J., Xue, S., Deng, Q., Wei, Y., Tian, B. 2010. Physicochemical Properties and Structure of Starches from Chinese Rice Cultivars. *Food Hydrocolloids*, 24(2-3), 208-216.
- [26] Kaur, A., Shevkani, K., Singh, N., Sharma, P., Kaur, S. 2015. Effect of Guar Gum and Xanthan Gum on Pasting and Noodle-Making Properties of Potato, Corn and Mung Bean Starches. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 8113-8121.
- [27] Demirkesen, H. 2015. Kara nohut nişastasından enzimatik yöntemle elde edilen dirençli nişastanın fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri. *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul*.
- [28] Li, W., Bai, Y., Mousaa, S. A., Zhang, Q., Shen, Q. 2012. Effect of High Hydrostatic Pressure on Physicochemical and Structural Properties of Rice starch. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2233-2241.
- [29] Odabas, E., 2021. Isıl işlem görmüş mercimek ununun glutensiz erişte kalitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Hitit Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çorum*.
- [30] Jogihalli, P., Singh, L., Kumar, K., Sharanagat, V. S. 2017. Novel Continuous Roasting of Chickpea (*Cicer arietinum*): Study on Physico-Functional, Antioxidant and Roasting Characteristics. *LWT*, 86, 456-464.
- [31] Padalino, L., Mastromatteo, M., Lecce, L., Spinelli, S., Conte, A., Alessandro Del Nobile, M. 2015. Optimization and Characterization of Gluten-Free Spaghetti Enriched with Chickpea Flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(2), 148-158.
- [32] Petitot, M., Boyer, L., Minier, C. ve Micard, V. 2010. Fortification of Pasta with Split Pea and Faba Bean Flours: Pasta Processing and Quality Evaluation. *Food Research International*, 43(2), 634-641.
- [33] Kim, Y. S., Wiesenborn, D. P., Lorenzen, J. H., Berglund, P. 1996. Suitability of Edible Bean and Potato Starches for Starch Noodles. *Cereal Chemistry*, 73(3), 302-308.
- [34] Chillo, S., Laverse, J., Falcone, P. M., Del Nobile, M. A. 2008. Quality of Spaghetti in Base Amaranthus Wholemeal Flour Added with Quinoa, Broad Bean and Chickpea. *Journal of Food Engineering*, 84(1), 101-107.
- [35] Giuberti, G., Gallo, A., Cerioli, C., Fortunati, P., Masoero, F. 2015. Cooking Quality and Starch Digestibility of Gluten-Free Pasta Using New Bean Flour. *Food Chemistry*, 175, 43-49.
- [36] Bhattacharya, M., Zee, S. Y., Corke, H. 1999. Physicochemical Properties Related to Quality of Rice Noodles. *Cereal Chemistry*, 76(6), 861-867.

## Yeni CDK<sub>2</sub> İnhibitörlerinin Keşfedilmesi İçin Bazı Piridazin Türevi Bileşiklerin SAR Analizi ve Kenetlenme Çalışması

Vildan ENİSOĞLU ATALAY\*<sup>1</sup>, Yeşim AYIK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34662, İstanbul, Türkiye

(Alınış / Received: 07.01.2022, Kabul / Accepted: 17.05.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

Piridazin,  
Moleküler kenetlenme,  
CDK<sub>2</sub>,  
Antikanser

**Öz:** Doğada nadir olarak bulunan ve çoğu canlının yaşamı için elzem olan makro moleküllerin yapı taşları arasında yer alan piridazinler pek çok farklı biyolojik aktiviteye sahip olan bir heterosiklik bileşik ailesidir. Bu çalışmada Ünal ve grubu tarafından sentezlenen yeni 8 farklı piridazin türevi bileşiğin DNA replikasyonu gibi önemli hücrel süreçlerde rol alan ve bu nedenle aktivitesinde gözlenen anormalliklerin kanser patolojisi ile ilişkili olduğu belirlenen siklin bağımlı kinaz 2 (CDK2) inhibitörü olabilme potansiyellerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda bileşiklerin konformer taramaları SPARTAN'14 programı üzerinde yarı deneysel PM6 yöntemi ile, geometri optimizasyonları ve Yapı-Aktivite İlişkileri (SAR) analizleri ise HF/6-31G(d) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir bileşiğin çalışmanın amacı doğrultusunda seçilen aktif bölgelere moleküler kenetlenme işlemleri ise Autodock Tools-1.5.6 ve Autodock Vina programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda; incelenen bileşikler arasından en iyi afinite değerlerine sahip olan 1a2b (-10,8 kkal.mol<sup>-1</sup>) ve 1b2b (-10,5 kkal.mol<sup>-1</sup>) bileşiklerinin CDK2 inhibitörü olabilme potansiyellerinin yüksek olduğu belirlenmiş ve yeni antikanser ajanı ligandların tasarımında bu bileşiklerin öne çıkan özelliklerinin dikkate alınmasıyla birlikte ilgili ileri düzey çalışmaların yapılması gerektiği açığa çıkmıştır.

## SAR Analysis and Molecular Modeling Study of Some Pyridazine Derivatives for Discovery of New CDK<sub>2</sub> Inhibitors

### Keywords

Pyridazine,  
Molecular docking,  
CDK<sub>2</sub>,  
Anticancer

**Abstract:** Pyridazines, which are rarely found in nature and are among the building blocks of macromolecules that are essential for the life of most living things, are a family of heterocyclic compounds with many different biological activities. In this study, it was aimed to examine the potential of 8 different pyridazine derivative compounds synthesized by Ünal et al. to be cyclin-dependent kinase 2 (CDK<sub>2</sub>) inhibitors, which take role in important cellular processes such as DNA replication so that the abnormalities observed in their activities are determined to be associated with cancer pathology. For this purpose, the conformer searches of the compounds were performed using the semi-experimental PM6 method on the SPARTAN'14 program, the geometry optimizations and Structure-Activity Relations (SAR) analyzes were performed using the HF/6-31G(d) method. Furthermore, molecular docking studies of each compound for the selected active sites for the purpose of the study was carried out using Autodock Tools-1.5.6 and Autodock Vina programs. As a result of the study; it was determined that 1a2b (-10.8 kcal.mol<sup>-1</sup>) and 1b2b (-10.5 kcal.mol<sup>-1</sup>) compounds, which have the best affinity values among the compounds examined, have a high potential to be CDK<sub>2</sub> inhibitors and it was become clear that advanced studies should be carried out considering the prominent features of these compounds for the design of new anticancer ligands.

### 1. Giriş

İlaç keşfi oldukça fazla zaman alıcı (~10 yıl) ve pahalı bir alandır [1]. Ancak son zamanlarda hesaplamalı kimya alanında yaşanan gelişmeler hesaplamalı ilaç

dizaynı süreçlerinin gelişmesine katkı sağlamıştır. Böylece çeşitli hesaplamalı tekniklerle biyolojik ve kimyasal sistemlerin önemli fizikokimyasal özelliklerini tahmin etmek mümkün olmuştur [2].

\*İlgili yazar: vildan.enisoglu@uskudar.edu.tr

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı, ilaçları ve ilaçlarla bağlantılı biyolojik olarak aktif molekülleri keşfetmek, geliştirmek veya incelemek için hesaplamalı prensibi kimyaya uygulayarak kullanılmaktadır [3, 4]. Hesaplamalı yöntemlerden biri olan moleküler kenetlenme; bir makromolekül (reseptör) ile küçük bir molekülün (ligand) non-kovalent/kovalent bağlanmasını öngörmeye çalışan bir süreçtir [3, 5]. Hesaplamalı teknikler, atomik seviyedeki reseptör-ilaç etkileşimlerini yakından değerlendirerek yeni ve daha güçlü inhibitörlerin tasarımını kolaylaştırmaktadır [6]. Bu doğrultuda bu çalışmada moleküler kenetlenme yöntemi kullanılarak bazı piridazin türevi bileşiklerin siklin bağımlı kinaz 2 (CDK2) inhibitörü olabilme potansiyelleri incelenmiştir.

Hücre döngüsünün zamanında ve eşgüdümlü ilerlemesi, serin/treonin kinazların bir ailesi olan siklin bağımlı protein kinazların (CDK'lerin) sıralı bir şekilde aktivasyonu ve deaktivasyonu ile kontrol edilmektedir [7, 8]. Bu önemli göreve ek olarak CDK'ler hücre bölünmesinin düzenlenmesi, transkripsiyon ve hücre iskeletinin yapısının korunması gibi önemli hücresel süreçlerde de rol almaktadır [7]. Ayrıca anormal CDK aktivitesi ve hücre döngüsünün kontrolündeki ilgili bozulma doğrudan kanser moleküler patolojisi ile de bağdaştırılabilmektedir [8].

CDK2 enzim ailesi hücre döngüsünün G<sub>1</sub> ve S fazları arasındaki geçiş için gereklidir ve DNA replikasyonunu düzenlemektedir [4, 8]. CDK2'ler N-terminal alanı ve C-terminal alanı olmak üzere iki lobdan oluşmakta ve bu enzime bağlanacak olan ATP ve tüm inhibitörler loblar arasındaki derin yarıқта bağlanmaktadır [4]. CDK2 inhibitörleri, hücre döngüsünde G<sub>1</sub> fazından S fazına geçişi bloke ederek kinaz aktivitelerini azaltmaktadır [7]. Bu nedenlerle CDK2 enzimi ve inhibitörleri kanser de dâhil olmak üzere birçok proliferatif hastalığın tedavisinde potansiyel bir terapötik hedef olarak tanınmaktadır [3, 7, 8].

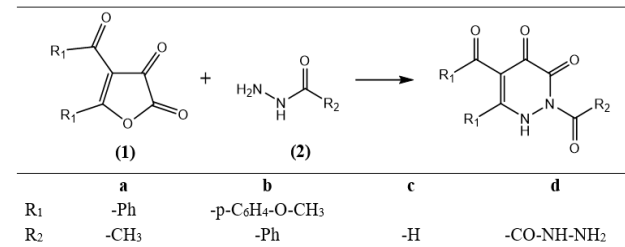
Literatür incelendiğinde Vijayan ve ark. tarafından yapılan çalışmada kuersetin ve onun glikozit bir türevi olan kuersitrinin X-ışını çözünürlükleri <3Å olan 15 farklı serin/treonin protein kinazlar üzerindeki inhibitör aktiviteleri araştırılmış ve CDK2 ailesini temsil etmesi için 4EK4 proteinini kullanarak moleküler kenetlenme işlemi gerçekleştirdiklerinde ligandların 4EK4 proteini içerisindeki Leu83, Gln131 ve Asp145 aminoasitleri ile etkileşimde bulduklarını; diğer serin/treonin protein kinaz örneği proteinleri kullandıklarında da ligandların çeşitli aminoasitlerle çeşitli etkileşimler kurduklarını gözlemlemiştir.

Piridazin ve piridin türevi bileşikler pürin bazlı CDK2 inhibitörleridir ve antikanser ajanlar olarak kullanım çalışmaları mevcuttur [7]. Piridazin türevi bileşikler

tıbbi kimyada oldukça önem taşıyan ve doğada nadir olarak bulunan en önemli heterosiklik bileşiklerden bir tanesidir [9]. 1,2-diazin olarak da adlandırılan piridazin en basit diazinlerden biridir ve iki komşu azot atomu içeren altı üyeli düzlemsel bir halka yapısındadır [9–11]. Azin ve diazin halkaları, DNA da dâhil olmak üzere birçok biyolojik sistemin yapısında ve işlevinde önemli bir rol oynamaktadır [12]. Bununla birlikte diazin halkaları, pek çok önemli doğal ve sentetik bileşiğin (örneğin nükleotidlerin) de yapı taşlarıdır [11].

Azot içeren heterosiklik bileşikler, çok çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptir [9]. Piridazin türevi heterosiklikler de geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahiptir [13]. Örneğin; pek çok sitostatik ilaçta ve fungusidlerde antifungal/antitümör etkilere sahip olan piridazin çekirdekleri bulunmaktadır [14]. Ek olarak piridazin türevi bileşiklerin analjezik, antikonvülsif, anti-inflamatuvar, antitermik, antiülser, antidepresan, antiviral, antihipertansif, antibakteriyel vb. etkiler gösterdikleri de bilinmektedir [15].

Piridazin yapısı popüler bir farmakofordur ve bu nedenle piridazin çekirdeği farmakolojik olarak aktif olan yeni bileşikler geliştirmek için çok yönlü bir iskelet olarak kullanılmaktadır [9, 13]. Bununla beraber diğer farmakoforik grupları birbirine bağlamak için de kullanımı mümkün olmaktadır [13]. Bu çalışmada; Ünal ve grubu tarafından yayınlanan ve Şekil 1'de gösterilen prosedüre göre, 4-benzoil-5-fenil-2,3-furandion ve 4-(4-metoksibenzoil)-5-(4-metoksifenil)-2,3-furandion'un bazı açıl hidrazinleri arasındaki reaksiyon sonucu oluşan 8 farklı piridazin türevi bileşiğin CDK2 inhibitörü olabilme potansiyelleri araştırılmıştır.



Şekil 1. Çalışılan 8 farklı piridazin türevi bileşik [15]

Çalışmada CDK2 enzim ailesine ait olan ve aminopirazol inhibitörü ile kompleks halinde bulunan bir enzim (PDB kodu: 4EK4) kullanılmıştır. Bu enzim-inhibitör kompleksi oldukça düşük olan X-Ray çözünürlüğü (1,26 Å) sebebiyle tercih edilmiştir.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Moleküler yapılar, yapıların optimizasyonu ve SAR analizleri

Çalışmada kullanılan piridazin türevi bileşiklerin konformer taramaları SPARTAN'14 programı [16] kullanılarak yarı deneysel PM6 yöntemi [17, 18] ile



yapılmıştır. Aynı program aracılığıyla kararlı konformerlerin geometri optimizasyonları ve Yapı-Aktivite İlişkileri (SAR) analizleri HF/6-31G(d) [19-21] yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan SAR analizleri sonucunda bileşiklerin moleküler hacim (MV, Å<sup>3</sup>), moleküler ağırlık (M<sub>A</sub>, amu), moleküler yüzey alanı (A, Å<sup>2</sup>), moleküler dipol moment (μ, debye), logP (1-oktanol/su bölme katsayısı), polarizabilite, ovallık gibi kuantum kimyasal parametreleri hesaplanmıştır. Bunlara ek olarak; moleküllerin elektrostatik potansiyel haritaları oluşturularak lipofiliklik ve hidrofilitiklikleri karşılaştırılmıştır.

## 2.2. Moleküler kenetlenme işlemi

Moleküler kenetlenme işleminden önce; CDK<sub>2</sub> inhibitörü olma potansiyelleri araştırılan piridazin türevi 8 bileşiğin 4EK4 enzimine bağlanması için gerekli olan boşluğu sağlamak amacıyla Discovery Studio Visualizer [22] programı kullanılarak 4EK4-aminopirazol kompleksi, 4EK4 enzimi ve aminopirazol bileşiği olarak ayrılmıştır.

Yapılan literatür taraması sonucunda piridazin türevi bileşiklerin 4EK4 enzimi içerisinde etkileşimde buldukları Leu83, Gln131 ve Asp145 olarak adlandırılan 3 ayrı aminoasit tespit edilmiş ve bu aminoasitlerin karbonil gruplarının karbon atomları, x, y ve z koordinatları sırasıyla (-5.876, -4.035, 30.793), (-2.755, -9.024, 21.521) ve ( 4.575, -2.714, 20.057) olmak üzere, ligandların 4EK4 enzimi ile kenetleneceği aktif bölgeler olarak seçilmiştir. Bu çalışmada kullanılan ligandların tamamının bu 3 aktif bölgeye ayrı ayrı kenetlenme işlemleri Autodock Tools-1.5.6 [23] ve Autodock Vina [24] programları kullanılarak; x, y, ve z boyutlarının ölçüleri 40x40x40Å<sup>3</sup> olan bir küp oluşturularak gerçekleştirilmiş ve böylece bileşiklerin 4EK4 enzimi içerisinde yer alan 3 farklı aktif bölgeye afiniteleri ayrı ayrı hesaplanmıştır.

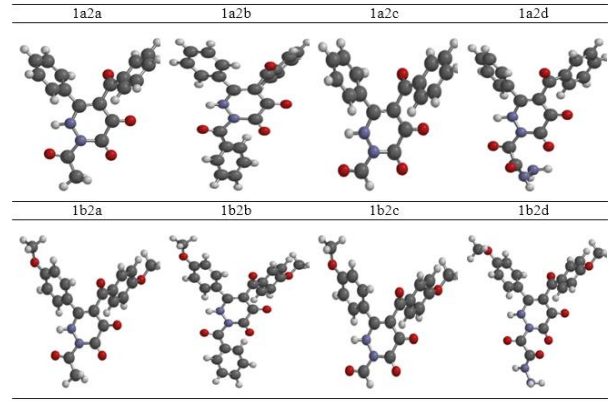
## 2.3. Etkileşimde bulunan aminoasitlerin analizi

Kullanılan bileşiklerin 3 farklı aktif bölgeye kenetlenme işlemleri gerçekleştirildikten sonra bu bileşiklerin 4EK4 enzimi içerisinde etkileşimde buldukları aminoasitler, gerçekleştirilen etkileşimlerin tipleri ve bağ uzunlukları Discovery Studio Visualizer [22] programı aracılığıyla analiz edilmiştir. Ek olarak Autodock Tools-1.5.6 programı [23] aracılığı ile de ligandların kenetlenme sonrası her bir aktif bölgede etkileşimde buldukları aminoasitler görüntülenmiş, elde edilen şekiller ekler kısmında verilmiştir.

## 3. Bulgular

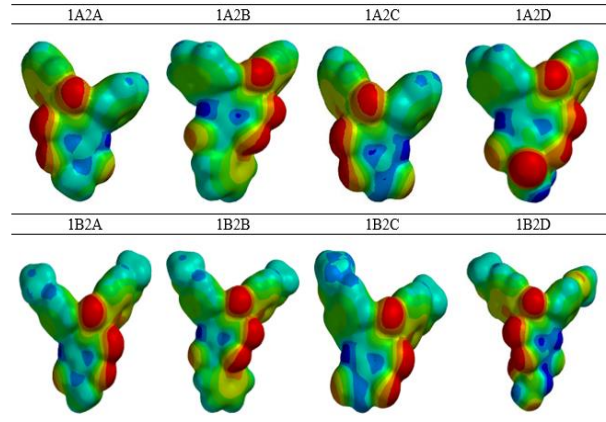
### 3.1. Optimize edilmiş moleküler yapılar

Ligand olarak kullanılan bileşiklerin optimize edilmiş 3 boyutlu moleküler yapıları Şekil 2'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Çalışılan ligandların 3 boyutlu moleküler yapıları: 1a2a: 2-Asetil-5-benzoil-6-fenil-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1a2b: 3,5-Dibenzoil-6-fenil-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1a2c: 4-(4-Metoksi-benzoil)-3-(4-metoksi-fenil)-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1a2d: 4-Benzoil-5,6-diokso-3-fenil-5,6-dihidro-2H-piridazin-1-il-okso-asetik asit hidrazit; 1b2a: 2-Asetil-5-(4-metoksi-benzoil)-6-(4-metoksi-fenil)-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1b2b: 2-Benzoil-5-(4-metoksi-benzoil)-6-(4-metoksi-fenil)-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1b2c: 4-(4-Metoksi-benzoil)-3-(4-metoksi-fenil)-5,6-diokso-5,6-dihidro-2H-piridazin-1-karbaldehit; 1b2d: 4-(4-Metoksi-benzoil)-3-(4-metoksifenil)-5,6-diokso-5,6-dihidro-2H-piridazin-1-il-oksoasetik asit hidrazit

Ligand olarak kullanılan bileşiklerin moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları Şekil 3'te gösterilmiştir.



**Şekil 3.** Çalışılan ligandların moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları

### 3.2. Moleküler kenetlenme işlemi ve SAR analizleri sonuçları

Çalışmada kullanılan ligandların 3 farklı aktif bölgeye ayrı ayrı kenetlenme işlemleri sonucu elde edilen afiniteleri ve SAR analizi sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

### 3.3. Etkileşimde bulunan aminoasitlerin analizi

Hesaplamaları yapılan 8 adet piridazin türevi ligandın çalışılan 4EK4 enziminin sırasıyla Asp145, Gln131 ve Leu83 olmak üzere seçilen aktif bölge merkezleri için her bir ligandın etkileşime girdiği aminoasitler ve

**Tablo 1.** Moleküler kenetlenme işlemi ve SAR analizleri sonuçları

Ligand	logP	MV	$\mu$	Polarizabilite	Afinite (kcal.mol <sup>-1</sup> )		
					Leu83	Gln131	Asp145
1a2a	0,73	325,96	5,51	62,25	-9,6	-9,5	-9,6
1a2b	1,83	391,05	6,00	70,56	-10,7	-10,8	-10,8
1a2c	0,47	308,37	6,16	63,85	-9,3	-9,3	-9,4
1a2d	-0,39	350,06	7,19	67,23	-9,1	-9,1	-9,1
1b2a	-1,22	379,43	5,66	69,70	-8,6	-8,6	-8,6
1b2b	-0,12	444,55	5,39	75,01	-10,4	-10,5	-10,5
1b2c	-1,49	361,85	6,87	68,32	-9,1	-9,0	-9,1
1b2d	-2,34	404,23	7,21	71,78	-8,8	-9,0	-9,0

**Tablo 2.** Etkileşimde bulunan aminoasitler ve etkileşim türleri

Etkileşim Türü	1a2a	1a2b	1a2c	1a2d	1b2a	1b2b	1b2c	1b2d
Sigma- $\pi$	Ile10	Ile10, Leu134	Ile10	Ile10	Ile10	Leu134	Ile10	-
Alkil- $\pi$	Val18	Val18, Lys20, Ala31	Val18, Leu134	Val18, Ala31, Leu134	-	Ile10, Val18, Lys20, Ala31	-	Ile10
Katyon- $\pi$	Lys89	Lys89	-	-	-	Lys89	-	-
Van der Waals Bağı	Gly11, Glu12, Thr14, Lys33, Leu83, Gln85, Lys129, Gln131 <sup>1</sup> , Asn132, Leu134, Asp145	Glu8, Lys33, His84	Gly11, Glu12, Gly13, Asp86, Lys89, Lys129, Asn132 <sup>3</sup> , Asp145	Gly13, Thr14, Lys33, Asp86 <sup>4</sup> , Lys129, Gln131 Asn132, Asp145	Glu8, Lys9, Val18, Lys20 <sup>5</sup> , Phe82, Leu83, Gln85 <sup>3</sup> , Asp86, Leu134	Glu8, Lys33, His84	Gly11, Glu12, Gly13, Val18, His84, Gln85, Asp86, Lys89, Lys129, Asn132 <sup>1</sup> , Leu134, Asp145	Gly11, Glu12, Gly13, Tyr15, Val18, His84, Gln85, Asp86, Lys88, Lys89, His125 <sup>3</sup> , Asp127 <sup>3</sup> , Leu134, Asp145 <sup>3</sup> , Leu148 <sup>1</sup>
C-H Bağı	-	Gln85	Gln131	Gly11	His84, Gln85 <sup>1</sup>	Gln85	Leu83, Gln131	Leu83, Lys129
Konvensiyonel -H Bağı	Asp86, Lys89	Leu83, Asp86, Lys89	Thr14, Lys33, Gln131	Glu12, Lys89	Lys89	Lys20, Leu83, Asp86, Lys89	Thr14, Lys33, Gln131	Thr14, Lys33, Gln131

<sup>1</sup>Bu aminoasitler ile sadece Asp145 aktif bölgesinde etkileşim yapılmıştır.

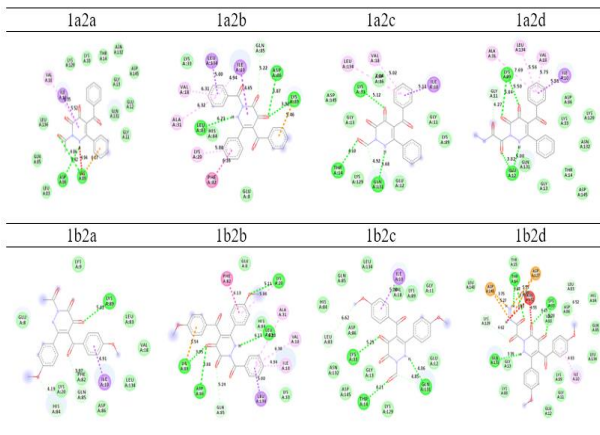
<sup>2</sup>Bu aminoasit ile sadece Leu83 aktif bölgesinde etkileşim yapılmıştır.

<sup>3</sup>Bu aminoasitler ile Leu83 ve Gln131 aktif bölgelerinde etkileşim yapılmıştır.

<sup>4</sup>Bu aminoasit ile Leu83 ve Asp145 aktif bölgelerinde etkileşim yapılmıştır.

<sup>5</sup>Bu aminoasit ile Asp145 ve Gln131 aktif bölgelerinde etkileşim yapılmıştır.

sahip oldukları etkileşim türleri aşağıda Tablo 2'de listelenmiştir.



**Şekil 4.** 4EK4 enzimi ile piridazin türevi bileşiklerin etkileşim haritaları

Çalışılan piridazin türevi bileşiklerden 4EK4 enzimi için en iyi afinite değerinin elde edildiği Asp145 amino asidinin aktif bölge merkezi olarak atandığı kenetlenme çalışmalarından elde edilen etkileşim haritaları aşağıda Şekil 4'te verilmiştir

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu başlık altında; çalışmada elde edilen bulgular ilgili Bu çalışmada Ünal ve grubu tarafından sentezlenip literatüre kazandırılmış olan sekiz farklı piridazin türevi bileşiğin antikanser ajanlar olarak rol alabilme potansiyelleri hesaplamalı yaklaşımlar ile incelenmiştir. Söz konusu ligandların CDK<sub>2</sub> inhibitörü olabilme potansiyelleri serin/treonin protein kinazlar ailesinden siklin bağımlı kinazların bir üyesi olan 4EK4 enzimi içerisindeki üç farklı bölgeye, literatürde Vijayan ve ark. tarafından 4EK4 proteini ile yapılmış kenetlenme çalışmasına uyumlu olarak,

moleküler kenetlenme işlemi yapılarak; ligandların afiniteleri ve bağlandıkları aminoasitler, bağlanma türleri belirlenerek açıklanmaya çalışılmıştır.

Leu83, Gln131 ve Asp145 aminoasitlerinin üç farklı olası aktif bölge olarak seçilmesiyle gerçekleştirilen bu simülasyonlar sonucunda yukarıda Tablo 1'de de görülebileceği gibi Leu83 merkezli kenetlenme çalışmalarında afinite değerleri -8,6 ile -10,7 kkal.mol<sup>-1</sup> olarak, Gln131 ve Asp145 merkezli kenetlenme çalışmalarında ise -8,6 ile -10,8 kkal.mol<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Çalışılan tüm aktif bölgeler için yapılan kenetlenme işlemlerinde elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde ortak olarak -8,6 kkal.mol<sup>-1</sup>lık değer ile 1b2a ligandının en düşük afiniteye sahip olduğu, Gln131 ve Asp145 merkezleri için -10,8 kkal.mol<sup>-1</sup>, Leu83 merkezi için ise -10,7 kkal.mol<sup>-1</sup> değeri ile en iyi afinitenin 1a2b ligandına ait olduğu gözlemlenmiştir.

Kenetlenme çalışmaları yapılan 8 piridazin türevi ligand için elde edilen afinite sıralaması toplu olarak değerlendirildiğinde Leu83 ve Asp145 merkezleri için 1a2b > 1b2b > 1a2a > 1a2c > 1a2d = 1b2c > 1b2d > 1b2a şeklindedir. Öte taraftan Gln131 merkezi için yapılan kenetlenme çalışmasından elde edilen afinite sıralamasında (1a2b > 1b2b > 1a2a > 1a2c > 1a2d > 1b2c = 1b2d > 1b2a) çok küçük bir fark tespit edilmiştir. Sıralamadaki bu tutarlılık literatürde verilen aktif bölge merkezi aminoasit seçiliminin kenetlenme çalışmalarında bağlanma afiniteleri üzerinde çok anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını göstermiştir.

Moleküler kenetlenme işlemine ek olarak kullanılan ligandların SAR analizleri de yapılmış ve bileşiklerin elektrostatik potansiyel haritaları çizilmiştir. Yapılan SAR analizi sonuçları incelendiğinde; en büyük hacime sahip olan bileşiğin 1b2b bileşiği (MV: 444,55 Å<sup>3</sup>), en düşük hacime sahip olan bileşiğin ise 1a2c bileşiği (MV: 308,37 Å<sup>3</sup>) olduğu ve diğer bileşiklerin hacimlerinin çok fazla değişiklik göstermediği gözlemlenmiştir. Moleküllerin dipol momentlerinin ise 5,39-7,21 D aralığında değiştiği ve 1b2d bileşiği için en yüksek ( $\mu$ : 7,21), 1b2b bileşiği için ise en düşük ( $\mu$ : 5,39) değeri aldığı belirlenmiştir. En yüksek polarizabilite değerine sahip olan ligandın 75,01 değeri ile 1b2b bileşiği ve en düşük polarizabilite değerine sahip olan ligandın ise 62,25 değeri ile 1a2a bileşiği olduğu saptanmıştır.

Moleküler kenetlenme hesaplamalarının sonucunda Tablo 2'de verilen 1a2b ve 1b2b ligandlarının aktif bölge aminoasitleri ile yaptığı etkileşimler incelendiğinde her iki ligandın hemen hemen aynı aminoasitler ile etkileşime girdiği görülmüştür. Afinite olarak öne çıkan bu iki ligandın dışındaki diğer incelenen ligandların hemen hepsi çok sayıda Van der Waals etkileşimine girerken 1a2b ve 1b2b ligandları sadece Glu8, Lys33 ve His84 aminoasitleri ile etkileşime girmiştir. Sigma- $\pi$  bağı etkileşimlerine

bakıldığında ise ayırt edici aminoasidin sadece en yüksek afiniteye sahip olan 1a2b ve 1b2b ligandları ile etkileşime giren Leu134 olduğu ve afinite değerini olumlu yönde desteklediği görülmüştür. Diğer güçlü bir etkileşim türü olan konvansiyonel H bağı etkileşimlerine bakıldığında ise en düşük afiniteye sahip olan 1b2a ligandı için sadece Lys89 aminoasidi ile etkileşim tespit edilirken Leu83, Asp86 ve Lys89 aminoasitleri en iyi afiniteye sahip olan 1a2b ve 1b2b ligandlarında ortak olarak saptanmıştır.

Ligandların 2 boyutlu yapıları ile afinite arasındaki ilişkinin tespit edilmesi amacıyla Şekil 1 ve moleküler kenetlenme çalışmaları sonucunda elde edilen afinite değerleri birlikte incelendiğinde; piridazin türevinin ikinci pozisyonundaki sübstitüe grubun -Ph olması halinde afinitenin yükseldiği, hatta birinci pozisyonundaki -p-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-O-CH<sub>3</sub> ve -Ph sübstitüe gruplarının afinite üzerinde çok fazla etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu etki ikinci pozisyonundaki sübstitüe grupların -Ph dışında olması halinde tüm çalışılan ligandlarda da benzer bir şekilde afinite düşmeye neden olmuştur. Özellikle en düşük afinitenin elde edildiği 1b2a bileşiğinin yapısında ikinci pozisyonundaki sübstitüe grup olan alifatik -CH<sub>3</sub> grubunun afiniteyi olumsuz etkilediği görülmektedir. Tablo 1'de verilen logP değerleri ile afinite arasındaki ilişkiye bakıldığında ise logP değerindeki düşüşün afiniteyi olumsuz yönde etkilediği, en iyi afiniteyi veren 1a2b ligandında logP değerinin en yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 3'te verilen MEP haritaları incelendiğinde genel anlamda yapıların haritalarının benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak ikinci pozisyonunda -Ph gruplarının takılı olduğu 1a2b ve 1b2b ligandlarında -Ph grubundaki  $\pi$ -bağı elektronlarının delokalizasyonundan kaynaklı elektron yoğunluğunun yapıyı daha reaksiyona girme potansiyelini artırıcı etkisi afinite üzerindeki artış ile gözlenmiştir. Benzer şekilde diğer ligandların MEP haritalarına bakıldığında ise piridazin çekirdeğinin alt kısmında bir elektron yoğunluğunun olmadığı, bunun da afiniteyi olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir.

Sonuç olarak yapılan hesaplamalar neticesinde ligandın ikinci pozisyonuna takılan -Ph grubunun, konvansiyonel -H bağının ve logP değerlerinin afinite üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Piridazin çekirdeklerinin antikanser ajanı olarak değerlendirileceği ligand tasarımlarında yukarıda belirtilen bu özelliklerin dikkate alınması ve deneysel veriler ile desteklenmesi tavsiye edilmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından Üniversite Öğrencilerinin Araştırma Projelerini Destekleme Programı (2209/A, Proje No: 1919B011701111) araştırma projesi olarak desteklenmiştir. Grubumuz

yazılım desteği için Prof. Dr. Safiye Sağ Erdem'e teşekkür eder.

### Etik Beyanı

*Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.*

### Kaynakça

- [1] Menteşe, E., Yılmaz, F., Emirik, M., Ülker, S., Kahveci, B. 2018. Synthesis, molecular docking and biological evaluation of some benzimidazole derivatives as potent pancreatic lipase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 76, 478–486.
- [2] Alaşalvar, C., Soylu, M. S., Ünver, H., Ocak Iskeleli, N., Yildiz, M., Çiftçi, M., Banoğlu, E. 2014. Crystal structure and DFT calculations of 5-(4-Chlorophenyl)-1-(6-methoxy-pyridazin-3-yl)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 132, 555–562.
- [3] Arun, A. K., Mohan, K., Riyaz, S. 2013. Structure guided inhibitor designing of CDK2 and discovery of potential leads against cancer. *Journal of Molecular Modeling*, 19(9), 3581–3589.
- [4] Otyepka, M., Kryštof, V., Havlíček, L., Siglerová, V., Strnad, M., Koča, J. 2000. Docking-based development of purine-like inhibitors of cyclin-dependent kinase-2. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(13), 2506–2513.
- [5] Kumar, A., Zhang, K. Y. J. 2016. A pose prediction approach based on ligand 3D shape similarity. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 30(6), 457–469.
- [6] Baby, B., Antony, P., Al Halabi, W., Al Homedi, Z., Vijayan, R. 2016. Structural insights into the polypharmacological activity of quercetin on serine/threonine kinases. *Drug Design, Development and Therapy*, 10, 3109–3123.
- [7] Babu, P. A., Narasu, M. L., Srinivas, K. 2007. Pyridines, pyridazines and guanines as CDK2 inhibitors: A review. *Arkivoc*, 2007(2), 247–265.
- [8] Davies, T. G., Tunnah, P., Meijer, L., Marko, D., Eisenbrand, G., Endicott, J. A., Noble, M. E. M. 2001. Inhibitor binding to active and inactive CDK2: The crystal structure of CDK2-cyclin A/indirubin-5-sulphonate. *Structure*, 9(5), 389–397.
- [9] Prabavathi, N., Senthil Nayagi, N., Venkatram Reddy, B. 2015. Molecular structure, vibrational spectra, natural bond orbital and thermodynamic analysis of 3,6-dichloro-4-methylpyridazine and 3,6-dichloropyridazine-4-carboxylic acid by dft approach. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1134–1148.
- [10] Qin, X. F., Wang, F., Wu, H. S. 2014. Density functional studies of the stepwise substitution of pyridine, pyridazine, pyrimidine, pyrazine, and 1,3,5-triazine with BCO. *Journal of Molecular Modeling*, 20(1), 2079–2085.
- [11] Breda, S., Reva, I. D., Lapinski, L., Nowak, M. J., Fausto, R. 2006. Infrared spectra of pyrazine, pyrimidine and pyridazine in solid argon. *Journal of Molecular Structure*, 786, 193–206.
- [12] Reimers, J. R., Cai, Z.-L. 2012. Hydrogen bonding and reactivity of water to azines in their S1 ( $n, \pi^*$ ) electronic excited states in the gas phase and in solution. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(25), 8791.
- [13] George, R. F., Saleh, D. O. 2016. Synthesis, vasorelaxant activity and 2D-QSAR study of some novel pyridazine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 108, 663–673.
- [14] Soliman, S. M., Albering, J., Abu-Youssef, M. A. M. 2015. Molecular structure, spectroscopic properties, NLO, HOMO-LUMO and NBO analyses of 6-hydroxy-3(2H)-pyridazinone. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1086–1098.
- [15] Ünal, D., Saripinar, E., Akçamur, Y. 2006. A new method for the preparation of pyridazine systems: Experimental data and semiempirical PM3 calculations. *Turkish Journal of Chemistry*, 30(6), 691–701.
- [16] Spartan 14v1.1.4 (2014) Wavefunction, Inc., Irvine, CA. (<https://www.wavefun.com/>)
- [17] Stewart, J. J. P. 2007. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*, 13(12), 1173–1213.
- [18] Stewart, J. J. P. 2008. Application of the PM6 method to modeling the solid state. *Journal of Molecular Modeling*, 14(6), 499–535.
- [19] McWeeny, R., Diercksen, G. 1968. Self-consistent perturbation theory. II. Extension to open shells. *The Journal of Chemical Physics*, 49(11), 4852–4856.
- [20] Pople, J. A., Nesbet, R. K. 1954. Self-consistent orbitals for radicals. *The Journal of Chemical Physics*, 22(3), 571–572.
- [21] Roothaan, C. C. J. 1951. New developments in molecular orbital theory. *Reviews of Modern Physics*, 23(2), 69–89.
- [22] Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Visualizer, V2. San Diego: Dassault Systèmes. 2017.

- [23] Sanner, M. F. 1999. Python: a programming language for software integration and development. *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, 17(1), 57-61.
- [24] Trott, O., Olson, A. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461.

## Relationship of photocatalysis with flavonoids in silver nanowire synthesis with herbal extract (*Lavandula officinalis* L.)

Havva KAYA\*<sup>1</sup> , Semra KILIÇ<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Suleyman Demirel Univesity, Department of Bioengineering, 32260, Isparta, Turkiye

<sup>2</sup> Suleyman Demirel Univesity, Faculty of Science and Art, Department of Biology, 32260, Isparta, Turkiye

(Alınış / Received: 12.01.2022, Kabul / Accepted: 02.03.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2020)

### Keywords

Light radiation,  
Nanoparticles,  
Nanowires,  
Phyto-nano synthesis,  
Green synthesis

**Abstract:** Nanoparticles with unique physiochemical properties can be produced using non-toxic precursors with phyto-nano synthesis. In this study, Nanowire (AgNW) was produced from silver nanoparticles (AgNP) reduced with *Lavandula officinalis* L. flower extract using the phyto-nano synthesis method. The length of the produced AgNW is 1-20 µm and its diameter is approximately 40-100 nm. Although the reduction of silver was quite fast in the light environment, it was found to be slow in the dark environment. However, the effect of darkness on AgNP stabilization and AgNW formation was quite important. In addition, it was revealed that the main physical factor that enables AgNW to elongate is the mechanics of the environment provided by the centrifuge. Optical and morphological characterization of nanoparticles was done with UV-visible spectrometry and SEM. The crystal structure of the particles was determined by XRD. Energy dispersion spectrums of nanoparticles were determined by EDS. Character and size analysis was performed by TEM. FTIR determination was performed on the extracts to guide the determination of the reduction factors in light and dark. The extracts were also determined by HPLC to give an idea about the role of flavonoid content in the Ag reduction due to light. Accordingly, it was found that aromatic ring compounds with alcoholic groups effectively reduce silver in the dark and promote AgNW formation.

## Bitki ekstraktı (*Lavandula officinalis* L.) ile gümüş nanotel sentezinde fotokatalizin flavonoidler ile ilişkisi.

### Anahtar Kelimeler

Işık radyasyonu,  
Nano parçacıklar,  
Nano teller,  
Fito-nano sentez,  
Yeşil sentez

**Öz:** Benzersiz fizikokimyasal özelliklere sahip nanopartiküller, toksik olmayan öncüler kullanılarak fito nano sentez ile üretilebilir. Bu çalışmada, *Lavandula officinalis* L. çiçek özütü ile indirgenmiş gümüş nanoparçacıklardan (AgNP) fito-nano sentez yöntemi kullanılarak Nanotel (AgNW) üretilmiştir. Üretilen AgNW'nin uzunluğu 1-20 µm ve çapı yaklaşık 40-100 nm olarak tesbit edilmiştir. Gümüşün indirgenmesi aydınlık ortamda oldukça hızlı olmasına rağmen karanlık ortamda yavaş olduğu görülmüştür. Bununla beraber karanlığın AgNP stabilizasyonu ve AgNW oluşumu üzerinde kayda değer etkisi olmuştur. Ayrıca AgNW'nin uzamasını sağlayan ana fiziksel faktörün santrifüjün sağladığı ortamın mekaniği olduğu bulunmuştur. Nanopartiküllerin optik ve morfolojik karakterizasyonu UV-Vis spektrometri ve SEM ile yapıldı. Partiküllerin kristal yapısı XRD ile belirlendi. Nanopartiküllerin enerji dağılım spektrumları EDS ile belirlendi. Karakter ve boyut analizi TEM ile yapıldı. Aydınlık ve karanlıktaki indirgeme faktörlerinin belirlenmesine rehberlik etmek için ekstraktlar üzerinde FTIR yapıldı. Ayrıca, ışık ile Ag indirgenmesindeki flavonoid içeriğinin rolü hakkında bir fikir vermesi için numunelere HPLC yapıldı. Buna göre, alkollü gruplara sahip aromatik halkalı bileşiklerinin karanlıkta gümüşü etkili bir şekilde indirgediği ve AgNW oluşumunu teşvik ettiği sonucuna varıldı.

\*İlgili yazar: kaya\_havva@yahoo.com.tr

## 1. Introduction

Metal nanomaterials have influenced many branches of science such as engineering, health, environmental improvement studies with their versatile properties [1]. Silver shows very high electrical and thermal conductivity. For this reason, nanosilver is used in many engineering fields. Silver nanoparticles (AgNP) smaller than 100 nm in diameter can easily pass through the cell membrane and show activity in metabolic pathways. In this way, AgNP stands out as antibacterial, antioxidant, anti-cancer, and antifungal [2]. It is also used directly or by hybridizing with other metals in the fields of electrical, energy, biomedical engineering [3]. In addition to AgNP, silver nanowires (AgNW) are also used in flexible, transparent, wearable electronics [4], various optics [5], biomedical applications [6], solar cells [7]. There are chemical, physical, and biological methods in the production of both nanomaterials. In AgNW synthesis, it is possible to use electrochemical and hydrothermal methods, usually together with the reduction of silver salts [8]. Although for mass production of AgNW, standard size and high efficiency provided methods are preferred. One of the main methods in which carbon nanotubes or nanoporous molds are used as templates is hard-template nanowire synthesis. The other method is the soft-template nanowire synthesis technique in a non-solid medium such as polyol solvent with micelles, surfactants, and other polymers [9]. That is the most common method used to meet the AgNW requirement of the industry. Unfortunately, these methods generate a large amount of solvent and a large amount of waste that cannot be recycled easily. Recently, the technique of using plant extracts in the reduction of metal nanoparticles (phyto-nano synthesis) has been drawing attention in terms of being so simple and ecological. And also the reduction takes place in one step.

Components of essential oils such as linalool, caryophyllene, lavandulyl acetate,  $\alpha$ -terpineol, borneol, eucalyptol [10] Aqueous extract of *Lavandula officinalis* L., which contains phenolics and flavonoids such as caffeic acid, ferulic acid, gallic acid, rosmarinic acid, chlorogenic acid, umbelliferone, uteolin 7-O-glucoside, vitexin, and isoquercitroside [11] is suitable for phyto-nano synthesis. However, since lavender oil is used in the cosmetics and pharmaceutical industries, Lavender extract is a waste with a high potential for nanomaterial mass production by phyto-nano synthesis. Although most studies of phyto-nano synthesis are related to AgNP production, Horta-Piñeres et al. [12] reported that the method can also be applied in AgNW production. Phyto-nano synthesis can reduce metals to typically 4-100 nm in size [13]. The utilization of therapeutic herbs containing flavonoid and aromatic components stands out in studies [14]. Metal reduction and stability are performed with the help of secondary

metabolites contained in plant extracts such as phenolic, terpenoids, alkaloids, and sugars [15]. Since plant extracts contain reducing agents, their effectiveness in nanoparticle synthesis is not surprising. However, it is quite surprising that a continuous nanoparticle such as AgNW can be produced simply in a non-polymerized aqueous medium.

While producing nano-silver materials with phyto-nano synthesis, the important factors that are not taken into account enough are light radiation and centrifuge effect. Although there are positive results in AgNP synthesis such as accelerating the synthesis of light and decreasing the particle size [16] we have seen that this is not the case when it comes to AgNW synthesis in our study with the phyto-nano synthesis method. In our study, we approached from a different angle and tried to define the negative effect of light radiation arising from its relationship with phenolics and an important positive effect provided by centrifuge.

## 2. Material and Method

### 2.1. Materials

#### 2.1.1. Preparation of *Lavandula officinalis* L. flower extract

*Lavandula officinalis* L., Isparta / Turkey is local annual production. Harvested and natural dried lavender flowers were removed from their stems. The ratio of lavender extract prepared with deionized water is 1/100 (g/ml). Deionized boiled water was taken from the stove then plant samples were added and rested at room temperature for 1 hour. The mixture was filtered using a 0.2  $\mu$ m Whatman® cellulose acetate membrane (19 °C and pH 5.7). All experiments have been at room temperature of 19-25 °C.

#### 2.1.2. Phyto-nano synthesis of AgNPs and AgNWs

The AgNO<sub>3</sub> solution was prepared with 117 mg AgNO<sub>3</sub> (MERCK - 7761-88-8) and 100 ml deionized water. Lavandula extract and AgNO<sub>3</sub> solution were in a ratio of 1:1. Two experimental groups, one day and one week reaction time, were established to determine the centrifuge's rotation speed and time, as well as the effect of daylight and dark on the AgNW elongation that will occur with reduced AgNP. Hettich EBA 20 model centrifuge device, which we use to keep the rotation and gravity created by the centrifuge at maximum, was operated at 6000 rpm, which is the highest speed (in 37 sec.). Samples were filled into 10 ml tubes and centrifuged. Then deionized water was added to the pellet for washing, shaken gently and all samples were centrifuged again. This process was repeated at least twice according to the groups. Table of centrifuge amounts including washing process is given below (Table 1).

**Table 1.** Centrifuge time and repetitions at 6000 rpm according to light and dark application.

Reaction time	Centrifuge (min x repetitions)	
	Dark	Light
1 day (24h)	20X8	20X8
	5 X 3	5X3
1 week	20X8	20X8
	5 X3	5X3

## 2.2. Methods

### 2.2.1. Optical characterization of Ag nano particles

Surface plasmon resonance analysis applied for the optical characterization of metal nanoparticles provides guidance [17]. Perkin Elmer Lambda 35 UV-Vis Spectrophotometer device and crystal quartz tubs were used. In all of the measurements, the reaction time in the Mixtures was determined as 24 hours. Absorbances were scanned in the 200-800 nm light range in the samples.

#### Sample preparation for Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive Spectrum (EDS)

To be used in the characterization analysis of silver nanoparticles SEM and EDS (Quanta Fec 250; The Thermo Scientific™ Quanta™), the sediments at the bottom of the tube were left to dry in a 50 °C oven after centrifuge. The residue adhering to the centrifuge tube was gently scraped and adhered to the carbon tapes.

#### Sample preparation for FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) and X-Ray Crystallography (XRD)

After the reactions in the dark and light, the extracts were poured into a glass petri dish and left to dry in a sterile oven at 50 °C for 48 hours to determine the organic content of the extracts. The resulting residues were scanned with the KBr pellet technique with 4000-400 cm<sup>-1</sup> permeability. FTIR spectra (Perkin Elmer FTIR Spectrum BX) Infrared Spectroscopy Absorption Table (2020) was taken as a reference.

X-ray crystallography (XRD) analysis (Bruker D8 Advance Twin-Twin) of AgNW and AgNP samples in powder form synthesized in the dark was performed to determine the molecular composition and crystal structures of the silver nanoparticles.

#### Transmission Electron Microscope (TEM) analysis

Samples were dispersed with 1 ml of distilled water after centrifugation and stored in a light-proof bottle at room temperature. Hitachi HT7800 device was used for TEM analysis. The samples were dropped onto the carbon grid and dried at room temperature.

### 2.2.2. Biochemical analysis - HPLC (High-Performance Liquid Chromatography)

After 1 day of reactions, the supernatant after centrifuge of the mixture was taken to determine the relationship of light radiation to phenolics. HPLC determination of certain phenolics that are effective during AgNP production with lavender extract was made. These are generally composed of phenolics that have proven antioxidant properties. HPLC-wavelength was measured in DAD detector ( $\lambda_{max}$  = 278nm). Mobile phase: consists of 3% acetic acid-methanol. Column sizes are 250x4.60 mm. and the particle diameter is 5 microns (Agilent Eclipse XDB-C18). Flow rate, 0.8 mL / min, column temperature, 300C; injection volume is 20  $\mu$ l. (Agilent Eclipse XDB-C18). Flow rate, 0.8 mL / min, column temperature, 300C; injection volume is 20  $\mu$ l.

## 3. Results

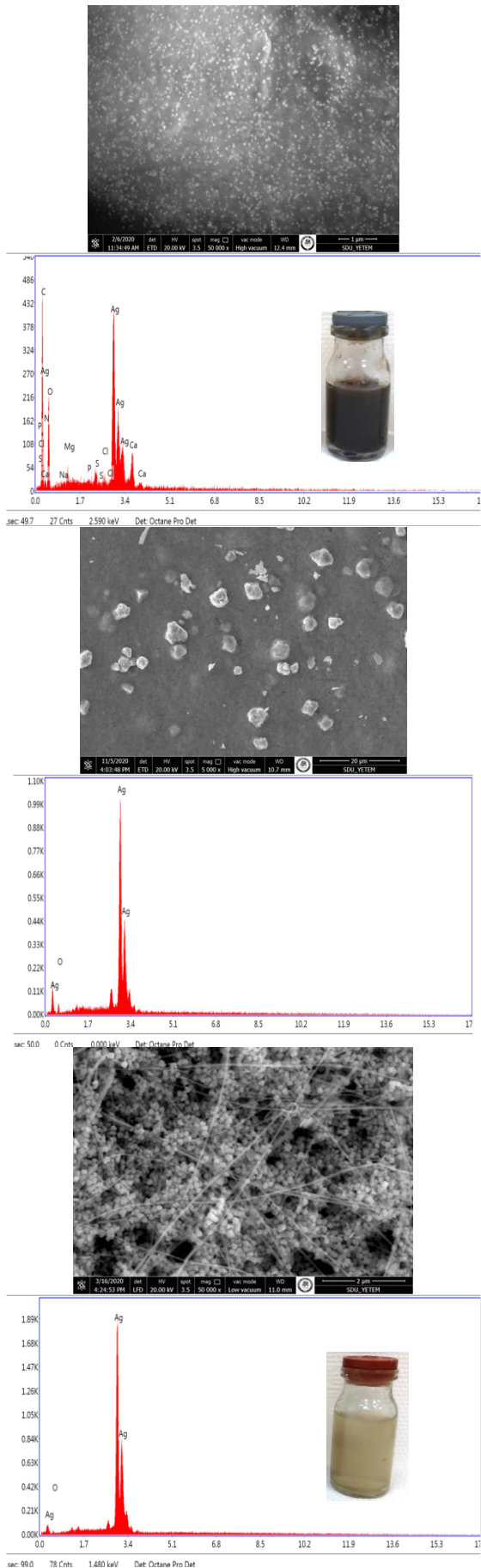
### 3.1. Production and morphological characterization of AgNP and AgNW by phytosynthesis

The first indicator in the silver reduction by phytosynthesis is the color change in extracts [18]. When silver ions are reduced to Ag<sup>0</sup>, the particle size in their aqueous solutions decrease and form clusters. In this way, the particle size of the resulting colloidal mixture becomes smaller than the visible light wavelength. Thus, the refracted light changes the color of the mixtures [19]. As can be seen in Figure 1, the color changes in reactions under dark and light differed from each other. Accordingly, it showed a brown-black color change in which AgNP reacted in light conditions (Figures 1A and 1B). In the dark, it showed a green-gray color change (Figure 1C).

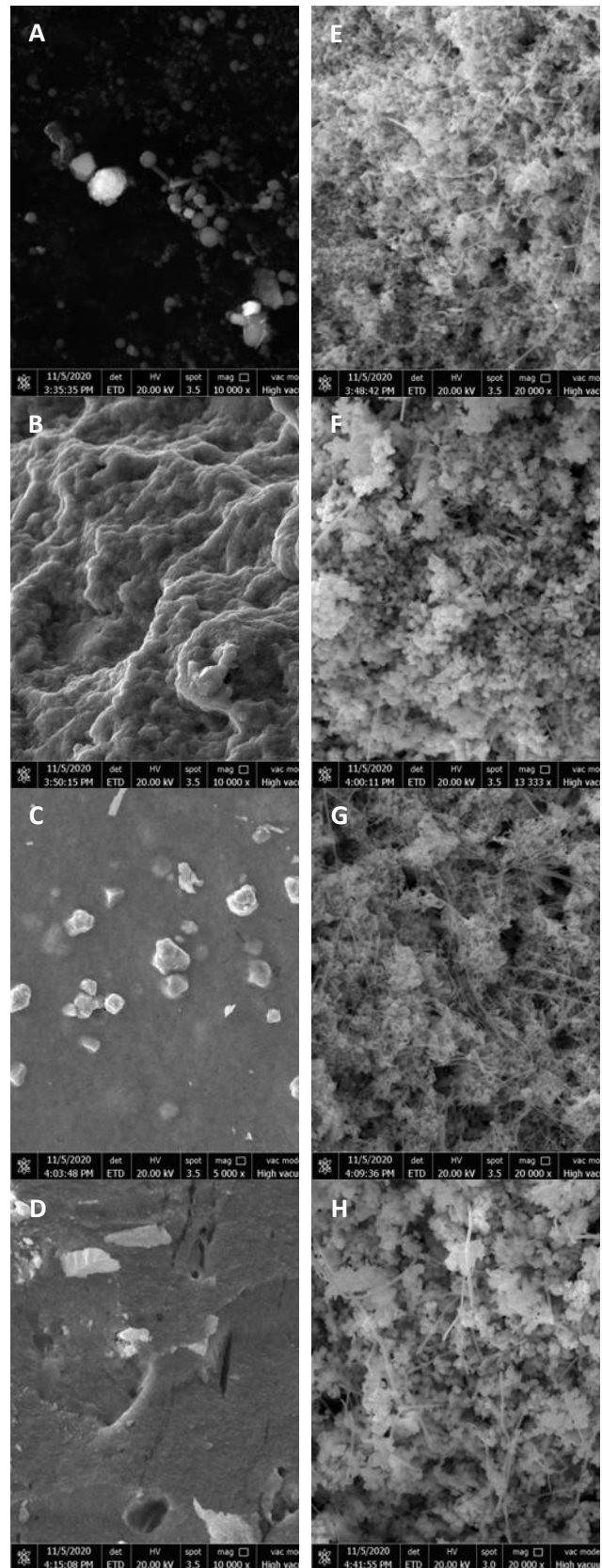
Reduction of silver by phyto-nano synthesis has been demonstrated by brown color change [20]. It has been reported that aqueous solutions of silver nanowires are green-gray in color [21] This showed that the reaction took place by different mediators or produced different occurrences. The differences in extracts were analyzed to understand what caused this.

In the EDS analysis of the sample that was not washed, the spectra of Ag and the inorganic substances of the extract are shown (Figure 1A). After centrifugation, residues from lavender extract were removed (Figure 1B and C). With the effect of the centrifuge, AgNPs in the light reaction may show shape deformation and transform into plates (Figure 1B).). On the contrary, AgNPs preserved their stabilization in dark reactions and AgNW-like structures were formed (Figure 1C). Therefore, the light harmed particle stabilization and nanowire elongation. Plating occurred in all the irradiated samples, excluding the short light and centrifuged





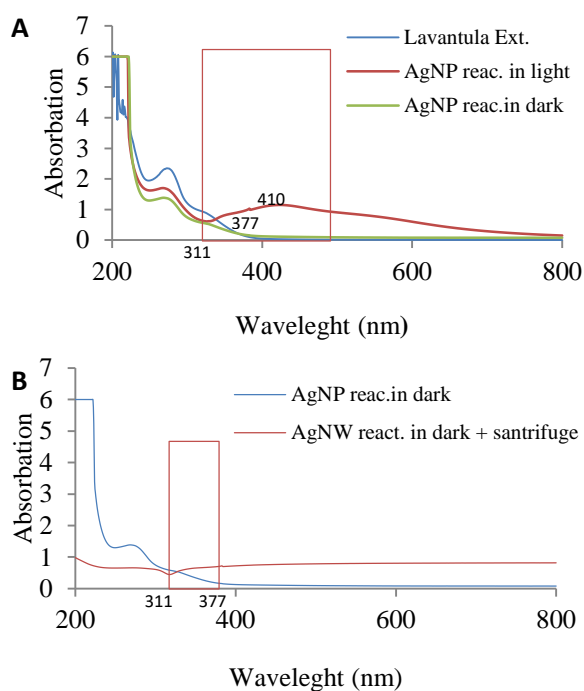
**Figure 1.** SEM and EDS analysis A: AgNPs in light environment B: AgNP under light and centrifuge effect C: AgNW in dark and centrifugal effect.



**Figure 2.** SEM images; on the left pictures the samples exposed to light A: 1 daylight 8 repetitions centrifuge B: 1 week light 8 repetitions centrifuge C: 1 daylight 3 repetitions centrifuge D: 1 week light 3 repetitions centrifuge. On the right pictures are dark-treated samples E: 1 day dark 8 repeat centrifuge F: 1 week dark 8 repeat centrifuge G: 1 day dark 3 repeat centrifuge H: 1 week dark 3 repeat centrifugation.

sample. Although nano rod-like structures were formed in this, no nanowire elongation occurred (Figure 2A). In all reactions in the dark application, it was determined that the particles preserved their shape stabilization well. Best AgNW elongation; It was obtained by reaction for 24 hours and centrifugation for a total of 15 minutes (Figure 2G).

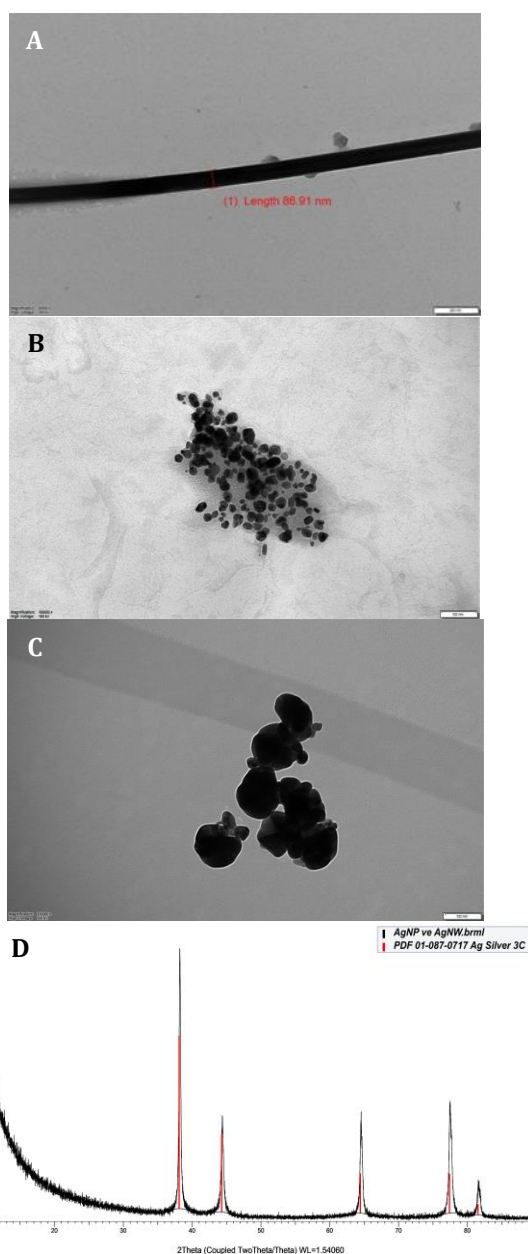
The UV and Visible spectrum of AgNP surface resonances dispersed in an aqueous solution is around 400 nm [22]. In our study when the surface resonances of the reaction under light were scanned with UV-Vis, we obtained a peak that started at 311 nm and increased to 410 nm (Figure 3A). It was observed that the AgNP-specific 400 nm peak was weak in samples synthesized in the dark and not centrifuged (Figure 3B). On the other hand, in samples synthesized in the dark and not centrifuged, AgNP peaking at around 400 nm, AgNW at 377 nm and shows a rising value in the visible light region due to mixed nanoscale particles coincided with the literature [23,24]. In this case, it can be said that the silver reduced in the dark comes together with centrifugation to form AgNW.



**Figure 3.** UV-Vis surface resonance spectra of particles in aqueous solution. A: Blue; Only lavender extract, Red at 24 hours light exposure; Lavender extract and AgNO<sub>3</sub> solution at 24 hours light exposure. Green; Lavender extract and AgNO<sub>3</sub> solution kept in the dark for 24 hours. B: Synthesis in the dark. Blue: not centrifuged. Red: centrifuged for a total of 15 minutes.

### 3.2. Structural characterization of AgNW

The most important feature of AgNW that makes it different from silver nanorods is that its aspect ratio is greater than 10<sup>-1</sup>. Generally, AgNW has a 10-200 nm diameter and a length of 5-100 μm [9]. According to TEM images, AgNP sizes vary between 20 and 100



**Figure 4.** A: TEM image of AgNW synthesized in the dark with lavender extract B: Light exposure and sample not centrifuged C: non-centrifuged sample synthesized in the dark D: XRD pattern of Ag particles produced in dark.

nm. AgNW diameter varies between 40-100 nm and their length reaches 20 μm (Figure 4A). We did not find AgNW elongation in non-centrifuged samples (Figure 4B, C). According to XRD analysis performed to determine the crystal structure of powdered samples that are synthesized in the dark and containing AgNW, Ag particles have a face-centered cubic (Fcc) crystal structure (Figure 4D). According to the XRD patterns, the X-ray diffraction spectrum belonging to silver showed results complying with *Powder Diffraction* data (PDF) 01-087-0717. The values with a peak at 2θ (degree) indicate the planes (111), (200), (220), (311), (222), respectively, of the 38.119, 44.305, 64.452, 77.409, 81.552 Ag crystals. The ratio of (111) peak to (200) 2.21 and (220) to 4.34 when compared to the crystal model of standard silver powder (JCPDS; 2.1 and 4.0) compared to the

density ratios obtained from the standard model of silver crystals with Fcc structure, the ratio of silver nanowires (200) shows that it may have a preferred orientation along the plane [25].

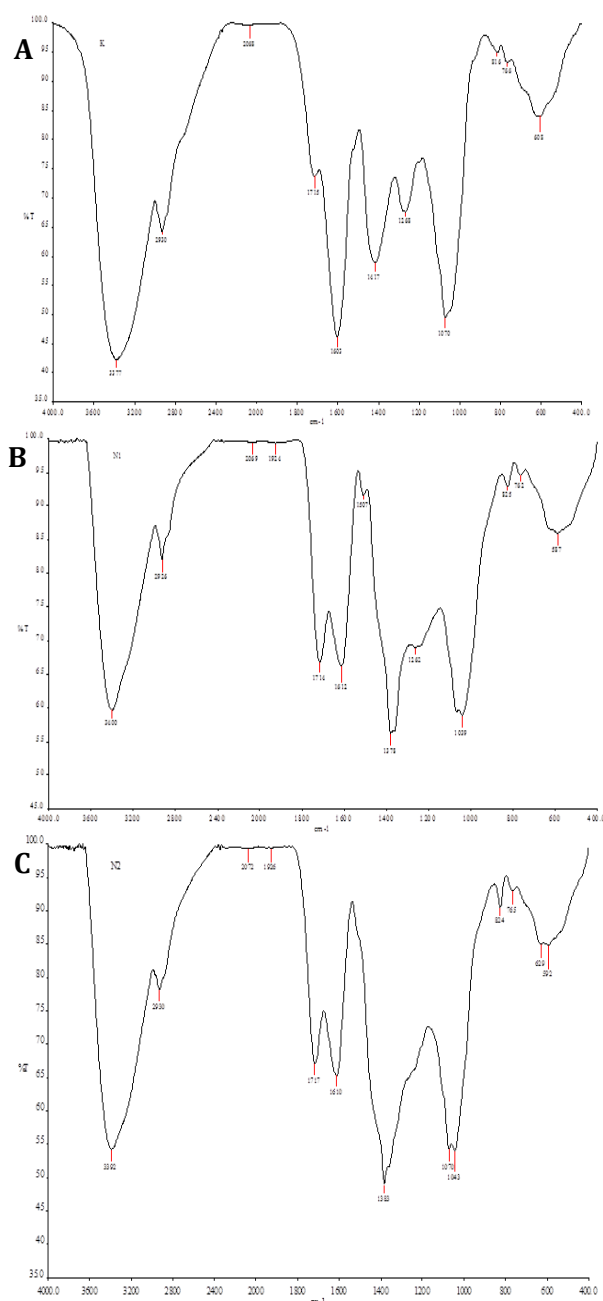
Light plays an effective role in reducing silver and decreasing particle size [26]. Although it shows different effects according to wavelengths and colors, light is a catalyst that allows the reduction reaction to take place in a shorter time [27]. Therefore, it is thought that daylight prevents the effect of the environment mechanics provided by the centrifuge in AgNW elongation and causes the time to pass during elongation to disappear. On the other hand, it can be predicted that silver bonds, which are effective in the elongation of silver atoms in a certain direction, cause an increase in the affinity of another atom in the extracted content, thus preventing the formation of Ag-Ag bonds.

### 3.3. The effect of artificial sunlight on phyto-synthesis reactions

To define the role of plant extracts in reducing the element silver and the effect of light, FTIR(Fourier transform infrared spectroscopy) analysis of only *Lavandula officinalis* leaf extract (LE) (Figure 5A), the extract containing AgNO<sub>3</sub> exposed to light (LS) (Figure 5B), and the extract containing AgNO<sub>3</sub> applied in the dark (DS) (Figure 5C) was performed.

The peaks between 3400 -3300 cm<sup>-1</sup> are strong in Lavender extract (LE), medium in synthesis with light (B), and synthesis in dark (DS). These bands show the bonds (N-H) with the primary aliphatic amine group between the nitrogen of the nitrate group in AgNO<sub>3</sub> and aromatic phenolics. Bands saw at and around 2930 cm<sup>-1</sup> indicate C-H vibrations of methyl, methylene, and aromatic hydrogens [28].

1715 cm<sup>-1</sup> bands shown in all graphs of C=O vibrations belong to the ester, ketone, and carboxylic acid groups in the Lavender extract. The signals are seen at 1603 cm<sup>-1</sup> in LE and 1612 cm<sup>-1</sup> in LS and 1610 cm<sup>-1</sup> in DS originate from C = C groups belonging to aromatic rings [29]. Taking stronger C=C vibrations in LE than LS and DS can be interpreted as the change of aromatic rings after the reaction. Bands seen at 1268 cm<sup>-1</sup> in LE and 1262 cm<sup>-1</sup> in LS may be due to C-O bonds originating from aromatic ester and alkyl aryl ether. As can be seen, a sharp band was not formed in this region in the reaction that took place in the dark (Figure 5C). It refers to the medium vibration imine/oxime-sourced C=N bonds seen at 1690-1640 cm<sup>-1</sup> in LS and DS, but not in LE. These C=N bonds may have been formed from the bond formed between the C ends of the benzene rings that were broken after the reaction with the N of AgNO<sub>3</sub>. This supports our notion that the synthesis of alkyl aryl ether similar to the Ullman reaction may have taken place. In this Ullman-like reaction, which may



**Figure 5.** FT-IR spectra. A: Lavender extract B: extract after phyto-nano synthesis with 24 hours of light exposure. C: extract after phyto-nano synthesis applied in dark for 24 hours.

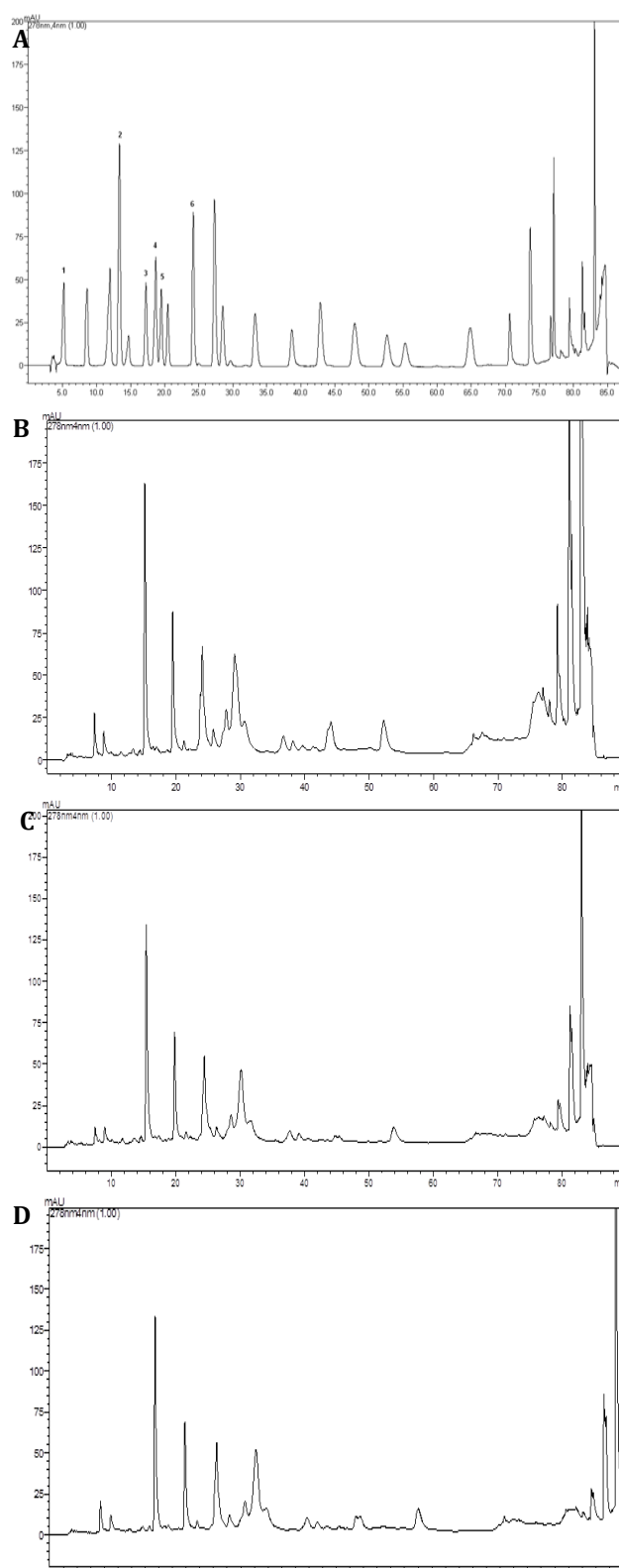
have occurred in the presence of phenolics and metals, the reduced Ag may have been the source of the metal. Light radiation may have replaced the required thermal source as a catalyst [30, 31, 32]. Therefore, the absence of a band around 1260 cm<sup>-1</sup> in DS may prove that radiation-induced alkyl aryl reaction does not occur. Bands that are not observed in LE but shown at 1043 cm<sup>-1</sup> in DS at 1039 cm<sup>-1</sup> in LS and also around 1390 cm<sup>-1</sup> (1378 cm<sup>-1</sup> in LS and 1383 cm<sup>-1</sup> in DS) show the presence of NO<sub>3</sub> from silver nitrate [33]. The sharp band at 1383 cm<sup>-1</sup> in DS shows the presence of more free NO<sub>3</sub> than LS and that free Ag is more than LS, indicating that DS is more qualified in reducing silver. At 1070 cm<sup>-1</sup>, when the C-O, C-O-C group bands are evaluated, they show

sharper alcohol group vibrations in LE than LS and DS and sharper in DS than LS [34]. In other words, there are more alcohol groups in DS after the reactions than in LE. Considering the results, it is supported the thesis that light radiation acts as a catalyst on cyclic compounds containing the alcohol functional group in the presence of AgNP.

Compounds in plant extracts are responsible for the reduction of silver by phytosynthesis. The fact that the plants used are generally medical plants constitutes the opinion that the main effective mechanism is the secondary metabolites of the plant. According to FTIR results, the most important difference in the dark and light reaction may be the cyclic compounds containing the alcohol group, showing that phenolics, which are an important compound in the plant extract in reduction should be further investigated. After the syntheses made in light and dark were precipitated by centrifugation, 23 flavonoids that were mostly found in the herbal extract were scanned in the HPLC analysis we carried out on the plant extracts (Figure 6A).

The standard chromatogram includes *gallic acid*, *protocatechuic acid*, *catechin*, *p-hydroxybenzoic acid*, *chlorogenic acid*, *caffeic acid*, *epicatechin*, *syringic acid*, *vanillin*, *p-coumaric acid*, *ferulic acid*, *sinapinic acid*, *benzoic acid*, *o-coumeric acid*, *ferulic acid*, *hesperidin*, *rosmarinic acid*, *eriodictiol*, *cinnamic acid*, *quercetin*, *luteolin*, *kaempferol*, *apigenin* (Figure 6). Since the contents of *gallic acid*, *p-hydroxybenzoic acid*, *caffeic acid*, *epicatechin*, *syringic acid*, and *p-coumaric acid* differ significantly, quantification was made (Table 2). This difference in the quantity of flavonoids in the dark and light experiments suggests that light radiation in the presence of silver promotes photocatalysis that affects these flavonoids.

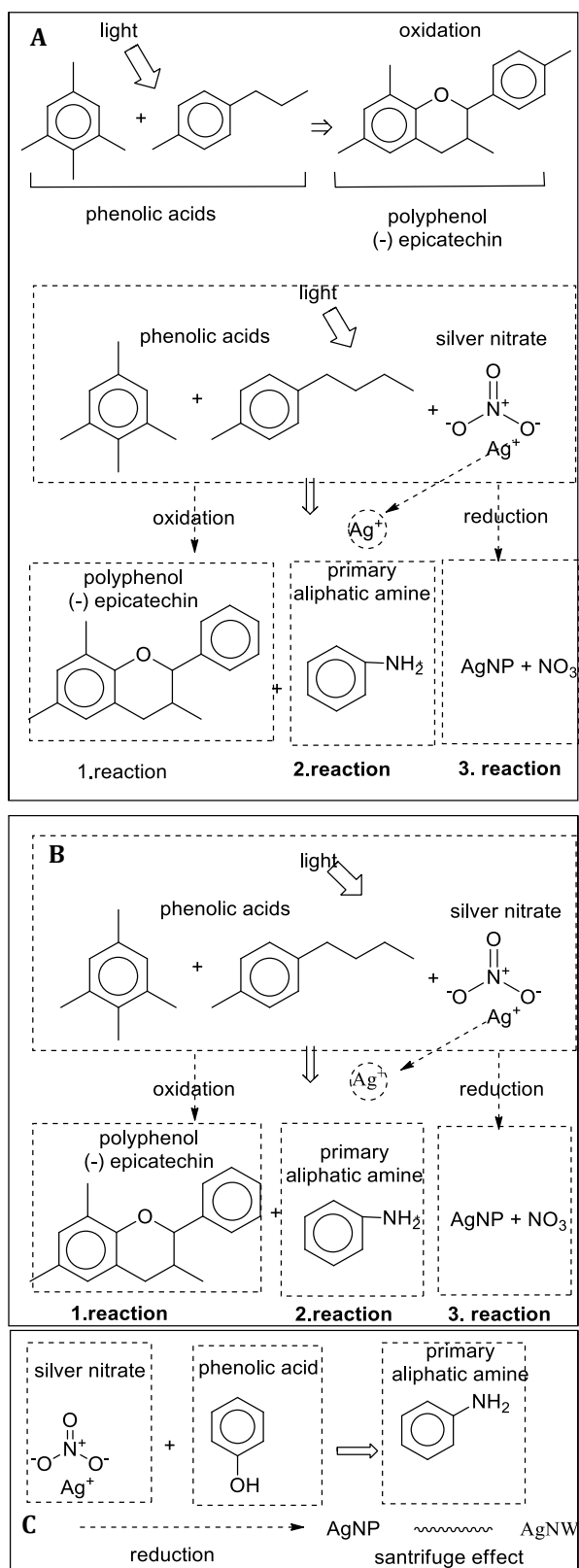
All components showed a decrease in both groups compared to the control except Epicatechin. The detection of Epicatechin in the light reaction in an even greater amount than in the control indicates that Epicatechin was synthesized under light catalysis during the reduction of silver. In the presence of light and silver, a polyflavone skeleton may be formed from aromatic ring compounds such as *syngric acid* and *p-coumeric acid* and *epicatechin* and its derivative molecule may be synthesized. Because, the positive effect of light on polyphenol synthesis is known [35]. This type of flavonoid synthesis was expressed through the synthesis pathways of (-) *epicatechin* and its *3-O-gallate* derivatives as Stadlbauer et al. [36] stated. According to the FTIR analysis of our study, the absence of vibrations of C-O bonds originating from aromatic esters and alkyl aryl ethers at  $1268\text{ cm}^{-1}$  in LE and  $1262\text{ cm}^{-1}$  in LS in DS supports our idea which is light catalysts in the reactions synthesized to *epicatechin* and its derivative polyphenols from other flavone skeletons (schematic theory Figure 7).



**Figure 6.** A: Standard chromatogram: 1: gallic acid 2: protocatechuic acid 3: catechin 4: p-hydroxybenzoic acid 5: chlorogenic acid 6: caffeic acid 7: epicatechin 8: syringic acid 9: vanillin 10: p-coumaric acid 11: ferulic acid 12: sinapinic acid 13: benzoic acid 14: o-coumeric acid 15: ferulic acid 16: hesperidin 17: rosmarinic acid 18: eriodictiol 19: cinamic acid 20: quercetin 21: luteolin 22: kaempferol 23: apigenin B: 1% (g / ml) lavender extract control C: Lavender extract irradiated for phyto-nano synthesis D: Dark lavender extract for phyto-nano synthesis

**Table 2.** Some flavonoid value of Lavender extracts used in phyto-synthesis (ppm).

	Gallic acid	p-Hydroxy benzoic acid	Caffeic acid	Epicatechin	Syringic acid	p-Coumaric acid
Lavender extract (control)	0.2	0.9	2.2	3.6	14.5	5.3
Synthesis in dark	0.1	0.6	1.6	2.8	13.5	4.7
Synthesis with light	0.1	0.7	1.9	4.2	13.3	4.5

**Figure 7.** Schematic theory: A: possible epicatechin synthesis and Ag reduction and primer aliphatic amines synthesis with metal (Ag) nanoparticles in B: light C: dark.

#### 4. Discussion and Conclusion

A photocatalysis occurred in the specified artificial daylight region, as supported by the color change in the lavender extract and another character analysis. Our study reveals the linear relationship of AgNW elongation by rotating the reduced silver particles counterclockwise in an aqueous medium and increasing gravity (centrifugation) in this direction. The reason why AgNW synthesis is almost absent in the light environment is probably that the reaction catalyzed by light accelerates AgNP synthesis but prevents AgNW synthesis [37]. In FTIR results, the stronger peaks of the bands belonging to the alcohol groups in dark application strengthen the idea that light-catalyzed reactions may be more effective in components containing alcohol. The difference in the number of flavonoids measured after light and dark reactions suggests that the cyclic compounds in the extract may be effective in photocatalysis. In another aspect, it may be using silver as the source in the reaction during photocatalysis and preventing the silver atoms from sticking together for AgNW elongation. In this method we propose, a polymer mold is not required to guide the shape of the particles, as in the soft-template method, to produce nanowires. On the contrary, the mechanics of the aqueous environment provided by centrifugation enable the elongation of the nanoparticles. The method is based on simple, ecological, and economical chemical and kinetic principles. It takes place with low energy consumption at low temperatures.

However, the synthesis of AgNW with this technique requires improvement even though it is a guide to cheap and easy production. Our work can act as a guide for chemical engineers in the design of processes so that the herbal extracts that are produced as waste in the cosmetics, pharmaceutical, and food industries in the future can be used in AgNW synthesis.

#### Declaration of Ethical Code

*In this study, we undertake that all the rules required to be followed within the scope of the "Higher Education Institutions Scientific Research and Publication Ethics Directive" are complied with, and that none of the actions stated under the heading "Actions Against Scientific Research and Publication Ethics" are not carried out.*

## References

- [1] Chandra, H., Kumari, P., Bontempi, E., Yadav, S. 2020. Medicinal plants: Treasure trove for green synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101518.
- [2] Salleh, A., Naomi, R., Utami, N. D., Mohammad, A. W., Mahmoudi, E., Mustafa, N., & Fauzi, M. B. 2020. The potential of silver nanoparticles for antiviral and antibacterial applications: A mechanism of action. *Nanomaterials*, 10(8), 1566.
- [3] Jiang, H., Yan, X., Miao, J., You, M., Zhu, Y., Pan, J., Wang, L., Cheng, X. 2021. Super-conductive silver nanoparticles functioned three-dimensional Cu<sub>2</sub>O foams as a high-pseudocapacitive electrode for flexible asymmetric supercapacitors. *Journal of Materiomics*, 7(1), 156-165.
- [4] Kwon, J., Suh, Y. D., Lee, J., Lee, P., Han, S., Hong, S., Yeo, J., Lee, H., Ko, S. H. 2018. Recent progress in silver nanowire based flexible/wearable optoelectronics. *Journal of Materials Chemistry C*, 6 (28), 7445-7461.
- [5] Liu, W. J., Liu, M. L., Lin, S., Liu, J. C., Lei, M., Wu, H., Dai, C. Q., Wei, Z. Y. 2019. Synthesis of high quality silver nanowires and their applications in ultrafast photonics. *Optics Express*, 27(12), 16440-16448
- [6] Williams, N. X., Noyce, S., Cardenas, J. A., Catenacci, M., Wiley, B. J., Franklin, A. D. 2019. Silver nanowire inks for direct-write electronic tattoo applications. *Nanoscale*, 11(30), 14294-14302.
- [7] Yu, Z., Li, L., Zhang, Q., Hu, W., Pei, Q. 2011. Silver nanowire-polymer composite electrodes for efficient polymer solar cells. *Advanced Materials*, 23(38), 4453-4457.
- [8] Lah, N. A. C., Trigueros, S. 2019. Synthesis and modelling of the mechanical properties of Ag, Au and Cu nanowires. *Science and Technology of Advanced Materials*, 20(1), 225-261.
- [9] Zhang, P., Wyman, I., Hu, J., Lin, S., Zhong, Z., Tu, Y., Huang, Z., Wei, Y. 2017. Silver nanowires: Synthesis technologies, growth mechanism and multifunctional applications. *Materials Science and Engineering: B*, 223, 1-23.
- [10] Chen, L., Huo, Y., Han, Y. X., Li, J. F., Ali, H., Batjikh, I., Hurh, J., Pu, Y.J., Yang, D. C. 2020. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles from *Scutellaria baicalensis* roots and in vitro applications. *Applied Physics A*, 126, 1-12.
- [11] Radulescu, C., Stihl, C., Ilie, M., Lazurcă, D., Gruia, R., Olaru, O. T., Bute, O., C., Dulama, I., D., Stirbescu R. M., Teodorescu, S., Florescu, M. 2017. Characterization of Phenolics in *Lavandula angustifolia*. *Analytical Letters*, 50(17), 2839-2850.
- [12] Horta-Piñeres, S., Hurtado, R. B., Avila-Padilla, D., Cortez-Valadez, M., Flores-López, N. S., Flores-Acosta, M. 2020. Silver nanoparticle-decorated silver nanowires: a nanocomposite via green synthesis. *Applied Physics A*, 126(1), 15.
- [13] Borase, H.P., Salunke, B.K., Salunkhe, R.B., Pati, C.D., Hallsworth, J.E., Kim, B.S., Patil, S.V. 2014. Plant extract: a promising biomatrix for ecofriendly, controlled synthesis of silver nanoparticles. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173(1), 1-29.
- [14] Wang, Y., O'Connor, D., Shen, Z., Lo, I.M, Tsang, D.C., Pehkonene, S., Pu, S., Hou, D. 2019. Green synthesis of nanoparticles for the remediation of contaminated waters and soils: Constituents, synthesizing methods, and influencing factors. *Journal of Cleaner Production*, 226, 540-549.
- [15] Rana, A., Yadav, K., Jagadevan, S.A., 2020. comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity. *Journal of Cleaner Production*, 272, 122880.
- [16] Wang, J., Zhang, S., Shi, Z., Jiu, J., Wu, C., Sugahara, T., Nagao, S., Sugauma, K., He, P. 2018. Nanoridge patterns on polymeric film by a photodegradation copying method for metallic nanowire networks. *Royal Society of Chemistry Advances*, 8(71), 40740-40747.
- [17] Begum, R., Farooqi, Z. H., Naseem, K., Ali, F., Batool, M., Xiao, J., Irfan, A. 2018. Applications of UV/Vis spectroscopy in characterization and catalytic activity of noble metal nanoparticles fabricated in responsive polymer microgels: a review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 48(6), 503-516.
- [18] Yousaf, H., Mehmood, A., Ahmad, K. S., Raffi, M. 2020. Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as an alternative antibacterial and antioxidant agents. *Materials Science and Engineering: C*, 112, 110901.
- [19] Vaidyanathan, R., Gopalram, S., Kalishwaralal, K., Deepak, V., Pandian, S. R. K., Gurunathan, S. 2010. Enhanced silver nanoparticle synthesis by optimization of nitrate reductase activity. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 335-341.
- [20] Fatima, R., Priya, M., Indurthi, L., Radhakrishnan, V., Sudhakaran, R. 2020. Biosynthesis of silver nanoparticles using red

- algae *Portieria hornemannii* and its antibacterial activity against fish pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 138, 103780.
- [21] Cao, K., Yang, H., Gao, L., Han, Y., Feng, J., Yang, H., Zhang, H., Wang, W., Lu, Y. 2020. In situ mechanical characterization of silver nanowire/graphene hybrids films for flexible electronics. *International Journal of Smart and Nano Materials*, 11(3), 265-276.
- [22] Ezra, L., O'Dell, Z.J., Hui, J., Riley, K.R. 2020. Emerging investigator series: quantifying silver nanoparticle aggregation kinetics in real-time using particle impact voltammetry coupled with UV-vis spectroscopy. *Environmental Science: Nano*, 7(9), 2509-2521.
- [23] Parente, M., Van Helvert, M., Hamans, R.F., Verbraekken, R., Sinha, R., Bieberle-Hütter, A., Baldi, A. 2020. Simple and Fast High-Yield Synthesis of Silver Nanowires. *Nano Letters*, 20(8), 5759-5764.
- [24] Liu, L., He, C., Li, J., Guo, J., Yang, D., & Wei, J. 2013. Green synthesis of silver nanowires via ultraviolet irradiation catalyzed by phosphomolybdic acid and their antibacterial properties. *New Journal of Chemistry*, 37(7), 2179-2185.
- [25] Kim, T. Y., Kim, W. J., Hong, S. H., Kim, J. E., Suh, K. S. 2009. Ionic-Liquid-Assisted Formation of Silver Nanowires. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(21), 3806-3809.
- [26] Lu, Z., Meng, M., Jiang, Y., Xie, J. 2014. UV-assisted in situ synthesis of silver nanoparticles on silk fibers for antibacterial applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 447, 1-7.
- [27] Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., Upadhyay, S. N. 2016. Light induced green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Prunus amygdalus*. *Green and Sustainable Chemistry*, 6(1), 26-33.
- [28] Vlnieska, V., Zakharova, M., Börner, M., Bade, K., Mohr, J., Kunka, D. 2018. Chemical and Molecular Variations in Commercial Epoxide Photoresists for X-ray Lithography. *Applied Sciences*, 8(4), 528.
- [29] Badri, K.B.H., Sien, W.C., Shahrom, M.S.B.R., Hao, L.C., Baderuliksan, N.Y., Rabbi'atul, N., Norzali, A. 2010. FTIR spectroscopy analysis of the prepolymerization of palm-based polyurethane. *Journal of Solid State Science and Technology*, 18 (2), 1-8.
- [30] Javaherian, M., Kazemi, F., Ayati, S.E., Davarpanah, J., Ramdar, M. 2017. A tandem scalable microwave-assisted Williamson alkyl aryl ether synthesis under mild conditions. *Organic Chemistry Research*, 3(1), 73-85.
- [31] Clavé, G., Garel, C., Poullain, C., Renard, B.L., Olszewski, T.K., Lange, B., Shutcha, M., Faucon, M.P., Grison, C. 2016. Ullmann reaction through ecocatalysis: insights from bioresource and synthetic potential. *Royal Society of Chemistry Advances*, 6(64), 59550-59564.
- [32] Gutzler, R., Cardenas, L., Lipton-Duffin, J., El Garah, M., Dinca, L. E., Szakacs, C. E., ... & Rosei, F., Fu, C., Gallagher, M., Vondráček, M., Rybachuk, M., Perepichka, D.F. 2014. Ullmann-type coupling of brominated tetrathienoanthracene on copper and silver. *Nanoscale*, 6(5), 2660-2668.
- [33] El-Kabbany, E., Badr, Y., Tosson, M., Taha, S., Mahrous, S. A. 1986. Detailed IR Study of the Order-Disorder Phase Transition of  $\text{AgNO}_3$ . *Physica Status Solidi (a)*, 94(1), 35-43.
- [34] Chen, X., Zhang, L., Qian, C., Du, Z., Xu, P., Xiang, Z. 2020. Chemical compositions of essential oil extracted from *Lavandula angustifolia* and its prevention of TPA-induced inflammation. *Microchemical Journal*. 153, 104458.
- [35] Lu, Z., Liu, Y., Zhao, L., Jiang, X., Li, M., Wang, Y., Xu, Y., Gao, L., Xia, T. 2014. Effect of low-intensity white light mediated de-etiolation on the biosynthesis of polyphenols in tea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 328-336.
- [36] Stadlbauer, S., Ohmori, K., Hattori, F., Suzuki, K. 2012. A new synthetic strategy for catechin-class polyphenols: concise synthesis of (-)-epicatechin and its 3-O-gallate. *Chemical Communications*, 48(67), 8425-8427.
- [37] Bhaduri, G.A., Little, R., Khomane, R.B., Lokhande, S.U., Kulkarni, B.D., Mendis, B. G., Šiller, L. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles using sunlight. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 258, 1-9.

## Predicting Present and Future Distribution Ranges of an Endemic Flea Beetle, *Psylliodes anatolicus* Gök and Çilbiroğlu 2004 (Coleoptera: Chrysomelidae) in Türkiye

Ergin TURANTEPE<sup>1</sup>, İsmail ŞEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Süleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, 32260, Isparta, Türkiye

<sup>2</sup>Isparta University of Applied Science, Faculty of Technology, Department of Biomedical Engineering, 32200, Isparta, Türkiye

(Alınış / Received: 20.01.2022, Kabul / Accepted: 11.04.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Keywords

Species distribution modeling, Maxent, Bioclimatic variables, Niche, Extinction

**Abstract:** This study aimed to construct species distribution models (SDMs) to predict present and future (2050 and 2070) potential distribution ranges of the endemic leaf beetle *Psylliodes anatolicus* Gök and Çilbiroğlu, 2004 under different climate change scenarios (Representative Concentration Pathway (RCP) 4.5 and 8.5). The distribution records were gathered from the related literature and unpublished data of the authors. SDMs were constructed by the maximum entropy (MaxEnt) method using the bioclimatic variables of Community Climate System Model 4 (CCSM4). As a result of this study, the most effective bioclimatic factors determining the distribution of species were isothermality, temperature seasonality, and mean temperature of the wettest quarter. The SDM conducted for the present distribution showed that the species may occur in large parts of the Aegean and Mediterranean Regions of Türkiye, beyond the known records. The SDMs for 2050 and 2070 suggest that the range of the species will shrink considerably or go extinct totally in the next 50 years, probably due to the changing climate. In conclusion, this study revealed that changing climate threatens the endemic members of Anatolian biodiversity, especially the endemic species living in mountain ecosystems.

## Endemik Yaprak Böceği, *Psylliodes anatolicus* Gök ve Çilbiroğlu 2004'un (Coleoptera: Chrysomelidae) Türkiye'deki Şimdiki ve Gelecekteki Dağılım Alanının Tahmin Edilmesi

### Anahtar Kelimeler

Tür dağılım modellemesi, Maxent, Biyoiklimsel değişkenler, Niş, Nesli tükenme

**Öz:** Çalışmada, endemik yaprak böceği *Psylliodes anatolicus* Gök ve Çilbiroğlu, 2004'nın günümüz ve farklı iklim değişikliği senaryolarına (Representative Concentration Pathway (RCP) 4.5 ve 8.5) göre gelecekteki (2050 ve 2070) potansiyel yayılış alanlarının tahmin edilmesi için tür dağılım modellerinin yapılması amaçlanmıştır. Türün dağılım kayıtları ilgili literatür ve yazarların yayınlanmamış kayıtlarından derlenmiştir. Türün günümüz ve gelecekteki dağılımları Community Climate System Model 4 (CCSM4) iklim değişikliği senaryolarına göre maksimum entropi (MaxEnt) metodu kullanılarak tahmin edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, izotermallik, en nemli çeyreğin ortalama sıcaklığı ve mevsimsel sıcaklık türün dağılımını belirleyen en etkili biyoiklimsel faktörler olarak bulunmuştur. Günümüz dağılım modeli, bilinen yayılış alanının aksine, türün Ege ve Akdeniz bölgelerinin büyük bir bölümünde bulunabileceğini ortaya koymuştur. Gelecek dağılım modelleri ise, türün dağılım alanının iklim değişikliği nedeniyle 2050 ve 2070 dönemlerinde oldukça daralacağını veya hatta gelecek 50 yıl içinde neslinin tükenebileceğine işaret etmiştir. Bu çalışma değişen iklime bağlı olarak, dağ ekosistemlerinde yaşayan endemik türlerin başta olmak üzere, tüm Anadolu endemik biyoçeşitliliğinin tehdit altında olduğuna işaret etmektedir.

### 1. Introduction

The genus *Psylliodes* Latreille, 1829 includes about 250 species worldwide and 48 in Türkiye. Among

these species, *P. anatolicus* Gök and Çilbiroğlu, *P. cerenae* Gök, Doguet and Çilbiroğlu, *P. diversicolor* Nadein, *P. dogueti* Warchałowski, *P. ridenda* Nadein, *P. taurica* Leonardi, and *P. yalvacensis* Gök are endemic



to Türkiye [1, 2]. It is known that *P. anatolicus*, *P. cerenae*, and *P. yalvacensis* are belonging to the *picinus* species group. Of these species, *P. cerenae* feeds on Poaceae, while *P. anatolicus* and *P. yalvacensis* on Fagaceae (*Quercus*).

All of these three species were distributed sympatrically in Southwestern Türkiye [1, 3-5]. *P. cerenae* is known from Antalya and Isparta Provinces and *P. yalvacensis* was reported only from Isparta Province. Also, *P. anatolicus* is known from a wider range than the other two species and recorded from Antalya, Aydın, Isparta, Konya and Diyarbakır Provinces [4, 6-11] (Figure 1, Table 1). Although the taxonomy of endemic *Psylliodes* species mentioned here is well known, information on their ecology is limited to the host plant records only. Also, information on range limits is restricted to the faunistic records [4, 6-9, 11].

**Table 1.** Species distribution data.

Province	District	Coordinates
Isparta	Gelendost	31.17500,38.15000
Burdur	Gölkhisar	37.13333,29.50000
Isparta	Center	30.48016,37.86314
Isparta	Center	30.76690,37.53815
Antalya	Kumluca	30.26783,36.63700
Isparta	Eğirdir	30.87418,37.62858
Isparta	Şarkikaraağaç	31.37218,38.04001
Aydın	Didim	27.41076,37.55501
Diyarbakır	Çermik	39.46400,38.17300
Konya	Akşehir	31.40089,38.35431
Isparta	Eğirdir	30.83033,37.73911
Antalya	Korkuteli	30.38470,36.88058

For more than two centuries, the distribution area of a species is one of the most fundamental subject matter which has been studied by biogeographers. Also, how the distribution area of the species changes through time is another fundamental subject of biogeography [12, 13]. Species distribution models (SDMs) predict possible distribution areas by combining statistical

modeling methods, which predicts a model that might mathematically explain the dataset, with georeferenced records of the species and the environmental variables [14-17]. SDMs have been more frequently used during the last two-three decades [18, 19]. Thus, SDMs are of great use to evaluate the potential range of species whose distribution areas are not exactly known [20].

Among the endemic *Psylliodes* species mentioned here, *P. anatolicus* establishes populations consisting of a large number of individuals on oak trees within its range [8]. Therefore, this species is likely to cause increment losses in oak trees. From this perspective, it is important to know the exact distribution range of *P. anatolicus*. In this study, the aim was to predict present and future (2050 and 2070) potential distribution ranges of the endemic leaf beetle *P. anatolicus*, which is discontinuously distributed in Southwestern Türkiye, under different climate change scenarios (RCP 4.5 and RCP 8.5) according to Community Climate System Model 4 (CCSM4) model.

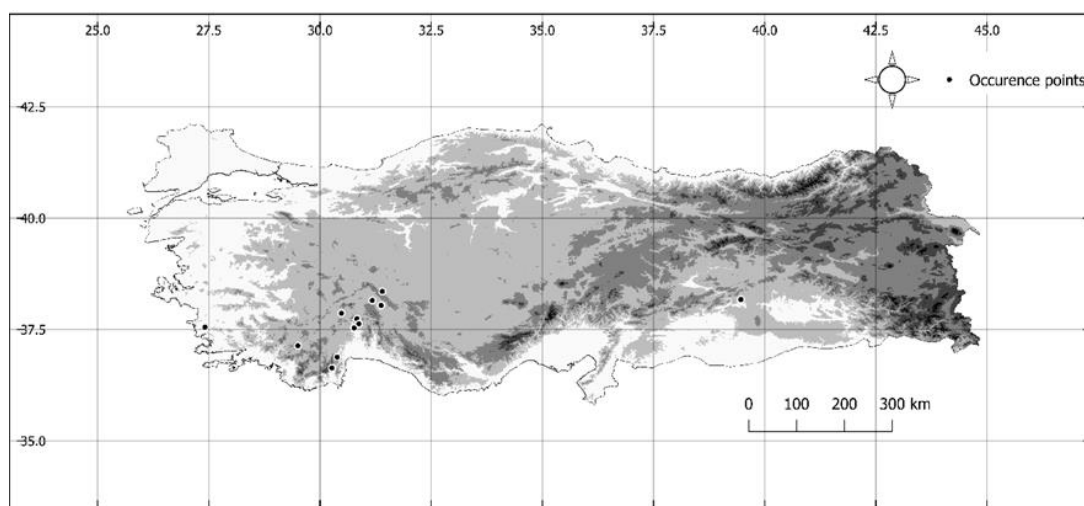
## 2. Material and Method

### 2.1. Species occurrence and environmental data

Species distribution data were acquired from the related literature and unpublished data of the authors [4,6-11] (Figure 1, Table 1). All of the nineteen bioclimatic variables were downloaded from WorldClim [21]. Before the modeling, highly correlated ( $r > 0.75$ ) variables were removed to build a more robust model. To do that, correlations among the variables were determined by using ENMTools v1.0 and raster v3.5-11 packages in RStudio [22-24] and excluded from the analysis [25, 26].

### 2.2. Species distribution modeling (SDM)

SDMs had been carried out using the present and future (2050 and 2070) bioclimatic variables and one optimistic (RCP4.5) and one pessimistic (RCP8.5)



**Figure 1.** Sampling points of *Psylliodes anatolicus* in Türkiye.

climate change scenarios of the CCSM4 global climate model [27]. The resolutions of rasters of the bioclimatic variables were at 30 arc-seconds. During modeling, feature types had been selected linear and quadratic according to used occurrence number (>10) and jackknife test had been used to define the importance of bioclimatic variables [28-30]. The model had been conducted with 10.000 background samples to train the model. Model success was evaluated by using the area under the curve (AUC) score, which calculates the area under Receiver Operating Characteristic Curve (ROC). MaxEnt version 3.4.1 was used to model the distribution of the species [31,32]. In the end, four threshold values had selected when potential distribution maps have created. These thresholds were unsuitable (0-0.25), moderately suitable (0.25-0.50), suitable (0.50-0.75) and very suitable (0.75-1.0).

### 3. Results

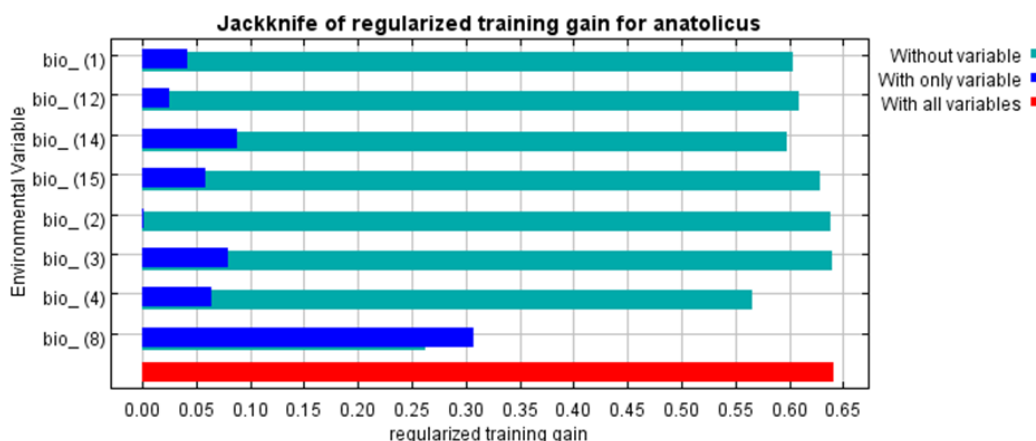
The bioclimatic variables strongly correlated with each other were determined and removed from the

data set. Models were performed with the remaining variables: BIO1, BIO2, BIO3, BIO4, BIO8, BIO12, BIO14 and BIO15 (Table 2). Results showed that the models had a strong predictive ability with the AUC values in the range of 0.881-0.894. According to the jackknife test, variables, which make the biggest contribution to the presence of the species, are isothermality (BIO3), mean temperature of the wettest quarter (BIO8) and precipitation of driest month (BIO14), while the variables that cause the biggest loss with its absence are temperature seasonality (BIO4) and mean temperature of the wettest quarter (BIO8) (Figure 2). According to the relative contributions of the bioclimatic variables to the model, mean temperature of the wettest quarter and temperature seasonality were the most crucial bioclimatic variables that determine species distribution.

The model showed that the current potential distribution range of the species is much wider than its presently known distribution area (Figure 3). SDM suggests that species could be distributed in a large part of the Aegean and Mediterranean Regions, plus

**Table 2.** Bioclimatic variables used and their correlated variables ( $r > 0.75$ ). Code of the bioclimatic variables used in the study are shown with asterisk.

Code	Bioclimatic variables	Correlated variables ( $r > 0.75$ )
BIO1*	Annual Mean Temperature	BIO5, BIO6, BIO9, BIO10, BIO11
BIO2*	Mean Diurnal Range	
BIO3*	Isothermality	
BIO4*	Temperature Seasonality	BIO7
BIO5	Max Temperature of Warmest Month	BIO1, BIO9, BIO10
BIO6	Min Temperature of Coldest Month	BIO 1, BIO 10, BIO 11
BIO7	Temperature Annual Range	BIO4
BIO8*	Mean Temperature of Wettest Quarter	
BIO9	Mean Temperature of Driest Quarter	BIO1, BIO5, BIO10
BIO10	Mean Temperature of Warmest Quarter	BIO1, BIO5, BIO6, BIO9, BIO11
BIO11	Mean Temperature of Coldest Quarter	BIO1, BIO6, BIO10
BIO12*	Annual Precipitation	BIO13, BIO16, BIO19
BIO13	Precipitation of Wettest Month	BIO12, BIO16, BIO19
BIO14*	Precipitation of Driest Month	BIO17, BIO18
BIO15*	Precipitation Seasonality	BIO18
BIO16	Precipitation of Wettest Quarter	BIO12, BIO13, BIO19
BIO17	Precipitation of Driest Quarter	BIO14, BIO18
BIO18	Precipitation of Warmest Quarter	BIO14, BIO15, BIO17
BIO19	Precipitation of Coldest Quarter	BIO12, BIO13, BIO16



**Figure 2.** The relative importance of bioclimatic variables according to the Jackknife test.

the Southeastern and Central Anatolian Regions of Türkiye. The most suitable distribution areas includes Afyonkarahisar, Aksaray, Ankara, Antalya, Burdur, Çanakkale, Denizli, Eskişehir, Isparta, İzmir, Karaman,

Kırıkkale, Kırşehir, Konya, Kütahya, Manisa, Mersin, Uşak and Yozgat Provinces. According to SDMs of 2050 and 2070, the present possible distribution area will extremely shrink. The models based on the RCP4.5

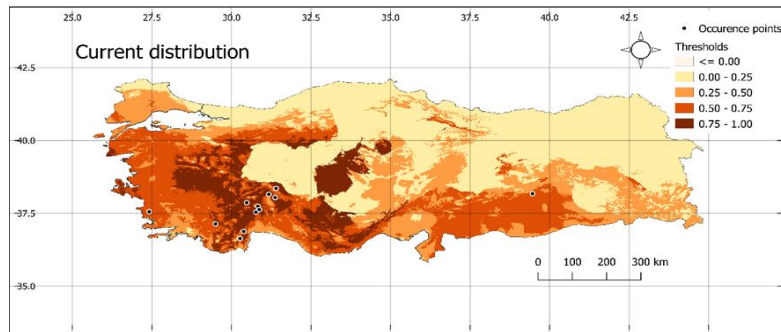


Figure 3. The current potential distribution range of *Psylliodes anatolicus*

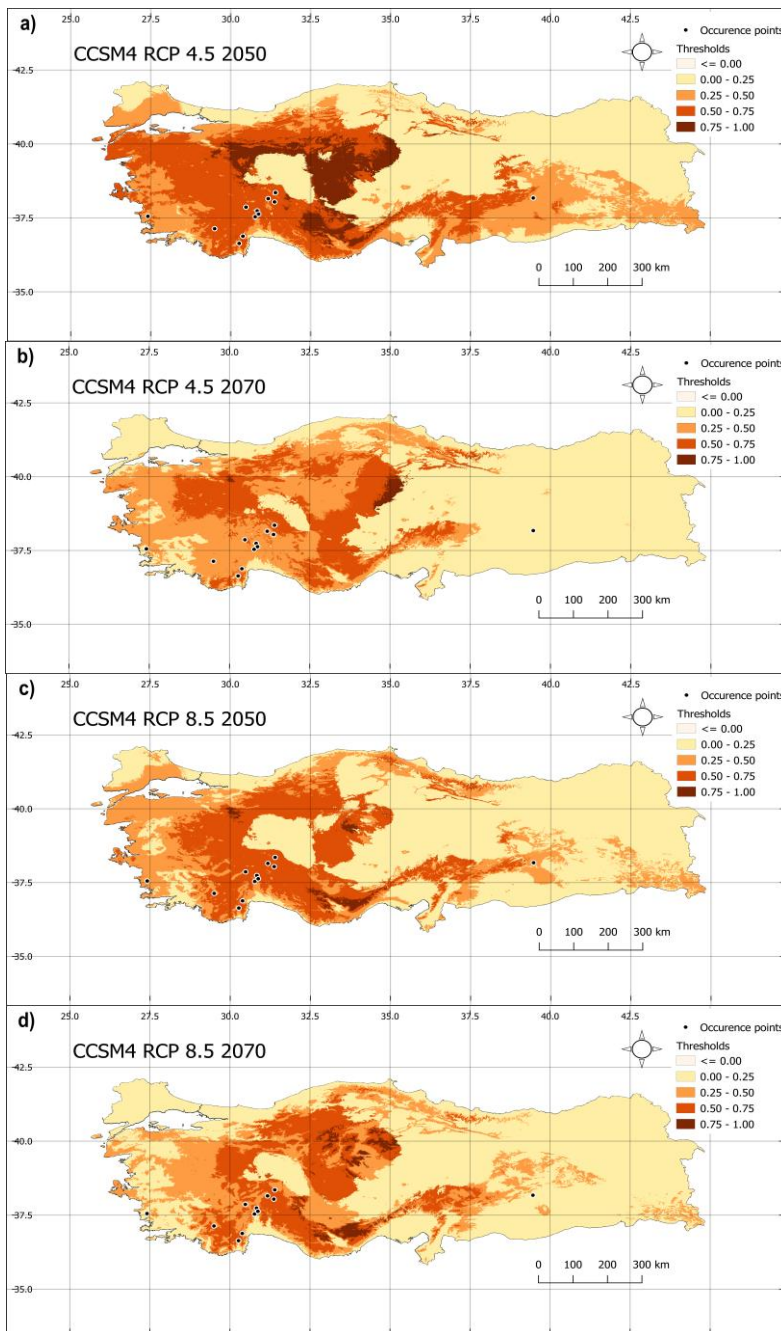


Figure 4. The potential distribution ranges of *Psylliodes anatolicus* in a) 2050 and b) 2070 for RCP 4.5 climate scenario and in c) 2050 and d) 2070 for RCP 8.5 climate scenario.

scenario show that the suitable niches for the species will substantially disappear throughout Anatolia, except Central Anatolia Region (Figure 4a-b) while the models based on the RCP8.5 scenario put forward that there will be suitable habitats at both Central Anatolia Region and Mediterranean Region for *P. anatolicus* (Figure 4c-d).

#### 4. Discussion and Conclusion

Correlation analysis presented that there are eleven strongly correlated bioclimatic variables. The remaining eight bioclimatic variables are related to both temperature and precipitation. This shows that the range of the species is limited not only by temperature but also by humidity. It is known that temperature has a significant impact on insects from growth rates, metabolism, and body size to life history, geographic ranges, and species diversity [33]. Also, temperature seasonality defines the thermal tolerance limits of a species [34,35]. Most probably, temperature seasonality determines the elevation-dependent distributions of this species. Thus, the species seems to be a thermal specialist has narrower elevation ranges. On the other hand, increased precipitation is known to have a substantial impact on insects by limit insect flight ability [36]. Thus, the species most probably prefers areas with relatively dry summer seasons because precipitation limits its flying capacity.

Studies conducted on other leaf beetle species have also presented that isothermality (BIO3), temperature seasonality (BIO4) and mean temperature of the wettest quarter (BIO8) are determinants of the distribution of some Galerucinae and Cryptocephalinae species such as *Aphthona alcina*, *A. perrisi*, *A. wagneri* (BIO4, BIO9, BIO15), *Neocrepidodera ligurica* and *N. melanostoma* (BIO3, BIO4, BIO6, BIO8, BIO18, BIO19), *N. cyanescens concolor* and *N. cyanescens cyanescens* (BIO3, BIO4, BIO6, BIO8, BIO18), *N. corpulenta* and *N. rhaetica* (BIO3, BIO4, BIO6, BIO8, BIO18, BIO19), *Cryptocephalus bari* (BIO2, BIO3, BIO17), and *C. bameuli* (BIO3, BIO14) [20,37,38,39]. According to our model, the suitable current distribution range of *P. anatolicus* is very large covering from Aegean, Mediterranean, and also Southeastern Anatolian Regions, plus some parts of the Central Anatolia. Future SDMs suggested that the suitable range of the species would have been extremely shrunk up, to 2070, possibly because of climate change as the isothermality (BIO3), temperature seasonality (BIO4) and mean temperature of the wettest quarter (BIO8) are the main determinants of the species range. In general, the survival chance of a species under climate change is dependent on the ability to shift its range towards suitable habitats. [40-42]. However, the SDM for 2050 and 2070 showed that the species would not find suitable and very suitable habitats fitting to its ecological requirements. As a result, it can be concluded that the species will have to distribute in

harsh conditions (unsuitable and moderately suitable habitats) in terms of its ecological requirements. On the other hand, it was proved that some *Quercus* species may also have to change their distribution range in Türkiye because of changing climate [43,44]. It is a known fact that the species with smaller distribution ranges and with narrow habitat breadths are more at risk than others [45]. In conclusion, similarly, the present study showed that this phytophagous and endemic leaf beetle species with a small distribution range would survive as small isolated populations because both itself and its host plants (*Quercus* spp.) are adversely affected by the changing climate.

#### Declaration of Ethical Code

*In this study, we undertake that all the rules required to be followed within the scope of the "Higher Education Institutions Scientific Research and Publication Ethics Directive" are complied with, and that none of the actions stated under the heading "Actions Against Scientific Research and Publication Ethics" are not carried out.*

#### References

- [1] Döberl, M. 2010. Subfamily Alticinae. pp. 491–563. Löbl, I., Smetana, A. ed. 2010. Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Volume 6: Chrysomeloidea. Apollo Books, Stenstrup, 924 pp.
- [2] Ekiz, A. N., Şen, İ., Aslan, E. G., Gök, A. 2013. Checklist of leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) of Turkey, excluding Bruchinae. Journal of Natural History, 47(33-34), 2213-2287.
- [3] Gök, A., Doguet, S., Çilbıroğlu, E. G. 2003. *Psylliodes cerenae* sp. nov., a new Alticinae species from Southwest Turkey (Coleoptera: Chrysomelidae). Annales Zoologici 53(2), 201-202.
- [4] Gök, A., Çilbıroğlu, E. G. 2004. A new species of the genus *Psylliodes* Latreille (Coleoptera: Chrysomelidae) from Turkey. Zootaxa, 440(1), 1-6.
- [5] Gök, A. 2005. *Psylliodes yalvacensis* sp. n. (Coleoptera: Chrysomelidae, Alticinae) from Turkey. Biologia, 60, 133-135.
- [6] Şen, İ., Gök, A. 2009. Leaf beetle communities (Coleoptera: Chrysomelidae) of two mixed forest ecosystems dominated by pine-oak-hawthorn in Isparta province, Turkey. Annales Zoologici Fennici, 46 (3), 217-232.
- [7] Aslan, E. G. 2010. Comparative diversity of Alticinae (Coleoptera: Chrysomelidae) between Çıglıkara and Dibek nature reserves in Antalya, Turkey. Biologia, Bratislava, 65 (2), 316-324.

- [8] Şen, İ., Gök, A. 2014. Leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) communities of Kovada Lake and Kızıldağ national parks (Isparta, Turkey): assessing the effects of habitat types. *Entomological Research*, 44 (3), 176–190.
- [9] Bayram, F., Aslan, E. G. 2015. Comparison of Alticini (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) species diversity in different habitats selected from Bafa Lake Natural Park (Aydın) basin with a new record for Turkish fauna. *Turkish Journal of Entomology*, 39(2), 147-157.
- [10] Şimşek, A., Bolu, H. 2017. Diyarbakır İli antepfıstığı *Pistacia vera* L. bahçelerindeki zararlı böcek faunasının belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 43-58.
- [11] Aslan, E. G. 2018. Alticini (Coleoptera: Chrysomelidae) species occurring on Akşehir extensions (Konya) of the Sultan Mountains, Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, 11(3), 122-125.
- [12] Brown, J. H., Stevens, G. C., Kaufman, D. M. 1996. The geographic range: size, shape, boundaries, and internal structure. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 597– 623.
- [13] Ebach, M. C. 2015. A History of Biogeography for the Twenty-First Century Biogeographer. pp. 1-20. Ebach, M. C. 2015. *Origins of Biogeography* Springer, Dordrecht, 185 pp.
- [14] Elith, J., Leathwick, J. R. 2009. Species distribution models: ecological explanation and prediction across space and time. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40, 677–697.
- [15] Franklin, J. 2010. *Mapping Species Distributions: Spatial Inference and Prediction*. Cambridge University Press, Cambridge, 320 pp.
- [16] Elith, J., Franklin, J. 2013. Species distribution modelling. pp. 692–705. Levin, S. A. ed. 2013. *Encyclopedia of Biodiversity*. Academic Press, Waltham, MA, 5504 pp.
- [17] Moses, A. 2017. *Statistical modeling and machine learning for molecular biology*. Chapman and Hall/CRC, New York, 280 pp.
- [18] Guisan, A., Thuiller, W. 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, 8(9), 993-1009.
- [19] Dambach, J., Rödder, D. 2010. Applications and future challenges in marine species distribution modeling. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 21(1), 92–100.
- [20] Brunetti, M., Magoga, G., Iannella, M., Biondi, M., Montagna, M. 2019. Phylogeography and species distribution modelling of *Cryptocephalus barii* (Coleoptera: Chrysomelidae): is this alpine endemic species close to extinction? *ZooKeys*, 856, 3-25.
- [21] Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., Jarvis, A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology: A Journal of the Royal Meteorological Society*, 25(15), 1965-1978.
- [22] Hijmans, R. J. 2021. Package ‘raster’ Geographic Data Analysis and Modeling. <https://cran.r-project.org/web/packages/raster/index.html> (Date Accessed: 10.12.2021).
- [23] RStudio Team 2021. RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA. <http://www.rstudio.com/>. (Date Accessed: 10.12.2021).
- [24] Warren, D. L., Matzke, N. J., Cardillo, M., Baumgartner, J. B., Beaumont, L. J., Turelli, M., Glor, R. E., Huron, N. A., Simões, M., Iglesias, T. L. Piquet, J. C., Dinnage, R. 2021. ENMTools 1.0: an R package for comparative ecological biogeography. *Ecography*, 44(4), 504-511.
- [25] Elith, J., Kearney, M., Phillips, S. 2010. The art of modelling range shifting species. *Methods in Ecology and Evolution/British Ecological Society* 1, 330–342.
- [26] Stohlgren, T. J., Ma, P., Kumar, S., Rocca, M., Morissette, J. T., Jarnevich, C. S., Benson, N. 2010. Ensemble habitat mapping of invasive plant species. *Risk Analysis* 30, 224–235.
- [27] Gent, P. R., Danabasoglu, G., Donner, L. J., Holland, M. M., Hunke, E. C., Jayne, S. R., Lawrenceits, D. M., Neale, R. B., Rasch, P. J., Vertenstein, M., Worley, P., Yang, Z. L., Zhang, M. 2011. The community climate system model version 4. *Journal of Climate*, 24(19), 4973-4991.
- [28] Barry, S. C., Elith, J. 2006. Error and uncertainty in habitat models. *Journal of Applied Ecology*, 43, 413–423.
- [29] Pearson, R. G., Raxworthy, C. J., Nakamura, M., Townsend Peterson, A. 2007. Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, 34, 102–117.
- [30] Elith, J., Phillips, S. J., Hastie, T., Dudík, M., Chee, Y. E., Yates, C. J. 2010. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and distributions*, 17(1), 43-57.
- [31] Phillips, S. J., Anderson, R. P., Schapire, R. E. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231–259.
- [32] Phillips, S. J., Anderson, R. P., Dudík, M., Schapire, R. E., Blair, M. E. 2017. Opening the black box: an open-source release of Maxent. *Ecography*, 40, 887–893.

- [33] Angilletta, M. J. 2009. Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis. Oxford University Press, New York. 302 pp.
- [34] Janzen, D. H. 1967. Why mountain passes are higher in the tropics. *The American Naturalist*, 101(919), 233-249.
- [35] Ghalambor, C. K., Huey, R. B., Martin, P. R., Tewksbury, J. J., Wang, G. 2006. Are mountain passes higher in the tropics? Janzen's hypothesis revisited. *Integrative and Comparative Biology*, 46(1): 5-17.
- [36] Gough, L. A., Sverdrup-Thygeson, A., Milberg, P., Pilskog, H. E., Jansson, N., Jonsell, M., Birkemoe, T. 2015. Specialists in ancient trees are more affected by climate than generalists. *Ecology and evolution*, 5(23), 5632-5641.
- [37] Urbani, F., D'Alessandro, P., Frasca, R., Biondi, M. 2015. Maximum entropy modeling of geographic distributions of the flea beetle species endemic in Italy (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae: Alticini). *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, 258, 99-109.
- [38] Cerasoli, F., Thuiller, W., Guéguen, M., Renaud, J., D'Alessandro, P., Biondi M. 2020. The role of climate and biotic factors in shaping current distributions and potential future shifts of European Neocrepidodera (Coleoptera, Chrysomelidae). *Insect Conservation and Diversity*, 13, 47-62.
- [39] Kubisz, D., Magoga, G., Mazur, M. A., Montagna, M., Ścibior, R., Tykarski, P., Kajtoch, L. 2020. Biogeography and ecology of geographically distant populations of sibling *Cryptocephalus* leaf beetles. *The European Zoological Journal*, 87(1), 223-234.
- [40] Pearson, R. G. 2006. Climate change and the migration capacity of species. *Trends in Ecology and Evolution*, 21, 111-113.
- [41] Engler, R., Randin, C.F., Vittoz, P., Czaka, T., Beniston, M., Zimmermann, N. E., Guisan, A. 2009. Predicting future distributions of mountain plants under climate change: does dispersal capacity matter? *Ecography*, 32, 34-45.
- [42] Ozinga W. A., Romer mann, C., Bekker, R. M. Prinzing, A., Tamis, W. L. M., Schaminee, J. H. J., Hennekens, S. M., Thompson, K., Poschlod, P., Kleyer, M., Bakker, J. P., van Groenendael, J. M. 2009. Dispersal failure contributes to plant losses in NW Europe. *Ecology Letters*, 12, 66-74.
- [43] oban, H. O., Orucu, O. K., Arslan, E. S. 2020. MaxEnt modeling for predicting the current and future potential geographical distribution of *Quercus libani* Olivier. *Sustainability*, 12(7), 2671.
- [44] Babalik, A. A., Sarikaya, O., Orucu, O. K. 2021. The current and future compliance areas of kermes oak (*Quercus coccifera* L.) under climate change in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(1), 406-413.
- [45] Chichorro, F., Juslen, A., Cardoso, P. 2019. A review of the relation between species traits and extinction risk. *Biological Conservation*, 237, 220-229.

## Makarnalık Buğdayda (*Triticum durum* L.) Generasyon Süresinin Kısaltılmasında Hızlı İslah Tekniğinin Uygulanabilirliği

Remzi ÖZKAN<sup>1</sup>, Merve BAYHAN<sup>1</sup>, Mehmet YILDIRIM<sup>1</sup>, Cuma AKINCI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 21200, Diyarbakır, Türkiye

(Alınış / Received: 31.01.2022, Kabul / Accepted: 31.03.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

Fotoperiyot,  
Generasyon,  
Hızlı ıslah,  
Makarnalık buğday

**Öz:** Bu çalışmada bazı makarnalık buğday genotiplerinin hızlı ıslah (speed breeding) koşullarına tepkisi araştırılmış ve uzun fotoperiyot koşullarının buğdayda verim ile doğrudan ilişkili olan bitki boyu ve başak özellikleri üzerine etkisi belirlenmiştir. Araştırma Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesinde bulunan Tarla Bitkileri Bölümüne ait yarı kontrollü sera ortamında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada materyal olarak 4 adet makarnalık buğday genotipi (Svevo, Sena, Burgos ve TBT16-9) kullanılmıştır. Bitkiler hızlı ıslah (speed breeding) koşullarının temel esaslarına göre 22 saat ışık 2 saat karanlık koşullardan oluşan uzun fotoperiyot süresine maruz bırakılmış, ardından çiçeklenmeden 20 gün sonra hasat edilmiştir. Hızlı ıslah sürecinde elde edilen tohumlara, dormansi kırma metodu (+4 °C'de bekletme) uygulanması, normal çimlendirme şartlarına kıyasla genotiplerin çimlenme oranında %10.01 artış yapmıştır. Dormansi uygulanmadan %80 çimlenme değeri elde edilmiştir. Erkenlik ve bitki boyunun verim kriterleri ile güçlü ve pozitif ilişkilerde bulunması, bu özelliklerin hızlı ıslah koşullarında geliştirilecek genotiplerin erken generasyonlarında seleksiyon kriteri olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Araştırma neticesinde hızlı ıslah (speed breeding) koşullarında yetiştirilen makarnalık buğday genotiplerinden Svevo çeşidi uzun fotoperiyot koşullarına en iyi tepkiyi veren genotip olmuştur.

## Applicability of Speed Breeding Technique in Shorten the Generation Cycle in Durum Wheat (*Triticum durum* L.)

### Keywords

Durum wheat,  
Generation,  
Photoperiod,  
Speed breeding

**Abstract:** In this study, the response of some durum wheat genotypes to speed breeding conditions was investigated and the effect of long photoperiod conditions on plant height and spike characteristics, which are considered as yield criteria in wheat, was determined. The research was carried out in the semi-controlled greenhouse environment of the Field Crops Department in Dicle University Faculty of Agriculture. Four durum wheat genotypes (Svevo, Sena, Burgos and TBT16-9) were used as material in the study. Plants were exposed to a long photoperiod of 22 hours light and 2 hours dark conditions according to the basic principles of speed breeding, then harvested 20 days after anthesis and finally subjected to cold application to break dormancy. Method for breaking dormancy (+4 °C application) increased the germination rate of genotypes by 10.01% compared to normal germination conditions. Average germination rate was 80% without dormancy process. The strong relationship between earliness, plant height with yield criteria has shown that these parameters can be used as a selection criterion in early generations of genotypes to be developed under speed breeding conditions. As a result of the research, Svevo variety was the best response to long photoperiod conditions.

### 1. Giriş

Buğday tahılları içerisinde ilk kültüre alınan, dünyada ekim alanı, üretimi ve tüketimi fazla olan kültür

bitkilerinden birisidir. Ayrıca sahip olduğu yüksek adaptasyon yeteneği sayesinde de farklı iklim ve bölgelerde yetiştirilebilme üstünlüğü buğdayı stratejik olarak önemli bir bitki haline getirmektedir.

Dünya üzerinde yaşayan 7.8 milyar insanın 2050 yılına kadar yaklaşık olarak 10 milyara çıkacağı tahmin edilmekte ve hızla artan dünya nüfusunun beslenme ihtiyacının var olan kaynaklar ile karşılanamayacağı öngörülmektedir. Nüfus artışı ile birlikte değişen çevre koşullarında sadece gıda temini zorlaştırmamakta, aynı zamanda birçok ihtiyaç için temin sorununa sebep olmasının yanında ülkelerin kalkınma hızlarının yavaşlamasına, ekonomik ve sosyal sorunların artmasına da neden olmaktadır [1].

Bazı temel gıda ürünlerinin yetiştiriciliğinde generasyon sürelerinin çok uzun olması, gelecekte nüfus artışına paralel olarak yeteri kadar ürüne erişememe sorununu ortaya çıkaracaktır. Birçok bitki grubu için klasik ıslah çalışmaları ile yeni bir çeşit geliştirilmesinde uzun bir süreç ile beraber yoğun emeğe de ihtiyaç duyulmaktadır. Genetik safiyetin sağlanması klasik ıslah yöntemleriyle en az 6-7 generasyon atlatılması gerekmektedir. Ancak bazen bu uzun sürecin sonunda arzu edilen özelliklere sahip hatlar elde edilememektedir. Böyle durumlarda hem uzun süren yıllar boşa gitmekte hem de verilen emekler sonucu başarı sağlanamamaktadır. Bu sebeplerden dolayı ıslah çalışmalarında uzun yıllar alan süreyi kısaltmak ve mevcut ıslah programlarından daha etkin faydalanılması için yeni teknolojilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bahsi geçen bu yeni teknolojilerden biri de hızlı ıslah tekniğidir. Bu teknik ile popülasyonlarda uzun süreli fotoperiyotlar kullanılarak hızlı generasyon ilerlemesi sağlanmakta ve yeni çeşitler kısa sürede (yılda 5-6 generasyon) çiftçilerin kullanımına sunulmaktadır. Hızlı ıslah tekniğinde, uzun gün/nötr gün bitkilerinin daha fazla gün ışığından faydalanılması sağlanmakta ve erken dönemde bitkilerin hasat edilmesiyle tek tohuma dayalı olarak generasyon atlaması sağlanarak ıslah süresi kısaltılmaktadır [2]. NASA'ya ait uzay istasyonlarında bitki yetiştirmesinden esinlenerek geliştirilen bu yöntem 3 temel özelliğe dayanmaktadır. Bunlardan birincisi ışıklandırma süresinin uzatılması (22 saat), ikincisi tohumların tamamen olgunlaşmadan önce hasadı (çiçeklenmeden 15-20 gün sonra) ve son olarak üçüncüsü dormansinin kırılması için soğuk uygulamasına (tohumların etüvde kurutulmasında sonra 4 °C'de 3-5 gün tutulması) dayanmaktadır [3, 4].

Hızlı ıslah tekniği, genetik olarak iyi tanımlanmış özellikler için marköre dayalı seleksiyonda ve elit hatların hızlı bir şekilde yetiştirilmesinde kullanılabilir [5]. Hızlı ıslah protokolleri, modern ıslah yöntemlerinin kullanılmasına yardımcı olacaktır. Örneğin; hızlı ıslah sisteminde rekombinant kendilenmiş hatların hızlı gelişimi, hızlı genomik destekli ıslah yaklaşımlarını kolaylaştırabilir [6-8]. Ayrıca, hızlı ıslah sistemi ile genom düzenleme teknikleri de geliştirilebilir. Cas9 geninin bitkiye başarılı bir şekilde transferinden sonra, transgenik bitki, mümkün olduğunca erken transgenik tohumlar elde etmek için hızlı ıslah koşullarında büyütülebilir

[9]. Araştırmacılar farklı bitki grupları için farklı protokoller geliştirilmişlerdir; Pirinç (*Oryza sativa* L.) [10, 11], kanola (*Brassica napus* L.), arpa ve buğday [4], fıstık (*Arachis hypogaea* L.) [8] ve soya fasulyesi (*Glycine max* (L.) Merr.) [11, 12].

Normal sera koşullarında yılda 2-3 generasyonun alınabildiği bazı serin iklim tahılları (ekmeklik buğday, makarnalık buğday, arpa) ve baklagil bitkilerinde (nohut ve bezelye) hızlı ıslah yöntemiyle yılda 6 generasyon, kanolada ise yılda 4 generasyon ürün almışlardır [4]. Hızlı ıslah tekniği ile F2 generasyonundaki makarnalık buğdayda farklı kantitatif özelliklerin (kahverengi pas, kök çürüklüğü, bitki boyu, kök açısı ve seminal kök sayısı) seleksiyonunu gerçekleştirmişlerdir [13]. Bu teknik ile generasyon süresi yazlık buğday çeşitlerinde yaklaşık olarak 60 gün; melezleme programının uyguladığı başka bir çalışmada ise yaklaşık olarak 70 günde tamamlanmıştır [14]. Özellikle buğday, arpa, nohut, mercimek ve bezelye gibi uzun gün bitkilerinde hızlı ıslah metodunun etkin bir şekilde kullanılmasıyla yılda 6 generasyon ürün alınabileceği ve bu sayede ülkemizde yeni çeşitlerin kısa sürede elde edilebileceği ön görülmektedir.

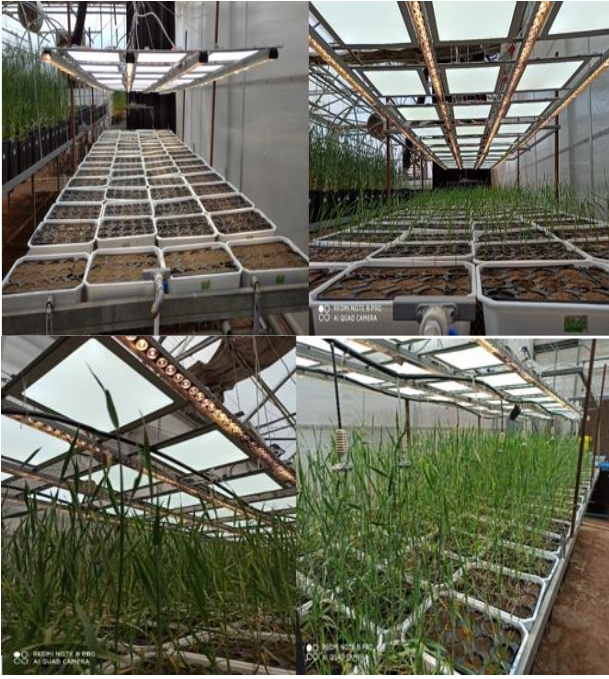
Bu çalışmada bazı makarnalık buğday genotiplerinin hızlı ıslah koşullarına tepkisi araştırılmış ve uzun fotoperiyot koşullarının buğdayda verim kriterleri olarak sayılan bitki boyu ve başak özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

Araştırma 2020 yılında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümüne ait yarı kontrollü sera ortamında gerçekleştirilmiştir. Araştırmada materyal olarak 4 adet makarnalık buğday genotipi (Svevo, Sena, Burgos ve TBT16-9) kullanılmıştır (Tablo 1). Tohumlar ebatları 130 cm<sup>3</sup> (dış ebat: 51x32 cm, ağız çapı: 7 cm ve derinlik: 7 cm) olan 15 gözlü fide viyollerinde ekilmiştir (Şekil 1). Her 15 gözlü fide viyölünün bir tekerrür olarak kabul edildiği çalışma, 4 tekerrürlü olacak şekilde Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre kurulmuştur. Her bir viyol gözünde bir bitki olacak şekilde ekim yapılmış ve viyollerde toprak materyali olarak hazır torf kullanılmıştır. Ekim işlemi 25.03.2020 tarihinde gerçekleştirilmiştir.

Bitkiler 22 saat ışık 2 saat karanlık koşullardan oluşan hızlı ıslah (speed breeding) ortamında uzun fotoperiyoda maruz bırakılmıştır. Denemede kullanılan LED lambalar periyodik olarak, gece saat 02.00'da yanıp, gece saat 00.00'da sönen bir otomasyon sistemi ile kontrol edilmiştir [3, 4]. Çalışmada kırmızı, sarı ve mor renkleri barındıran şerit ledler (276.15 µmol/(m<sup>2</sup>s)) kullanılmıştır. Sabit bitki yetiştirme masası üzerine ayarlanabilir hareketli bir sistem kurulmuş ve bitki ile led ışık arası mesafe gelişim boyunca 20 cm olacak şekilde sabitlenmiştir (Şekil 2).





Şekil 1. Çalışmaya ait görseller.



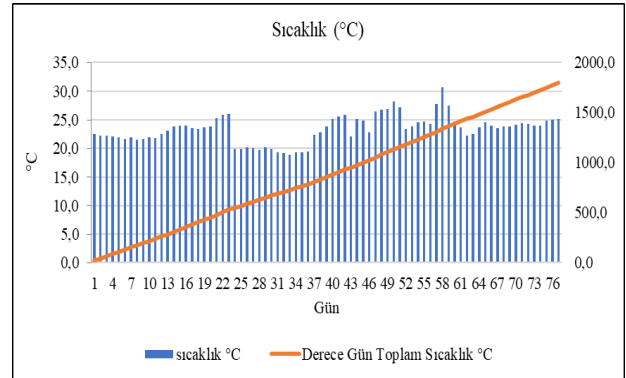
Şekil 2. Genotiplerden elde edilen başak örnekleri.

Genotip	Orjin/Menşei	Bitkisel Özellikler
Svevo	İtalya	Altrnatif gelişme tabiatlı, erkenci, kardeşlenme yüksek, yatmaya dayanıklı, sulamaya elverişlidir.
Burgos	Fito Tohumculuk	Yazlık gelişme tabiatlı, erkenci, kuraklığa ve yatmaya, pas hastalığına karşı dayanıklıdır.
Sena	Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi	Yazlık gelişme tabiatlı, orta erkenci, bitki boyu kısa-orta, bayrak yaprak kıvrılma oranı orta ve bayrak yaprak kın mumsuluğu çok kuvvetlidir.
TBT16-9	Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi	Orta erkenci, kuraklığa hassas, sıcaklık stresine dayanıklı, sulamaya elverişlidir.

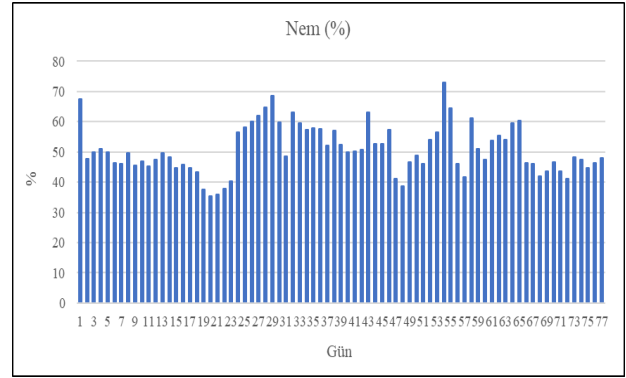
Yetiştirme ortamına ait sıcaklık ve nem değerleri Trotec BL30 Data Logger cihazı ile günlük olarak kayıt altına alınmıştır. Çalışmanın yürütüldüğü döneme ait sera sıcaklık ve nem değerleri Şekil 3 ve Şekil 4'de verilmiştir.

Sulama miktarlarının hassas uygulanması için zamanlayıcı özelliği sahip selenoid vanalar ile kontrol

edilebilen yağmurlama sulama sistemi kurulmuştur. Ekimden itibaren başaklanma dönemine kadar bitki için toprak nemi uygun kalacak şekilde sulama yapılmıştır. Başaklanma döneminden sonra bitkilere verilen su kademeli olarak azaltılmıştır.



Şekil 3. Çalışma dönemine ait sıcaklık değerleri



Şekil 4. Çalışma dönemine ait nem değerleri

Bitkilere ait gübreleme programı Tablo 2'de verilmiştir. Gübreler su ile seyreltilerek uygulanmıştır. Uzun fotoperiyot süresi bitkinin vejetasyon süresini kısalttığından bitkiler hızlı ıslah koşullarında çiçeklenme tarihinden 20 gün sonra (4-9/06/2020) taneler tam olgunlaşmadan hasat edilmiştir. Hasat edilen başaklar 35 °C'de 7 gün boyunca etüvde kurutulmaya bırakılmıştır. Elde edilen tohumlarda dormansi sorununun olup olmadığını saptamak için tohumlar iki gruba ayrılmıştır. Birinci grup için nemlendirilmiş tohumlar +4 °C'de 24 saat bekletilmiş, ikinci gruba ise herhangi bir ön işlem yapılmamıştır. Daha sonra bu iki grupta çimlenme oranını belirlemek için tohumlar 4 tekerrürlü olarak petri kapları (her petride 25 tohum olacak şekilde) içerisinde tohum çimlendirme kabininde 24 °C'de 96 saat çimlendirmeye bırakılmıştır [3].

Tablo 2. Yetiştirme döneminde uygulanan gübreleme programı.

Gübreleme dönemi	Gübre formu	Gübre miktarı
Ekim ile birlikte	20-20-0 kompoze gübre	1 kg/m <sup>3</sup> (N-P-K)
Kardeşlenme dönemi	CAN granül gübre	1 kg/m <sup>3</sup> (N)
Başaklanma dönemi	CAN granül gübre	1 kg/m <sup>3</sup> (N)

## 2.1. Çalışmada incelenen özellikler

Çiçeklenme süresi (gün): bitkilerin çıkış yaptığı tarih ile viyollerdeki bitkilerin %50'sinin çiçeklendiği tarih arasındaki süre olarak, bitki boyu (cm): bitki ana sapının toprağa bağlandığı noktadan, tepe başakçığının ucuna kadar olan mesafe cm cinsinden ölçülerek saptanmıştır. Başak uzunluğu (cm): başakların boylarının ölçülmesi ile, başakta başakçık sayısı (adet): başaktaki başakçık sayısının sayılmasıyla; başakta tane sayısı (adet): harmanlanan başakların tanelerinin sayılması ile, başakta tane ağırlığı (g): harmanlanan tanelerin hassas tartı ile tartılmasıyla belirlenmiştir. Çimlenme oranı (%): 96 saatin sonunda çimlenen tohumların %'desi olarak hesaplanmıştır [3].

Araştırmada incelenen özelliklere ait değerlerin varyans ve korelasyon analizleri, JMP Pro 13 istatistik paket programı kullanılarak yapılmış ve ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar AÖF testi ile ortaya konulmuştur.

## 3. Bulgular ve Tartışma

Çalışma sonunda genotiplerin incelenen özelliklerine ait ortalama değerleri Tablo 3.'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çiçeklenme süresi, bitki boyu, başak uzunluğu, başakta tane sayısı ve tane ağırlığı bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilirken, başakta başakçık sayısı bakımından genotipler arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Uzun ışıklenme süresi genotiplerin vejetasyon süresini oldukça kısaltmış ve genotipler hızlı ıslah koşullarında farklı tepkiler ortaya koymuşlardır. Genotipler arasında, hızlı ıslah koşullarında en erken çiçeklenen genotip Svevo (51.75 gün) çeşidi olurken, en geç çiçeklenen genotip ise Burgos (55.50 gün) çeşidi olmuştur (Tablo 3).

Daha önce hızlı ıslah koşullarında yapılan benzer çalışmalarda, ortalama çiçeklenme süresini buğdayda 35.0-39.0 gün, arpada 37.0-38.0 gün [4]; makarnalık buğdayda başaklanma süresini 46.0 gün, ekmeklik buğdayda ise 48.2 gün olarak saptanmıştır [3]. Ayrıca yer fıstığında yapılan çalışmada generasyon süresi F<sub>2</sub> kuşağında 113.0 gün, F<sub>3</sub> kuşağında ise 89.0 gün olarak bildirilmiştir [8]. Hızlı ıslah metodunda, bitkinin ışıklenme süresinin artmasıyla fotosentez aktivitesi

doğrudan etkilenmektedir. Fotosentez sürecinin etkilenmesiyle, vejetasyon süresi kısaltılmakta [15] bu da bir yılda 5-6 generasyon ürün alınmasına olanak sağlamaktadır. Hızlı ıslah protokolleri ile ıslah süreci kısaltılarak ve bir yıl içerisinde birden fazla generasyon alınarak ıslah programlarında genetik ilerleme sağlanabilir [16]. Araştırmacılar populasyonda çiçeklenme süresi bakımından genetik bir varyasyonun oluştuğunu ve bunun da populasyonun genetik ilerleme hızı için bir avantaj sağladığını bildirmiştir [4].

Yetiştirme dönemi boyunca hızlı ıslah koşullarında ortalama sıcaklık ve nem sırasıyla 23.4 °C ve %51 olmuştur. Yetiştirme sonunda derece gün toplam sıcaklık değeri 1800.9 °C olarak gerçekleşmiştir. Çalışmada genotiplerin çiçeklendiği ortalama derece gün miktarları, Svevo çeşidinde 1185.3 °C, TBT16-9 hattında 1209.1 °C, Sena çeşidinde 1233.7 °C ve Burgos çeşidinde 1282.7 °C olarak tespit edilmiştir (Şekil 3-4).

Genotipler arasında bitki boyu bakımından Svevo (57.88 cm) çeşidi en uzun bitki boyuna, Burgos (39.13 cm) çeşidi ise en kısa bitki boyuna sahip genotip olmuştur (Tablo 3.). Hızlı ıslah koşullarında bitki boyunun makarnalık buğdayda F<sub>2</sub> generasyonunda 24.0-94.0 cm, F<sub>3</sub> generasyonunda 46.0-77.9 cm [3], ekmeklik buğdayda 73.7-83.6 cm, arpada ise 47.5-53.1 cm aralığında olduğu bildirilmiştir [3]. Işıklanma süresinin ve ışık yoğunluğunun artmasıyla birlikte genotiplerin bitki boylarında artış gözlemlenmiştir [17]. F<sub>2</sub> generasyonundaki bitkilerin %17.3'ünün ebeveynlerinden daha uzun; %20.4'ünün ise daha kısa fenotipik özellik sergilediklerini gözlemlemişlerdir [13].

Bitkilerin vejetasyon süresinin kısaltılması ve çiçeklenmeden 20 gün sonra bitkilerin hasat edilmesi, verim öğelerinde ciddi oranda azalmalara ve başakların küçülmesine sebep olmuştur (Şekil 5). Genotipler arasında en yüksek başak uzunluğu 5.00 cm ile Sena çeşidinde, en düşük değer ise 4.26 cm ile Burgos çeşidinde saptanmıştır. Araştırmada başakta başakçık sayısı bakımından genotipler arasındaki fark önemsiz bulunurken, Burgos çeşidi (11.25 adet) en yüksek başakçık sayısına, Sena çeşidi (10.38 adet) ise en düşük başakçık sayısına sahip genotip olmuştur. Genotipler arasında Svevo çeşidi 13.38 adet ile

**Tablo 3.** Araştırmada incelenen özelliklere ait ortalama değerler

Genotip	Çiçeklenme Süresi (gün)	Bitki Boyu (cm)	Başak Uzunluğu (cm)	Başakçık Sayısı (adet)	Başakta Tane Sayısı (adet)	Başakta Tane Ağırlığı (g)
Svevo	51.75 b	57.88 a	4.63 ab	10.63	13.38 a	0.364 a
Sena	53.50 ab	46.88 b	5.00 a	10.38	10.38 ab	0.239 ab
Burgos	55.50 a	39.13 b	4.26 b	11.25	2.38 c	0.078 b
TBT16-9	52.75 b	47.25 b	4.81 a	10.88	7.88 b	0.221 ab
Ortalama	53.38	47.78	4.66	10.78	8.51	0.225
DK (%)	3.02	11.57	6.23	5.11	40.1	45.4
AÖF	2.57*	8.83**	0.45*	-	5.46**	0.16*

\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  seviyesinde önemli.

başakta tane sayısı bakımından ön plana çıkarken, 2.38 adet ile Burgos çeşidi en düşük tane sayısını veren çeşit olmuştur (Tablo 3.). Hızlı ıslah koşullarında makarnalık buğdayda başakta tane sayısını erken hasat edilen bitkilerde 18.4-32.1 adet, geç hasat edilenlerde 18.8-30.8 adet; ekmeklik buğdayda ise erken hasat edilen bitkilerde 52.2-72.5 adet, geç hasat edilenlerde 44.2-62.5 adet olarak bildirilmiştir [3].

Çalışmada başakta tane ağırlığı özelliği yönünden en yüksek değer Svevo (0.364 g) çeşidinden elde edilirken, en düşük değer ise Burgos (0.078 g) çeşidinde gözlemlenmiştir (Tablo 3.). Hızlı ıslah koşullarında makarnalık buğdayda başakta tane ağırlığını erken hasat edilen bitkilerde 0.30-0.44 g, geç hasat edilenlerde 0.90-1.40 g; ekmeklik buğdayda ise erken hasat edilen bitkilerde 0.80-1.10 g, geç hasat edilenlerde 2.40-3.30 g arasında değiştiğini bildirilmiştir [3]. Araştırmacılar yer fıstığında yaptıkları bir çalışmada iki ebeveynin melezlemesini ve F<sub>1</sub> generasyonunu tarla koşullarında F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> ve F<sub>4</sub> generasyonlarını ise hızlı ıslah koşullarında başarılı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir [8]. Ayrıca soya fasulyesinde daha önce yapılan çalışmalarda 10 saatlik ve 14 saatlik bir fotoperiyot kullanarak yılda beş generasyon almayı başarmışlardır [11, 12].

Tohumların erken hasat edilmeleri, hızlı ıslah sisteminde beklemeden tekrar ekilmeleri nedeniyle çimlenme yönünden dormantlık seviyeleri önemlidir. Hızlı ıslah sisteminin devamlılığını garantiye almak için uygulanan bir günlük dormansi kırma işlemi (+4 °C uygulaması), normal çimlendirme şartlarına kıyasla genotiplerin çimlenme oranında %10.01 artış yapmıştır. Genotipler arasında en yüksek çimlendirme oranı Svevo çeşidinden, en düşük çimlendirme oranı ise Burgos çeşidinden elde edilmiştir. Tüm genotiplerin ön uygulamaya benzer tepki verdikleri belirlenmiştir (Tablo 4.). Daha önce yapılan benzer çalışmalarda makarnalık buğdayda çimlenme oranını %97.5 ± 0.0 [3]; ekmeklik buğdayda %94.33 olarak saptamışlardır [14]. Elde edilen %80'lik çimlenme değeri hızlı ıslah koşullarında generasyon atlatma işlemlerine dormansi uygulaması yapılmadan devam etmek için yeterli olduğunu göstermektedir.

**Tablo 4.** Genotiplerin çimlenme oranlarına ait değerler (%)

Genotip	Çimlenme Oranı (%)	
	Ön Uygulamasız (22 °C)	Ön Uygulamalı (+4 °C)
Svevo	86.2	94.6
Sena	80.6	88.2
Burgos	72.5	81.1
TBT16-9	84.3	92.1
Ortalama	80.9 b	89.0 a

Araştırmada incelenen özellikler bakımından yapılan korelasyon analizi sonuçlarına göre; bitki boyunun başakta tane sayısı ve başakta tane ağırlığı ile pozitif yönde olumlu ve önemli ilişki gösterdiği; çiçeklenme süresinin ise bitki boyu, başakta tane sayısı ve başakta

tane ağırlığı ile önemli ancak negatif ilişkiler gösterdiği saptanmıştır (Tablo 5.). Erkencilik ve bitki boyunun verim öğeleri ile güçlü ilişki oluşturması bu özelliğin hızlı ıslah koşullarında geliştirilecek genotiplerin erken generasyonlarında seleksiyon kriteri olarak kullanılabilmesini göstermiştir. Araştırmacılar ışıklenme süresinin ve ışık yoğunluğunun artmasıyla genotiplerin bitki boylarında da artışlar meydana geldiğini belirtmişlerdir [17]. Başaklanma döneminden sonra bitkilere verilen su kademeli azaltıldığı için bitkiler su stresine girmişlerdir. Geç başaklanan genotipler çiçeklenmenin gecikmesi ile daha fazla kurağa maruz kalmışlardır. Bu durum bitkilerin çiçek setlerinde tohum tutmanın azalmasına ve zayıf tane gelişimine neden olmuştur. Çiçeklenme süresi ile başakta tane sayısı ve tane ağırlığı arasındaki negatif ilişki ortaya çıkan bu durum ile açıklanabilir.

#### 4. Sonuç

Çalışmada yer alan genotipler hızlı ıslah koşullarında uzun fotoperiyot süresine farklı tepkiler vermiştir. Uzun fotoperiyot süresi bitkinin vejetasyon süresini kısalttığından bitkiler hızlı ıslah koşullarında çiçeklenme tarihinden 20 gün sonra taneler tam olgunlaşmadan çimlenebilecek şekilde hasat edilebilmiştir. Bu sürenin buğday gibi yılda en fazla iki ürün alınabilen ürün grupları için ideal olduğu gözlemlenmiş olup, generasyon atlatılması aşamalarında hız kazanmak adına kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir.

Genel olarak araştırmada kullanılan makarnalık buğday genotiplerinden Svevo çeşidi uzun fotoperiyot koşullarına en iyi tepkiyi veren genotip olmuştur. Dormansi kırma işlemi, normal çimlendirme şartlarına kıyasla genotiplerin çimlenme oranında ciddi artış meydana getirmiştir. İncelenen özellikler arasında erkencilik ve uzun boyluluğun, uzun fotoperiyot koşullarında verim ile doğrudan ilişkili olan başakta tane sayısı ve tane ağırlığı üzerinde güçlü ve pozitif bir etki oluşturduğu saptanmış ve bu özelliklerin hızlı ıslah koşullarında geliştirilecek genotiplerin erken generasyonlarında seleksiyon kriteri olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak yapılan araştırma ile hızlı ıslah tekniğinin makarnalık buğdayda söz konusu olan ıslah çalışmaları için generasyon atlamada kolaylık sağlayacağı ve yapılacak yoğun çalışmalar ile çeşit geliştirme konusunda ülkemizdeki tohumculuk firmalarının ve araştırma kuruluşlarının Ar-Ge çalışmalarına büyük bir katkı ve hız kazandıracağı öngörülmektedir. Kullanılan makarnalık buğday genotiplerinin yazlık (spring) karakterde olması nedeniyle tohumların ekilmeden önce vernalize edilmelerine gerek kalmamıştır. Ancak kışlık karakterde olan genotiplerin vernalize edilmeden kontrollü koşullarda başaklanmaları mümkün olmayacaktır.

**Tablo 5.** Araştırmada incelenen özelliklere ait korelasyon ilişkisi

Genotip	Çiçeklenme Süresi (gün)	Bitki Boyu (cm)	Başak Uzunluğu (cm)	Başakçık Sayısı (adet)	Başakta Tane Sayısı (adet)
Bitki Boyu (cm)	-0.779**				
Başak Uzunluğu (cm)	-0.405	0.353			
Başakçık Sayısı (adet)	0.042	-0.141	0.112		
Başakta Tane Sayısı (adet)	-0.737**	0.803**	0.410	-0.144	
Başakta Tane Ağırlığı (g)	-0.703**	0.822**	0.364	-0.029	0.960**

\*\* :  $p \leq 0.01$  seviyesinde önemli.

Hızlı ıslah metodu, stres koşulları altında yürütülerek kısa sürede yüksek verimli, hastalık, tuzluluğa vs. koşullara dayanıklı çeşitler geliştirilmesine olanak sağlayabilir. Ancak mevcut literatürlerde yer alan hızlı ıslah protokolleri sadece bazı bitki grupları için standart yöntemlerle kullanılmakta, farklı koşullara uygun seleksiyon için geliştirilmeleri gerekmektedir. Hızlı ıslah metodunun tam optimize edilmesi, gelecekte büyük sorun olacak gıda güvenliğinin giderilmesi için gelecek nesillere büyük bir umut ışığı olacaktır.

### Etik Beyanı

*Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.*

### Kaynakça

- [1] Çamurcu, H. 2005. Dünya Nüfus Artışı ve Getirdiği Sorunlar. Sosyal Bilimler Dergisi, 8(13), 87-105.
- [2] Ray, D. K., Mueller, N. D., West, P. C., Foley, J. A. 2013. Yield Trends are Insufficient to Double Global Crop Production by 2050. PloSOne, 8, e66428.
- [3] Ghosh, S., Watson, A., Gonzalez-Navarro, O., Ramirez-Gonzalez, R., Yanes, L., Mendoza-Suárez, M., Simmonds, J., Wells, R., Rayner, T., Green, P., Hafeez, A., Hayta, S., Melton, R., Steed, A., Sarkar, A., Carter, J., Perkins, L., Lord, J., Tester, M., Hickey, L. 2018. Speed Breeding in Growth Chambers and Glasshouses for Crop Breeding and Model Plant Research. Nature Protocols, 13(12), 2944-2963.
- [4] Watson, A., Ghosh, S., Williams, M. J., Cuddy, W. S., Simmonds, J., Rey, M. D., Md Hatta, M. A., Hinchliffe, A., Steed, A., Reynolds, D., Adamski, N. M., Breakspear, A., Korolev, A., Rayner, T., Dixon, L. E., Riaz, A., Martin, W., Ryan, M., Edwards, D., Batley, J., Raman, H., Carter, J., Rogers, C., Domoney, C., Moore, G., Harwood, W., Nicholson, P., Dieters, M. J., DeLacy, I. H., Zhou, J., Uauy, C., Boden, S. A., Park, R. F., Wulff, B. B. H., Hickey, L. T. 2018. Speed Breeding is a Powerful Tool to Accelerate Crop Research and Breeding. Nature Plants, 4, 23-29.

- [5] Hickey, L. T., Germán, S. E., Pereyra, S. A., Diaz, J. E., Ziem, L. A., Fowler, R. A., Platz, G. J., Franckowiak, J. D., Dieters, M. J. 2017. Speed Breeding for Multiple Disease Resistance in Barley. Euphytica, 213(3), 1-14.
- [6] Jighly, A., Lin, Z., Pembleton, L. W., Cogan, N., Spangenberg, G. C., Hayes, B. J., Daetwyler, H. D. 2019. Boosting Genetic Gain in Allogamous Crops Via Speed Breeding and Genomic Selection. Frontiers in Plant Science, 10, 1364,
- [7] Li, H., Rasheed, A., Hickey, L. T., He, Z. 2018. Fast-forwarding Genetic Gain. Trends in Plant Science, 23, 184-186.
- [8] O'Connor, D. J., Wright, G. C., Dieters, M. J., George, D. L., Hunter, M. N., Tatnell, J. R., Fleischfresser, D. B. 2013. Development and Application of Speed Breeding Technologies in a Commercial Peanut Breeding Program. Peanut Science, 40(2), 107-114,
- [9] Ahmar, S., Gill, R. A., Jung, K. H., Faheem, A., Qasim, M. U., Mubeen, M., Zhou, W. 2020. Conventional and Molecular Techniques from Simple Breeding to Speed Breeding in Crop Plants: Recent Advances and future outlook. International Journal of Molecular Science, 21(7), 2590.
- [10] Collard, B. C. Y., Baredo, J. C., Lenaerts, B., Mendoza, R., Santelices, R., Lopena, V., Verdeprado, H., Raghavan, C., Gregorio, G. B., Vial, L., Demont, M., Biswas, P. S., Iftekharrudaula, K. F., Rahman, K. A., Cobb, J. N., Rafiqul, I. M. 2017. Revisiting Rice Breeding Methods: Evaluating the Use 384 of Rapid Generation Advance (RGA) for Routine Rice Breeding. Plant Production Science, 20, 337-352.
- [11] Jähne, F., Hahn, V., Würschum, T., Leiser, W. L. 2020. Speed Breeding Shortday Crops by LED Controlled Light Schemes. Theoretical and Applied Genetics, 133, 2335-2342,
- [12] Nagatoshi, Y., Fujita, Y. 2019. Accelerating Soybean Breeding in a CO<sub>2</sub> Supplemented Growth Chamber Plant and Cell Physiology, 60, 77-84.
- [13] Alahmad, S., Dinglasan, E., Leung, K., Riaz, A., Derbal, N., Voss-Fels, K., Able, J., Bassi, F., Christopher, J., Hickey, L. 2018. Speed Breeding for Multiple Quantitative Traits in Durum Wheat. Plant Methods, 14(1), 1-15.

- [14] Akdağ, H. 2019. Hızlı ıslah tekniğiyle buğdayda haritalama popülasyonu ve geriye melez döllerin yetiştirilmesi. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 51s, Karaman.
- [15] Cazzola, F., Bermejo, C., Julieta, G. I., Cointy, E. 2021. Speed Breeding in Pulses: an Opportunity to Improve the Efficiency of Breeding Programs. *Crop and Pasture Science*, 72, 165-172.
- [16] Chiurugwi, T., Kemp, S., Powell, W., Hickey, L. T. 2019. Speed Breeding Orphan Crops. *Theoretical and Applied Genetics*, 132, 607-616.
- [17] Smedley, D., Jacobsen, J. O. B., Jager, M., Kohler, S., Holtgrewe, M., Schubach, M., Washington, N. L. 2015. Next-generation Diagnostics and Disease-gene Discovery with the Exomiser. *Nature Protocols*, 10(12), 2004-2015.

## The Effect of Storage Conditions of Monofloral Honey on Antimicrobial Activity

Ayşe Sena ENGİN<sup>1</sup>, Özgür CEYLAN<sup>1</sup>, Mehmet Emin DURU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Muğla Sıtkı Koçman University, Ula Ali Koçman Vocational School, Department of Food Processing Division, 48000, Muğla, Turkey

<sup>2</sup>Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Science, Department of Chemistry, 48000, Muğla, Turkey

(Alınış / Received: 24.01.2022, Kabul / Accepted: 21.05.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Keywords

Honey,  
Antimicrobial activity,  
Heat treatment,  
Sunflower,  
Astragalus,  
Chestnut,  
Citrus

**Abstract:** This study aimed to determine the change of antimicrobial effects of sunflower, astragalus, chestnut and citrus honey against four bacteria (*Listeria monocytogenes* ATCC 7944, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028) and two yeasts (*Candida albicans* ATCC 10239 and *Candida tropicalis* ATCC 750) depending on storage conditions (heat and light applications) and time. Each monofloral honey was stored in two different conditions, with and without heat treatment, at room temperature (<25°C) in the light and in the dark. The antimicrobial activities of the maintained honey were determined by the disc diffusion method. At the end of the study, it was determined that all honeys showed the highest activity against *S. typhimurium* in conditions that did not see heat and light.

## Monofloral Balların Saklama Koşullarına Göre Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkisi

### Anahtar Kelimeler

Bal,  
Antimikrobiyal aktivite  
Isıl İşlem,  
Ayçiçek,  
Geven,  
Kestane,  
Narenciye

**Öz:** Bu çalışmada ayçiçek, geven, kestane ve narenciye ballarının 4 bakteri (*Listeria monocytogenes* ATCC 7944, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028) ve 2 mayaya (*Candida albicans* ATCC 10239 ve *Candida tropicalis* ATCC 750) karşı antimikrobiyal etkilerinin saklama koşulları (ısı ve ışık uygulamalarının) ile beraber zamana bağlı olarak değişimini belirlemek amaçlanmıştır. Her bir monofloral bal ısıtılmış ve yapılmamış olarak, oda sıcaklığında (<25°C) ışık gören ve görmeyen şekilde iki farklı koşulda saklanmıştır. Muhafaza edilen balların antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Yapılan çalışma sonunda balların en yüksek aktiviteyi *S. typhimurium* 'a karşı ısı ve ışık görmeyen koşullarda gösterdiği belirlenmiştir.

### 1. Introduction

Honey, which is essential for human health and used to treat many diseases, is also accepted as a primary nutrient and energy source [1].

Honey, which has been an important food source for human beings for centuries, is also widely used as a natural product in treatment [2]. Many studies have shown that honey is effective as an antimicrobial agent in gastrointestinal disorders [3, 4], healing of wounds and burns [5-8, 4], and proves to provide gastric protection against acute and chronic gastric lesions [8-10], Laboratory studies show that honey is effective against bacteria found in wounds such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella enterica*, *Serovar typhimurium* [11].

Hundreds of years ago, Egyptians used honey in surgical dressings and in the treatment of eye inflammation due to its antimicrobial properties. The Chinese and Indians, on the other hand, wrapped the sick body with honey to prevent the spread of smallpox [12]. Today, it is used as a support in the sense of relieving physical and mental fatigue, energizing, revitalizing, and healing of asthma, stomach, circulation, respiratory, cancer, blood pressure and vascular diseases.

It has been reported that honey can be used as a natural food preservative due to its antimicrobial properties [11]. Oszmianski and Lee (1990) [13] studied that honey reduces enzymatic browning in fruits; McKibben and Engeseth (2002) [14] observed that it prevents lipid oxidation in meat.

In studies examining the antimicrobial effect, it has been reported that honey has an inhibitory effect on approximately 60 Gram-negative and Gram-positive bacterial species with aerobic/anaerobic properties [15, 16].

In a study by Kolaylı et al. [17], they studied the antioxidant and antimicrobial activities of chestnut honey grown in our country - a total of 32 taken from 3 different regions. It was determined that it showed the highest antimicrobial activity against *S. aureus*, *E. faecalis*, *Y. pseudotuberculosis* and *E. coli*. In the results obtained, a relationship was established between the pollen content of chestnut honey and the activity.

Another study investigated the antioxidant and antimicrobial activities of honey grown in the Eastern Black Sea region [18]. Nine honey samples in this study showed high antioxidants and antimicrobial activity levels.

The antimicrobial activity of honey is related to hydrogen peroxide produced by glucose oxidase found in the nature of honey, and phenolic compounds [19-22].

Minor components, such as aromatic and phenolic compounds, may differ depending on the floral source, to which antimicrobial activity and other biological benefits are attributed. For this reason, there are different monofloral kinds of honey for various uses [21].

Our country is very rich in terms of flowering plant flora and endemic plant diversity, depending on its geographical location and climatic diversity. Monofloral honeys are preferred because of their different flavors and the biological benefits they provide. Among them, sunflower, astragalus, chestnut and citrus honey are among the kinds of honey whose production has become increasingly widespread from past to present. This study aimed to reveal the effect of heat and light applications on antimicrobial activity in storage conditions of sunflower, astragalus, chestnut and citrus monofloral kinds of honey, which are widely produced in Turkey.

## 2. Material and Method

### 2.1. Honey samples

Among the monofloral honeys used in the study, Chestnut honey was obtained from Kastamonu, Astragalus honey from Niğde, Sunflower honey from Tokat, and Citrus honey from Hatay.

### 2.2. Storage conditions

After the monofloral honeys were homogenized and divided into two parts, some of them were exposed to storage and shelf conditions in their natural state. The other part was exposed to the storage conditions after

being exposed to the temperature (<60°C) and time applied during packaging. Each monofloral honey, with and without heat treatment, was stored at room temperature (<25°C) in two different conditions, in the light and in the dark (Table 1).

**Table 1.** Storage conditions of honey samples

Honey samples	Light environment		Dark environment	
	Not Heat Treated	Heat Treated	Not Heat Treated	Heat Treated
Sunflower	AT1	AT2	AT3	AT4
Astragalus	GN1	GN2	GN3	GN4
Chestnut	KK1	KK2	KK3	KK4
Citrus	NH1	NH2	NH3	NH4

## 2.3. Microbiological tests

### 2.3.1. Microorganisms and culture medium

In antimicrobial activity studies, 6 microorganisms taken from Muğla Sıtkı Koçman University Culture Collection (MUKK) were used. These are: *Listeria monocytogenes* ATCC 7944, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Candida albicans* ATCC 10239 and *Candida tropicalis* ATCC 750.

*L. monocytogenes*, *S. aureus*, and *S. typhimurium* were grown by incubation in Nutrient Broth (NB) medium at 37±0.1°C for 24 hours. *E. coli* was grown by incubating in LB broth at 30±0.1°C for 24 hours, and in *C. albicans* and *C. tropicalis* TSB for 48 hours at 30±0.1°C.

In the study, 2 different applications, 1:2 and 1:1 concentration were made from each of the honey samples and the results were examined.

### 2.3.2. Determination of antimicrobial activities

Agar well diffusion method was used for the antimicrobial activities of honey samples [23]. The honeys were subjected to 1:1 and 1:2 dilutions with water. A hundred µL of each microorganism was taken and spread on Muller-Hinton agar petri dishes. After spreading, wells of 6 mm in size were drilled into the petri dishes. A hundred µL honey samples prepared beforehand were put into these wells. It was then placed in an incubator at 30±0.1°C / 37±0.1°C for *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* and *C. tropicalis* growth. After an incubation period of 24 hours for bacteria and 48 hours for yeasts, inhibition zones formed around the well were measured. This process was repeated every 6 months to determine the time-dependent change in antimicrobial activity.

## 3. Results

Antimicrobial activity of sunflower honey is given in Table 2. It showed the highest antimicrobial activity against *S. aureus* (33-38 mm zone) and *S. Typhimurium* (26-31 mm zone) in sunflower honey samples. In the

first measurements, honeys with 1:1 and 1:2 concentrations showed close inhibition effects. It has been observed that the inhibition effect disappears over time and only AT1 honey has an effect against *S. aureus* (11 mm zone). A moderate effect was observed in the first measurements of honey with a 1:1 concentration against *L. monocytogenes*. It was determined that all sunflower honeys did not have an antimicrobial effect against Gram (-) bacteria *E. coli*. Therefore, the effect of antimicrobial activity according to storage conditions could not be determined. It was determined that *C. albicans* and *C. tropicalis* strains were effective only in honey itself at a low level. It has been observed that the sunflower honey that has been heat treated has less antimicrobial effect than the ones that have not been heat treated. It was determined that the activity observed in all microorganisms at the beginning decreased with time.

When the antimicrobial activity in Astragalus honey was examined, it was determined that there was a moderate effect in general (table 3). The antimicrobial activities of Gram (+) bacteria are moderately effective. Honeys showed high activity against Gram (-) *S. typhimurium* (24-31 mm). The effects decreased with time and concentration. In the last measurements, the antimicrobial effect against *S. typhimurium* was seen only at 1:1 concentration of GN3 honey. It showed no effect against *E. coli*. There

was no effect after the first measurement in honey in activity against *C. tropicalis*. It was determined that the samples with 1:1 concentration showed activity against *C. albicans*. In time, less inhibition zone measurements were made in the heat-treated samples compared to the non heat-treated samples. In the dark and without heat treatment, an inhibition effect was observed even in the last measurements.

The antimicrobial activity results of chestnut honey are given in Table 4. In the first measurements, the highest inhibition zone values were observed in *S. typhimurium* (22-28 mm zone). While an effect was observed in the 2nd measurement in honey stored in the dark, no effect was observed in the last measurements. Honey samples with 1:1 concentration showed inhibition effect against *C. albicans* until the last measurement. It was determined that chestnut honey, which was not heat treated and kept in the dark, had the highest inhibitory effect (6 mm zone) against *S. aureus* until the last measurement.

Inhibition zone results of citrus honey measured against microorganisms are given in Table 5. The highest antimicrobial effect was seen against *S. typhimurium* only in the first measurements (23-31 mm zone). In general, it has been determined that the antimicrobial effect of citrus honey is low and completely lost over time.

**Table 2.** Time dependent variation of antimicrobial activity of sunflower honey against test bacteria.

Microorganisms	Honey samples	<i>C. albicans</i>			<i>C. tropicalis</i>			<i>E. coli</i>			<i>S. typhimurium</i>			<i>L. monocytogenes</i>			<i>S. aureus</i>		
		Cons	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2
AT1	1:1	9	8	7	19	6	5	-	-	-	31	14	9	15	-	-	38	17	11
	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26	-	-	10	-	-	36	-	-
AT2	1:1	16	13	11	9	-	-	-	-	-	29	16	8	12	-	-	35	7	-
	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27	-	-	10	-	-	33	-	-
AT3	1:1	8	7	6	14	7	-	-	-	-	30	18	13	12	-	-	36	16	-
	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28	-	-	9	-	-	-	-	-
AT4	1:1	7	6	5	17	-	-	-	-	-	28	7	-	18	-	-	38	-	-
	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26	-	-	10	-	-	34	-	-

-: no effect

AT1: Sunflower honey- that no heat-treated in the light environment

AT2: Sunflower honey- that heat-treated in the light environment

AT3: Sunflower honey -that no heat-treated in the dark environment

AT4: Sunflower honey -that heat-treated in the dark environment

**Table 3.** Time dependent variation of antimicrobial activity of Astragalus honey against test bacteria

Microorganisms	Honey samples	<i>C. albicans</i>			<i>C. tropicalis</i>			<i>E. coli</i>			<i>S. typhimurium</i>			<i>L. monocytogenes</i>			<i>S. aureus</i>		
		Cons	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2
GN1	1:1	6	5	4	12	-	-	-	-	-	30	13	-	8	7	-	28	-	-
	1:2	-	-	-	6	-	-	-	-	-	27	-	-	5	-	-	12	-	-
GN2	1:1	8	7	6	14	-	-	-	-	-	28	12	-	6	5	-	10	-	-
	1:2	6	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-	8	-	-	6	-	-
GN3	1:1	8	7	5	9	-	-	-	-	-	28	26	8	7	5	-	8	4	-
	1:2	6	-	-	7	-	-	-	-	-	24	-	-	9	-	-	-	-	-
GN4	1:1	13	6	-	6	-	-	-	-	-	31	-	-	8	5	-	16	-	-
	1:2	9	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	9	-	-	9	-	-

-: no effect

GN1: Astragalus honey -that no heat treated - light environment

GN2: Astragalus honey -that heat-treated in the light environment

GN3: Astragalus honey -that no heat-treated in the dark environment

GN4: Astragalus honey- that heat-treated in the dark environment



**Table 4.** Time dependent variation of antimicrobial activity of Chestnut honey against test bacteria

Microorganisms	Honey samples	Cons	<i>C. albicans</i>			<i>C. tropicalis</i>			<i>E. coli</i>			<i>S. typhimurium</i>			<i>L. monocytogenes</i>			<i>S. aureus</i>		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
KK1	1:1		8	6	5	7	6	5	-	-	-	27	-	-	10	8	-	14	10	-
	1:2		7	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-	8	-	-	7	-	-
KK2	1:1		7	6	5	-	-	-	-	-	-	24	-	-	12	6	-	13	-	-
	1:2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	-	-	13	-	-	6	-	-
KK3	1:1		8	8	6	-	-	-	-	-	-	27	16	-	8	7	-	14	10	6
	1:2		7	7	-	-	-	-	-	-	-	24	-	-	6	-	-	8	-	-
KK4	1:1		8	8	5	8	-	-	-	-	-	28	13	-	-	-	-	14	12	-
	1:2		8	-	-	8	-	-	-	-	-	28	-	-	-	-	-	14	7	-

-: no effect

KK1: Chestnut honey -that no heat treated in the light environment

KK2: Chestnut honey -that heat treated in the light environment

KK3: Chestnut honey -that no heat treated in the dark environment

KK4: Chestnut honey- that heat treated in the dark environment

**Table 5.** Time dependent variation of antimicrobial activity of Citrus honey against test bacteria

Microorganisms	Honey samples	Cons	<i>C. albicans</i>			<i>C. tropicalis</i>			<i>E. coli</i>			<i>S. typhimurium</i>			<i>L. monocytogenes</i>			<i>S. aureus</i>		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
NH1	1:1		9	8	-	6	-	-	-	-	-	24	-	-	15	-	-	11	-	-
	1:2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	-	-	-	-	-	-	-	-
NH2	1:1		6	5	-	16	-	-	-	-	-	26	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-
NH3	1:1		8	6	-	17	-	-	-	-	-	31	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	26	-	-	-	-	-	-	-	-
NH4	1:1		16	11	-	18	-	-	-	-	-	29	-	-	20	-	-	-	-	-
	1:2		10	8	-	-	-	-	-	-	-	24	-	-	12	-	-	-	-	-

-: no effect

NH1: Citrus honey -that no heat treated in light environment

NH2: Citrus honey -that heat treated in light environment

NH3: Citrus honey- that no heat treated in dark environment

NH4: Citrus honey -that heat treated in dark environment

#### 4. Discussion and Conclusion

It is known that honey has a broad spectrum antimicrobial effect against bacteria and many yeast/mold species [18, 24-26]. In a study examining the antimicrobial activity and mechanism of action of multifloral and monofloral honeys, it was determined that monofloral honeys provided inhibition at 100% (v/v) concentrations of *L. monocytogenes* ATCC 15313 strain [27].

In our study, it was determined that the antimicrobial activity of monofloral honeys at 100% (v/v) concentrations was higher than at 50% (v/v) concentrations. After a period of 6-12 months, no effect was observed in honey with 50% concentration.

It was determined that the antimicrobial properties of monofloral honeys did not make a significant difference between Gram properties of bacteria. While most of the honeys used in the study showed the best antimicrobial effect against Gram-negative bacteria, *S. typhimurium*, no effect was detected against *E. coli*, another Gram-negative bacterium. On the other hand, it has been found to have a high antimicrobial effect against another Gram-positive bacterium, *S. aureus*. In the two honeys in question, the inhibition effect was higher in the samples that did not undergo heat treatment.

It can be said that the antibacterial effects of the honey used in this study are higher than the antifungal effects. When the effects against *C. albicans* and *C. tropicalis* were compared, it was determined that all honeys were more effective against *C. albicans*. Although low inhibition zone value was observed, it was determined that the effect continued until the last measurement in other honeys except citrus honey. When the initial zone and last zone measurements were compared, it was determined that the most antimicrobial effect was in AT3, GN3, KK3 and NH 3 without heat and light application.

In the study of Lee et al. [28], antimicrobial activity of sunflower honey against *L. monocytogenes* and *S. aureus* was determined. The results of our study are compatible with this study in the literature. AT1 honey showed the highest activity against the aforementioned microorganisms.

In the study of Sağdıç et al. [29] with 50% concentration samples of astragalus honey, it was determined that honeys were not effective against *E. coli*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* and *S. aureus* strains. The results of our study are compatible with this study in the literature. It can be said that keeping astragalus honey in conditions where heat is not applied and where there is no light is effective in its activity.

In a study by Kolaylı et al. [17], it was determined that the antimicrobial effect of chestnut honey is more effective against bacteria than fungi. The highest antimicrobial activity was reported against *S. aureus*. In our study, it was determined that chestnut honey had a better inhibition effect against *S. aureus* compared to mushrooms. It was determined that the effect lasted for 12-18 months, especially in the KK3 honey sample, where heat and light were not applied. In another study, it was determined that chestnut honey did not show any effect against *E. coli* in 50% concentration samples. In the same study, it was determined that the effect against *S. aureus* and *L. monocytogenes* was measured as 0-6 mm zone [29]. The results obtained in our study also support this study.

In a study conducted on citrus honeys, an inhibition zone of 26.4 mm against *S. aureus* and 25.4 mm against *E. coli* was measured [30]. In our study, while the effect of citrus honey against *E. coli* was not observed, the inhibition effect of NH1 honey was observed against *S. aureus*. In general, it was determined that citrus honeys showed the lowest activity compared to other honeys.

In our study, antimicrobial activity properties of different monofloral honeys were investigated. The highest antimicrobial activity was detected in sunflower honey. It was determined that the highest inhibition effect of monofloral honeys was against *S. typhimurium*. It has been determined that the antimicrobial effect of honey stored in heat-treated – light-exposed areas decreases rapidly depending on time. As a result, with this study, it was determined that the effect of keeping the honey in conditions where heat was not applied and where there was no light would be high in terms of antimicrobial activity.

### Declaration of Ethical Code

*In this study, we undertake that all the rules required to be followed within the scope of the "Higher Education Institutions Scientific Research and Publication Ethics Directive" are complied with, and that none of the actions stated under the heading "Actions Against Scientific Research and Publication Ethics" are not carried out.*

### References

- [1] Şahinler, N. 2000. Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 5(1-2), 139-148.
- [2] Aytuğ, B., Aykut, S., Merev, N., Edis, G. 1971. İstanbul Çevresi Bitkilerinin Polen Atlası İstanbul Üniversitesi Yayınları, 330 s.
- [3] Haffeejee, I. E., Moosa, A. 1985. Honey in the treatment of infantile gastroenteritis. British Medical Journal, 290, 1886-1887.
- [4] Ladas, S. P., Haritos, D. N., Raptis, S. A. 1995. Honey may have a laxative effect on normal subjects because of incomplete fructose absorption. The American Journal of Clinical Nutrition, 62, 1212-1215.
- [5] Effem, S. E. 1988. Clinical observations on the wound healing properties of honey. British Journal of Surgery, 75, 679-681.
- [6] Subrahmanyam, M. 1991. Topical application of honey in the treatment of burns. British Journal of Surgery, 78, 497-498.
- [7] Syazana, M. S. N., Halim, A. S., Gan, S. H., Shamsuddin, S. 2011. Antiproliferative effect of methanolic extraction of tualang honey on human keloid fibroblasts. BMC Complementary and Alternative Medicine, 11, 82.
- [8] Ali, A. T., Chowdhury, M. N., Al-Humayyd, M. S. 1991. Inhibitory effect of natural honey on helicobacter pylori. Tropical Gastroenterology. 12, 73-77.
- [9] Ali, A.T. 1995. Natural Honey Exerts Its Protective Effects Against Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats by Preventing Depletion of Glandular Nonprotein Sulfhydryls. Tropical Gastroenterology. 16, 18-26.
- [10] Biglari, B., Linden, P. H., Simon, A., Aytac, S., Gerner, H. J. Moghaddam, A. 2012. Use of medihoney as a non-surgical therapy for chronic pressure ulcers in patients with spinal cord injury. Spinal Cord, 50, 165-169.
- [11] Mundo, M. A., Padilla-Zakour, O. I., Worobo, R. W. 2004. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. International Journal of Food Microbiology, 97, 1-8.
- [12] Isabel Martos, Moncef Cossentini, Federico Ferreres, Francisco A. Tomás-Barberán. 1997. Flavonoid composition of tunisian honeys and propolis. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45(8), 2824-2829.
- [13] Oszmianski, J., Lee, C. Y. 1990. Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38, 1892-1895.
- [14] McKibben, J., Engeseth, N. J. 2002. Honey as a protective agent against lipid oxidation in ground Turkey. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 592-595.
- [15] Asadi-Pooya, A. A., Pnjehshahin, M. R., Beheshti, S. 2003. The antimycobacterial effect of honey: an *in vitro* study. Rivista di Biologia, 96(3), 491- 495.
- [16] Bansal, V., Medhi, B., Pandhi, P. 2005. Honey—a remedy rediscovered and its therapeutic utility. Kathmandu University Medical Journal, 3(3), 305-309.

- [17] Kolaylı, S., Can, Z., Yildiz, O., Şahin, H., Karaoğlu, S. A. 2016. A comparative study of the antihyaluronidase, antiurease, antioxidant, antimicrobial and physicochemical properties of different unifloral degrees of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honeys. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(3), 96-104.
- [18] Ertürk, Ö., Şahin, H., Kolaylı, S., Ayvaz, M. Ç. 2014. Antioxidant and antimicrobial activity of East Black Sea Region honeys. *Turkish Journal of Biochemistry*, 39(1), 99-106.
- [19] Kucuk, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100, 526-534.
- [20] Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L. 2010. Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of rhododendron honeys. *Food Chemistry*, 121, 238-243.
- [21] Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., Battino, M. 2010. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem Toxicology*, 48, 2490-2499.
- [22] Al-Waili, N. S., Boni, N. S. 2003. Natural honey lowers plasma prostaglandin concentrations in normal individuals. *Journal of Medicinal Food*, 6(2), 129-133.
- [23] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2007. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents, tentative standard M26-T. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Philadelphia.
- [24] Irish, J., Carter, D. A., Shokohi, T., Blair, S. E. 2006. Honey has an antifungal effect against *Candida* species. *Medical Mycology*, 44(3), 289-291.
- [25] Mandal, M. D., Mandal, S. 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), 154-160.
- [26] Taormina, P. J., Niemira, B. A., Beuchat, L. R. 2001. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology*, 69(3), 217-225.
- [27] Gallardo-Chacón, J. J., Caselles, M., Izquierdo Pulido, M., Rius, N. 2008. Inhibitory activity of monofloral and multifloral honeys against bacterial pathogens. *Journal of Apicultural Research*, 47(2), 131-136.
- [28] Lee, H., Churey, J. J., Worobo, R. W. 2008. Purification and structural characterization of bacillomycin F produced by a bacterial honey isolate active against *Byssoschlamys fulva* H25. *Journal of Applied Microbiology*, 105, 663-673.
- [29] Sagdic, O., Silici, S., Ekici, L. 2013. Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey. *International Journal of Food Properties*, 16(3), 658-666.
- [30] Gulfranz, M., Ifftikhar, F., Asif, S., Raja, K. G., Asad, M. J., Imran, M., Abbasi, K., Zeenat, A. 2010. Quality assessment and antimicrobial activity of various honey types of Pakistan. *African Journal of Biotechnology*, 9(41), c-6906.

## Determination of Highway Pavement Layer Thickness and Layer Anomalies with GPR in Burdur Section of D330 Highway

Sercan SERİN<sup>1</sup>, Mehmet SALTAN<sup>2</sup>, Serdal TERZİ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Osmaniye Korkut Ata University, Faculty of Engineering, Civil Engineering Department, 80100, Osmaniye, Turkey

<sup>2</sup>Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering, Civil Engineering Department, 32260, Isparta, Turkey

(Alınış / Received: 24.09.2021, Kabul / Accepted: 25.05.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Keywords

Ground Penetration Radar (GPR),  
Non-destructive testing method (NDT),  
Pavement,  
Highway,  
Quality control

**Abstract:** Ground Penetration Radar (GPR) is an important non-destructive testing method used in quality control studies on highways. In this study, the GPR device was used to determine the pavement layer thicknesses and to reveal the anomalies that occurred during the manufacturing on the highways. Within the scope of the research, field studies were carried out in a certain part of the Antalya-Burdur-Isparta highway (17 km). Scanning was performed at two different frequency rates (600 and 1600 MHz) using the GPR device. Two consecutive GPR scans were performed in the year the highway was renewed and the following year. In the first year GPR scans, it was determined whether the planned layer thicknesses were reached or not and abnormal conditions arising from the construction of the highway. In the second year GPR scans, the changes that occur on the highway after one year under the traffic load were determined. With this study, it has been demonstrated once again that the GPR test method is an alternative to destructive testing methods and is a test method that can collect information about the highway without damaging.

## D330 Karayolu Burdur Kesiminde GPR ile Karayolu Üstyapı Tabaka Kalınlığı ve Tabakalardaki Anormalliklerin Belirlenmesi

### Anahtar Kelimeler

Zemin Penetrasyon Radarı (GPR),  
Tahribatsız test yöntemi (NDT),  
Üstyapı,  
Karayolu,  
Kalite kontrol

**Öz:** Zemin Penetrasyon Radarı (GPR) karayollarında kalite kontrol çalışmalarında kullanılan önemli bir tahribatsız test yöntemidir. Bu çalışmada, üstyapı tabaka kalınlıklarının tespiti ve karayollarında imalat esnasında oluşan anormallikleri ortaya koymak için GPR cihazı kullanılmıştır. Araştırma kapsamında Antalya-Burdur-Isparta karayolunun belli bir kesiminde (17 km) arazi çalışmaları yapılmıştır. GPR cihazı kullanılarak iki farklı frekans hızında (600 ve 1600 MHz) görüntüleme yapılmıştır. Karayolunun yenilendiği yıl ve bir sonraki yıl üst üste iki kez GPR taraması yapılmıştır. İlk yıl yapılan GPR taramalarında yapımda planlanan tabaka kalınlıklarına ulaşıp ulaşılmadığı ve yolun yapımından kaynaklı anormal durumlar tespit edilmiştir. İkinci yıl yapılan GPR taramalarında ise trafik yükü altında bir yıl sonrasında karayolunda meydana gelen değişimler belirlenmiştir. Bu çalışma ile GPR test yönteminin tahribatlı test yöntemlerine alternatif ve karayoluna hasar vermeden bilgi toplayabilecek bir test yöntemi olduğu bir kez daha ortaya konulmuştur.

### 1. Introduction

The asphalt pavements are distressed by high volume of traffic, increase of heavy vehicle, and environmental effects [1-3]. The pavement forms an important part of the highway. It performs many positive tasks, from safety to fuel consumption. In this case, the quality of the coating is very important. The pavement can be affected by many factors and subject to deterioration. Therefore, some precautions should be taken [4-7].

The effects of the deterioration will vary in different sections of the highway depending on the class of the highway, the quantity of traffic and the loading situation on the highway. Therefore, different maintenance and repair strategies and programs can be developed for each highway [4-7].

Many non-destructive test methods have been studied by researches for long times to prevent the disaster in highway due to the fatigue crack or settlement of

asphalt pavement in advance [1-3]. Traditionally, the thickness of asphalt layers was evaluated by measuring the strain and pressure of highway or by collecting the core samples directly [1, 8-9]. Although these methods are reliable by giving accurate results, they are expensive, time consuming and provide local information compared to non-destructive test methods. To overcome these limitations, the use of non-intrusive techniques is often recommended [10-11].

There has been a continuous increase in the use of non-destructive testing (NDT) to evaluate civil engineering structures recently [12]. Ground Penetrating Radar (GPR) is one of the most frequently used NDT on highway inspections because it is relatively fast technique that gives overall internal image of the shallow subsurface [1]. GPR is a pulse NDT method for locating structural objects and assesses pavement material layer thicknesses and properties [13-14]. There are different studies carried out using the GPR method in the literature.

Saarenketo et al. carried out the quality control of the asphalt pavement using electromagnetic measurement methods and created deterioration maps. Until that time, the same author carried out a series of studies for the determination of crack widths, transverse and longitudinal cracks and layer thicknesses in the Scandinavian region. Thus, they have been instrumental in including the GPR technique as a quality control tool in this region. [15-20].

Al-Qadi et al. carried out experiments on flexible airport pavements in a study called on-site determination of the densities of asphalt pavements with the GPR technique. In order to determine the pavement density, the dielectric and density data were compared with the GPR based on the dielectric coefficients of the pavement. At the end of all studies, it has been determined that density determination with the GPR method is easier and gives better results than traditional nuclear methods [21].

Colagrande et al, examined the deteriorations in flexible pavements with GPR. Researchers studied forty different paths with and without distortion at 1600MHz and 600MHz GPR frequencies. They also supported their studies statistically and revealed the causes of deterioration [22].

Ahmad et al. conducted a study on the feasibility of detecting cracks in asphalt pavement with GPR. Researchers did not use traditional destructive methods for the detection of cracks due to their time consuming and high cost, instead they investigated the usability of the non-destructive GPR method [23].

Mardeni et al. carried out pavement density analyzes with the GPR technique. They used the distortion

estimation as a factor to determine the density of the pavement using the GPR frequency range of 1.7 – 2.6 GHz. As a result of the study, they found that pavement density was predicted more successfully with low GPR frequencies of 1.7 GHz [24].

Al-Qadi et al. used the GPR method to evaluate railway ballast conditions quickly, effectively and continuously. They evaluated the ballasts of the smooth railway with the same characteristics and the ballasts with deterioration, using the GPR data, scattering analyzes were carried out to detect the railway ballast deterioration. As a result of the study, they presented a new methodology showing that 2 GHz GPR antennas can be used to evaluate railway ballast material [25].

Zhou and Scullion, in the report they prepared in 2007, stated that non-destructive testing methods can be used for the evaluation of flexible pavement coatings. In this report, the results are presented by using the GPR, FWD and compression dynamic deflectometer (RDD) together. The GPR was used to determine the layer thicknesses of the existing pavement and the moisture zones where potential deterioration would occur [26].

Kim et al. combined two GPR systems operating in different frequency bands at the same time and applied them to evaluate the asphalt pavement. The layer thicknesses of the asphalt pavement, the air spaces therein, the groundwater close to the substrate and the defects caused by these were monitored with GPR [1].

In this study, reconstructed layered system with 17 km highway section was investigated by using the Ground Penetration Radar (GPR) which is one of the nondestructive test methods (NDT). In this way, pavement layer thickness and anomalies occurred in time and during construction stages were investigated.

## 2. Material and Method

### 2.1. Method

Ground Penetration Radar (GPR). GPR is an important test method designed to determine the content of both natural and man-made materials. It can also be used to locate buried objects underground [15-16]. GPR technology was first used in transportation engineering applications in the mid-1970s [21,27]. Since then, it has been used frequently in different applications in this field [21]. GPR test equipment enables continuous and fast data collection in direction of the same profile. The most important parts are antennas, data acquisition equipment and distance measuring devices [21].

Figure 1 shows the signals sent from GPR antennas in a three-layer structure. The signals reflect from the interfaces and reach the antenna again. The data of the records are processed and taken from the GPR screen. Then, the images are analyzed and information about the structure is revealed [28].

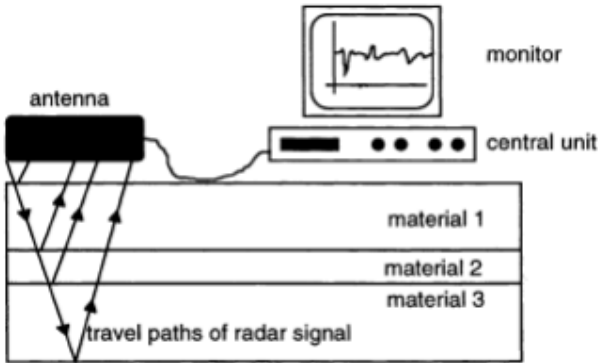


Figure 1. The working principle of GPR [28].

GPRs are grouped in two ways. This grouping is called depending on how the antenna is mounted. These are air-coupled systems or ground-coupled systems [21]. In this study, an air-coupled GPR antenna system capable of collecting data 150 to 500 mm above the ground is used. Figure 2 shows the amplitudes obtained directly from GPR data.

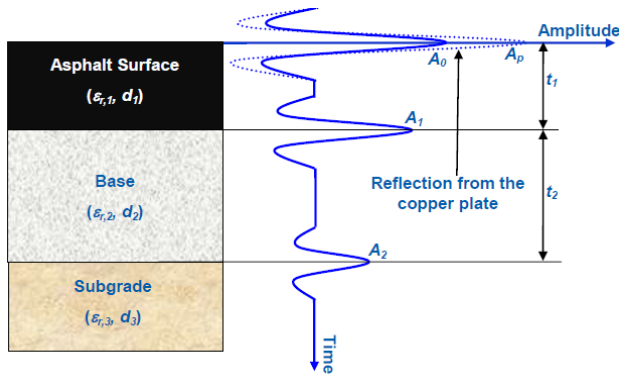


Figure 2. GPR signal reflections in highway layer interfaces [21].

The velocity of the electromagnetic wave decreases with an increase in the dielectric constant. The speed of electromagnetic wave is approximately:

$$v = \frac{c}{\sqrt{\epsilon_r}} \quad (1)$$

Where:  $v$ , signal velocity;  $c$ , velocity of light (0,3 m/ns); and  $\epsilon_r$ , relative dielectric constant.

The depth of a layer of material is determined from the time it takes the reflected wave to be detected at the receiver. The depth is calculated as:

$$d = v \frac{\Delta t}{2} \quad (2)$$

Where:  $d$ , thickness of layer;  $v$ , velocity of electromagnetic wave through the layer; and  $\Delta t$ , time between reflections [29].

## 2.2. Study area and material properties

In the current study, the performance of GPR to measure the thickness and anomaly of asphalt pavement layer in the newly constructed Antalya-Burdur-Isparta highway in Turkey were tested. The tests have been carried out along with 17 km section of 100 km highway [30].

The highway was constructed by adding 4 new layers on the existing pavement and subgrade layers. These layers include wearing course, binder course, bituminous base, plentmix layer and subgrade layer. A real section illustrating the layers and layer thicknesses of the highway are given in the Figure 3. In this study, wearing course, binder course and bituminous base layers have only been examined. The maximum thicknesses of these layers are determined in the design project as 5 cm, 8 cm and 13 cm, respectively [30].

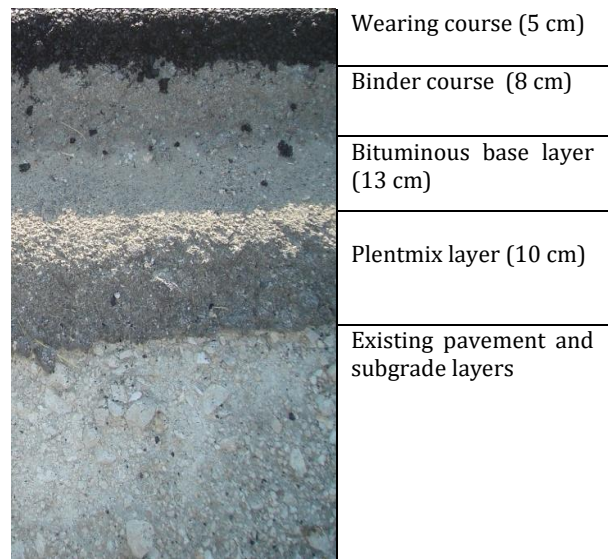


Figure 3. A real section showing the layers of the highway.

The basic physical properties of these layers are presented in the Table 1. These physical properties are optimum bitumen content (%), density, Marshall Stability, Voids (Vh), bitumen flow values, voids filled with bitumen (Vf), VMA of the layers. Also, the aggregate gradations used in these three layers are given in the Table 2.

**Table 1.** The basic physical properties of the layers.

	Wearing Course	Binder Course	Bituminous Base
Optimum Bitumen Content %	4.80	4.30	4.00
Density, Dp (t/m <sup>3</sup> )	2.407	2.418	2.418
Marshall Stability, MS (kg)	1380	1370	1380
Voids, Vh (%)	3.93	4.42	4.67
Bitumen flow values, (mm)	3.25	3.50	3.75
Voids filled with bitumen, Vf (%)	72.3	67.0	64.2
VMA (%)	14.2	13.1	13.1

**Table 2.** Aggregate gradation of the layers.

Sieve Diameters		Bituminous Base	Binder Course	Wearing Course
mm	inch			
37.5	1 1/2"	100.0	100.0	100.0
25	1"	91.5	100.0	100.0
19	3/4"	78.0	89.7	100.0
12.7	1/2"	64.9	69.4	88.7
9.5	3/8"	57.2	58.3	81.5
4.75	No.4	40.8	40.9	47.5
2.00	No.10	29.2	29.2	33.2
0.425	No.40	12.5	12.5	13.9
0.177	No.80	8.4	8.4	8.6
0.075	No.200	4.2	4.2	5.3

### 3. Results

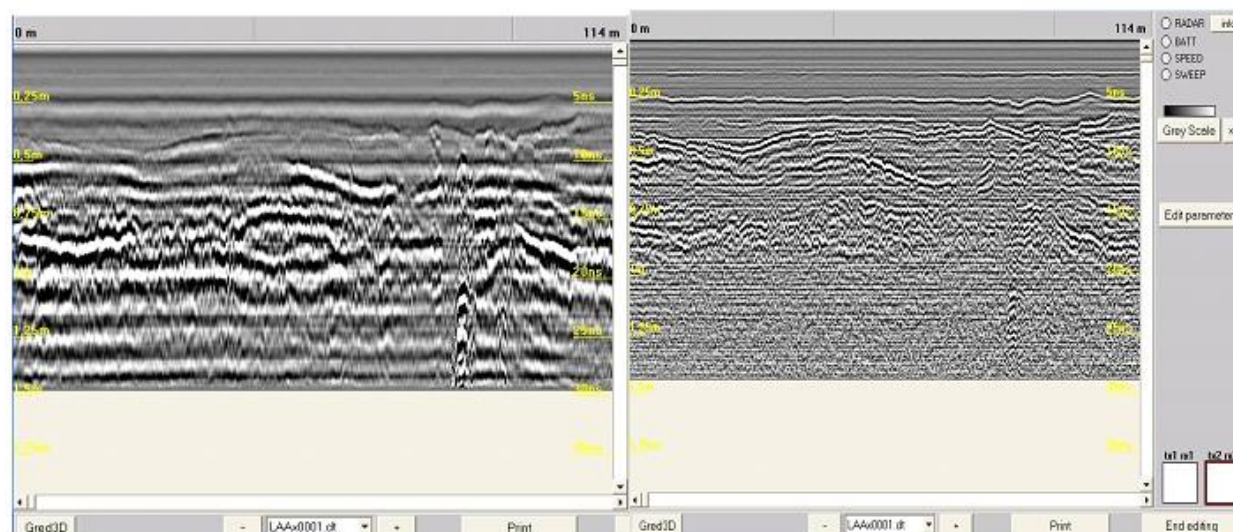
In this study, GPR surveys on Antalya-Burdur-Isparta highway (D330) were conducted as soon as the highway was put into service and next year. The antennae were air-coupled to avoid damage from obstacles along the track. In this context, the highways layers were scanned immediately after the reconstruction with 40 ns display speed up to 3.5 m depth by the help of different GPR antenna having 600 and 1600 MHz frequency. The data were collected at a speed of 40 km/h. The GPR equipment setup is shown in Figure 4.

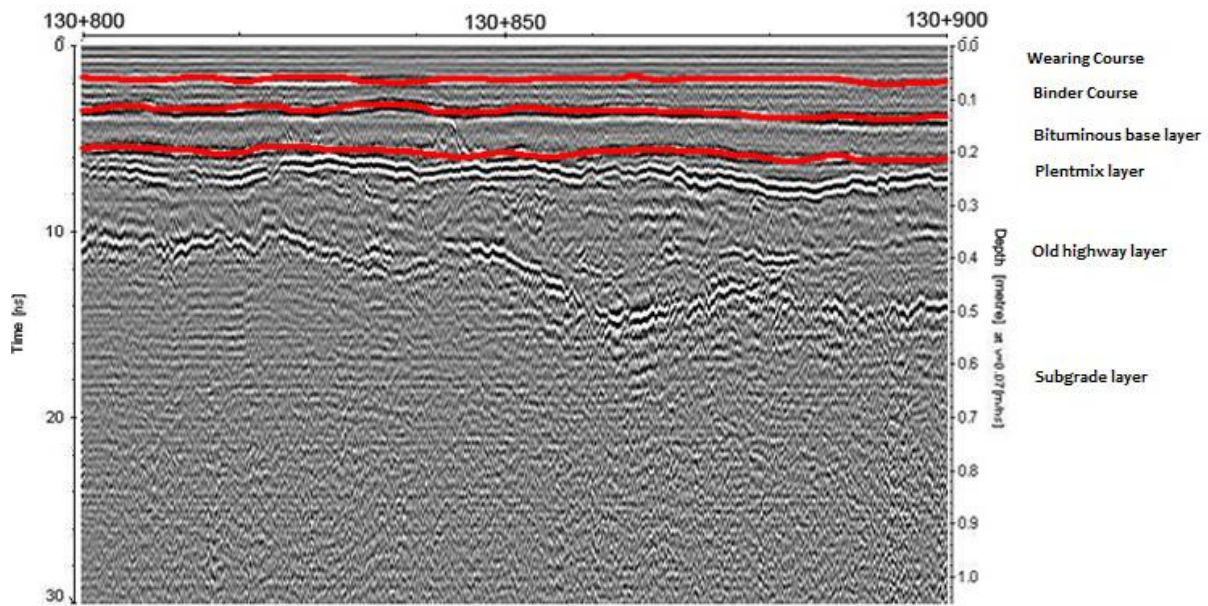
**Figure 4.** Installation of GPR antenna on vehicle and instant data transfer to PC.

GPR data was passed through eight different processes using the Reflex program for clearly view of the layers and detection of layer thicknesses. These consist of filtering and amplitude changing processes. After all these processes, it was found that the best imaging frequency was obtained at 1600 MHz. Different researchers have made similar studies for layer thickness estimation in other GPR frequency ranges [22-24]. Figure 5 shows GPR images obtained with 600 MHz and 1600 MHz antenna.

Time and depth indicators were created on GPR images with Reflex program depending on amplitude of the air zone, the reflection time and the velocity of electromagnetic wave. These indicators are shown on the right and left of the GPR images.

The distance between the point where the GPR antenna is fixed and the layer of the first reflection is determined. Thus, the first reflection distance of the air zone has been determined. And then, the air zone displays have been cleaned by the help of the analysis program from the GPR image. Thus, the layers forming the pavement were identified. Figure 6 shows the layers of existing pavement, subgrade layer and new highway layers. Layer changes points are clearly seen in the figure. GPR images are divided into 100-meter sections because the imaging distance is very long.

**Figure 5.** GPR images obtained with 600 MHz and 1600 MHz antenna.



**Figure 6.** Layered structure of pavement for first year GPR measurement (130+800-130+900 km).

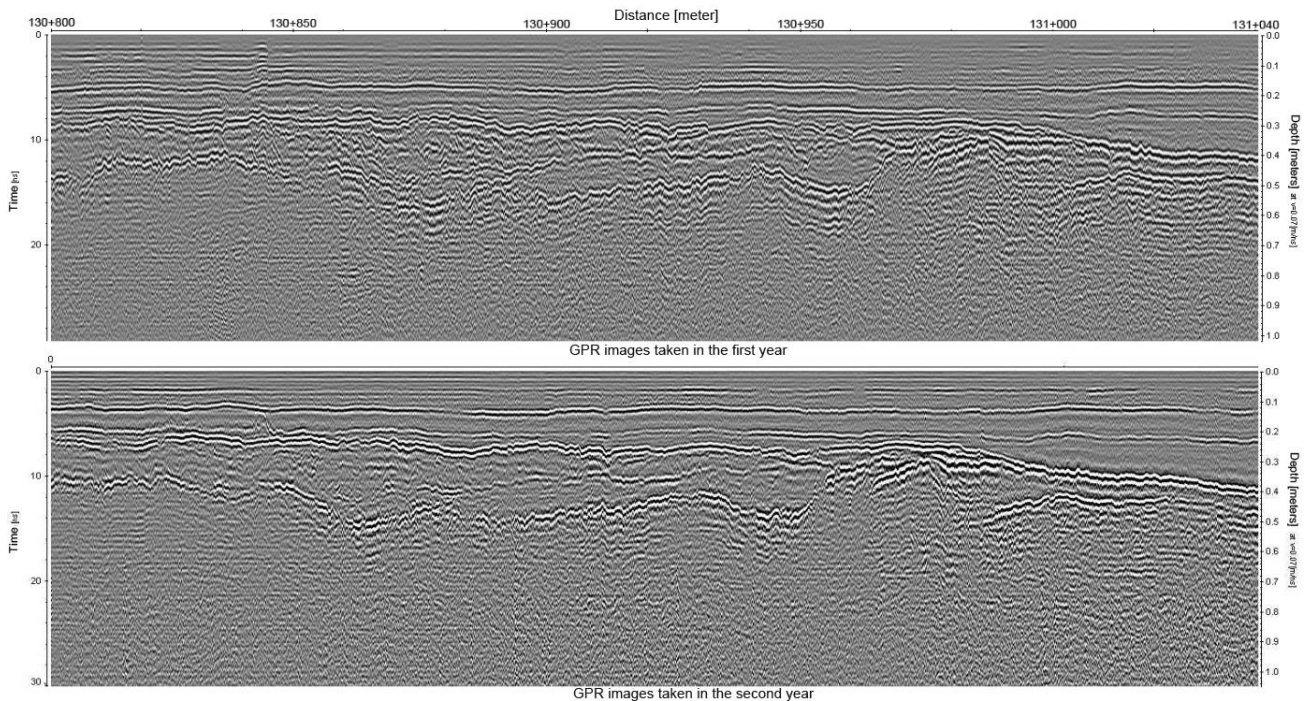
This figure shows wearing course, binder course, bituminous base and plentmix layer of the new highway. Furthermore, it shows existing pavement layer and subgrade layer. It was found that large parts of the existing pavement were damaged.

Analyzes were carried out to determine the thicknesses of the layers of the new highway. The reflection times ( $t$  and  $\Delta t$ ) and velocity ( $v$ ) for each layer were determined. Then the thicknesses of the three layers ( $d$ ) were calculated. The measurements determined by the GPR were compared with the actual project data given in Table 3.

**Table 3.** Comparison of actual project layer depths and GPR results

	Wearing Course	Binder Course	Bituminous Base
Reflection time ( $\Delta t$ ) ns	1.6	2.0	2.2
Layer thickness determined by GPR (d) (cm)	5.6	7.0	8.75
Layer thickness of the project (cm)	5.0	8.0	11.0

As aforementioned, GPR surveys were conducted in the first year and the next year, after the building of highway. GPR images taken from the same highway section for two years are presented in Figure 7.

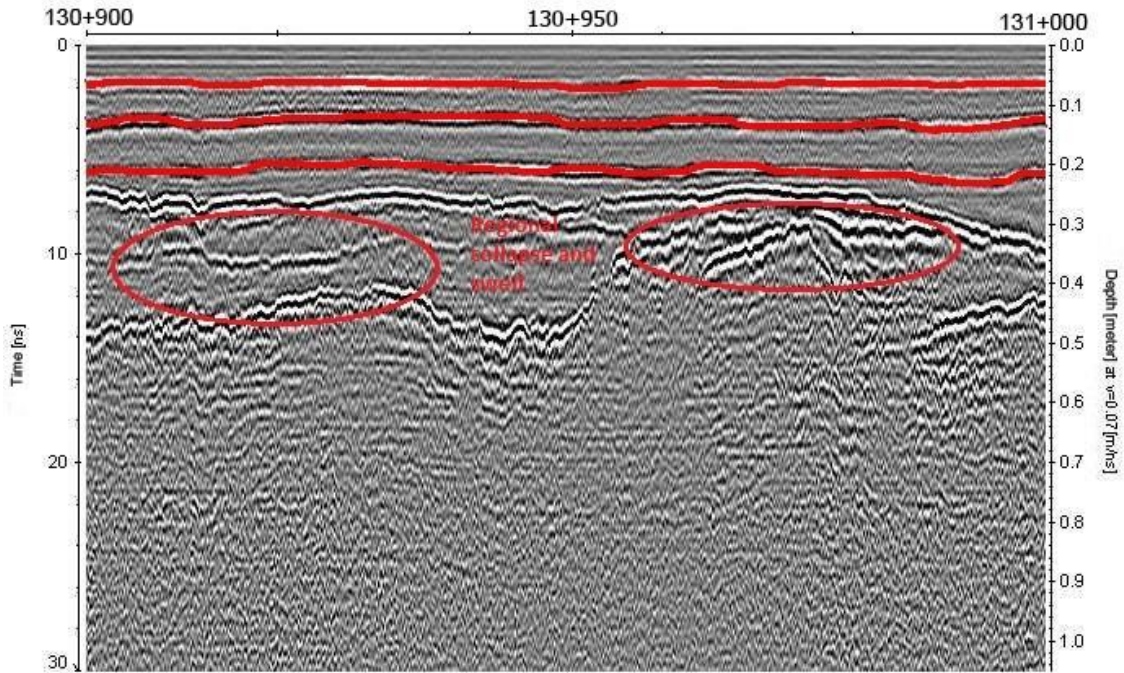


**Figure 7.** GPR images taken from the same highway section for two years.



When all of the images are examined after filtering, it is seen that some regions haven't a boundary between the wearing course and binder layer and between the

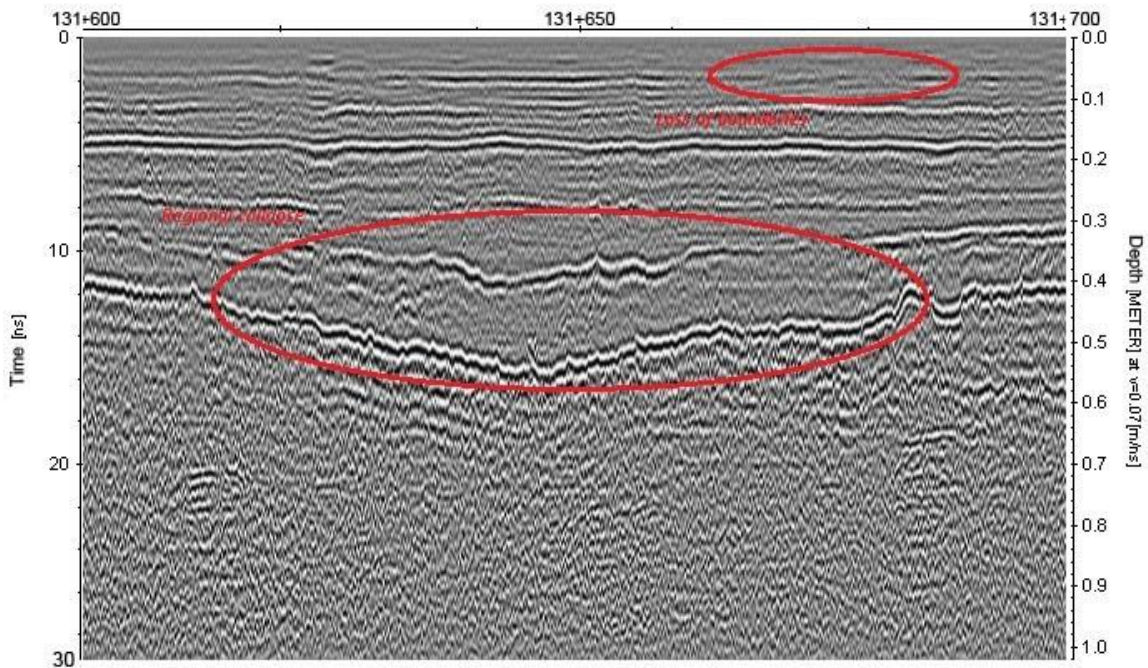
binder and the bituminous base layer. In addition, the collapsed and swollen old highway layers are striking in the views (Figure 8).



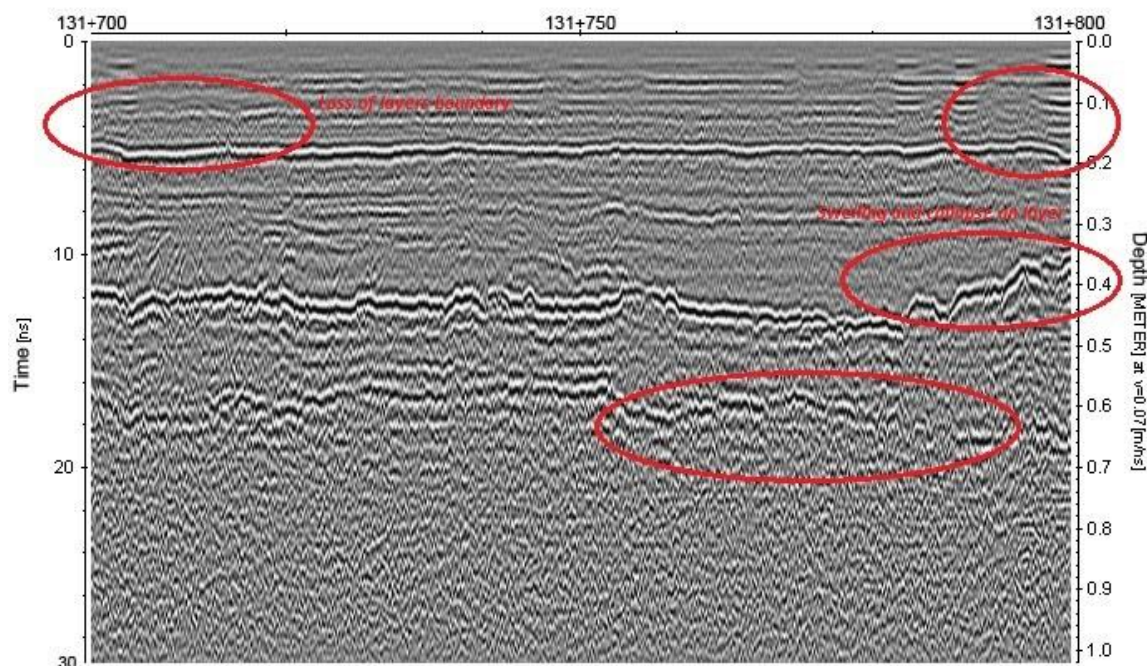
**Figure 8.** The distinction between layers and anomalies in layered structure (130+900-131+000 km).

Also, artifacts such as ditches, culverts and bridges on the route were clearly seen in the GPR images. The layers and layer changes of the natural ground were also seen below the old highway layer. When the figure below is examined, it can be seen that there is a clear collapse in natural ground (Figure 9).

Another important finding of all GPR images is the observation of obvious changes in layer thicknesses even at very short distances. The differences in the thicknesses of the layers due to the construction of the highway are standing out. These details provide important information to control the quality of highway in first and after years (Figure 10)



**Figure 9.** Anomalies in the layered structure (131+600-131+700 km).



**Figure 10.** Anomalies in the layered structure (131+700-131+800 km).

When the images taken in the second year were carefully examined, collapses were observed in the lower layers. It was also found that the layers seen immediately below the plentmix layer were the old highway layers in the images obtained for every two years. It is clearly seen that these layers are damaged for the first and second year.

It stands out that in the second year GPR images, the boundaries between the layers do not appear clearly in some highway sections. In addition, the layer thicknesses of some highway sections have changed due to the vehicle loads that have been passing by for a year.

#### 4. Discussion and Conclusion

In previous studies with GPR, either the layer thicknesses on the highway were determined or the deteriorations in the pavement were determined. In this study, on the same highway section, both the layer thicknesses and the deteriorations on the highway are presented together. On the other hand, taking two measurements on the same highway with one-year intervals and comparative analysis distinguishes the research from other studies.

In this study, it is presented differences in the thicknesses of the layers by using GPR method. The results obtained from the study reveals that GPR method is suitable for determining layer thicknesses. The highway layers were scanned immediately after the reconstruction with 40 ns display speed up to 3.5 m depth by the help of different GPR antenna having 600 and 1600 MHz frequency. It is seen that the most suitable scanning frequency is 1600 MHz. It also helped to identify construction faults. These details

provide important information to control of the highway quality for first and after years. Thus, it can be determined whether the layer thickness has been reached on planning the design or not.

In other respects, it was possible to determine if there was sufficient compaction in the layers. With this method, anomalies on the pavement layers and between these layers were also determined. In addition, this method is very useful to predict the highway defect location in advance. The deteriorations such as collapse and decomposition were detected with the data especially taken in the second year. Consequently, GPR is a non-destructive method that does not damage the highways and all these informations are easily presented to the user.

#### Acknowledges

This work was supported by Scientific Research Projects Coordinator of Suleyman Demirel University with the projects numbered 3408-D2-13 and 2666-M-10. The Authors also special thanks to COST (European COoperation in Science and Technology) Action TU1208 "Civil Engineering Applications of Ground Penetrating Radar".

#### Declaration of Ethical Code

*In this study, we undertake that all the rules required to be followed within the scope of the "Higher Education Institutions Scientific Research and Publication Ethics Directive" are complied with, and that none of the actions stated under the heading "Actions Against Scientific Research and Publication Ethics" are not carried out.*

## References

- [1] Kim, S. W., Hyun, S. Y., Cho, J. H., & Kim, S. Y. (2011). GPR monitoring system for evaluation of asphalt pavement. *Resistor*, 900, 20.
- [2] Wensel, M., Shalaby, A., Thiessen, M., & Mah, V. (2002, June). Investigation of asphalt pavement rutting at two Canadian airfields. In 4th Transportation Specialty Conference of the Canadian Society for Civil Engineering, Montreal, Canada.
- [3] Spagnolini, U. (1997). Permittivity measurements of multilayered media with monostatic pulse radar. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 35(2), 454-463.
- [4] Solla, M., Lagüela, S., González-Jorge, H., & Arias, P. (2014). Approach to identify cracking in asphalt pavement using GPR and infrared thermographic methods: Preliminary findings. *Ndt & E International*, 62, 55-65.
- [5] Brownlee, T. J., Finnie, S., & Wightman, D. (2007, August). Identification of potential highways maintenance schemes. In *Proceedings of the Institution of Civil Engineers-Transport* (Vol. 160, No. 3, pp. 139-146). Thomas Telford Ltd.
- [6] Ferreira, A. J. L. (2011, September). Briefing: New developments in pavement maintenance. In *Proceedings of the Institution of Civil Engineers-Municipal Engineer* (Vol. 164, No. 3, pp. 153-155). Thomas Telford Ltd.
- [7] Benedetto, A., & Pensa, S. (2007). Indirect diagnosis of pavement structural damages using surface GPR reflection techniques. *Journal of Applied geophysics*, 62(2), 107-123.
- [8] Park, H. M., Kim, J. W., Hwang, S. D., & Lee, H. J. (2005). Determination of the layer thickness for long-life asphalt pavement. *International Journal of Highway Engineering*, 7(2), 23-31.
- [9] Subagio, B. S., Cahyanto, H. T., Rachman, A., & Mardiyah, S. (2005). Multi-Layer Pavement Structural Analysis Using Method of Equivalent Thickness Case Study: Jakarta—Cikampek Toll Road. *Journal of the Eastern Asia Society for Transportation Studies*, 6, 55-65.
- [10] Plati, C., & Loizos, A. (2013). Estimation of in-situ density and moisture content in HMA pavements based on GPR trace reflection amplitude using different frequencies. *Journal of Applied Geophysics*, 97, 3-10.
- [11] Goel, A., & Das, A. (2008). Nondestructive testing of asphalt pavements for structural condition evaluation: a state of the art. *Nondestructive Testing and Evaluation*, 23(2), 121-140.
- [12] de León Izeppi, E., Flintsch, G. W., & McGhee, K. K. (2008). High-speed, noncontact digital imaging system for inspection of hot-mix asphalt pavements. *Journal of transportation engineering*, 134(6), 246-254.
- [13] Loizos, A., & Plati, C. (2007). Accuracy of pavement thicknesses estimation using different ground penetrating radar analysis approaches. *NDT & e International*, 40(2), 147-157.
- [14] Morey, R. M. (1998). Ground penetrating radar for evaluating subsurface conditions for transportation facilities. *Transportation Research Board*.
- [15] Saarenketo T. (1992). Ground Penetrating Applications in Road Desihn and Construction in Finnish Lapland. *Geological Survey of Finland, Special Paper 15*, pp. 161-167.
- [16] Saarenketo T, Scullion T. (1994). Ground Penetrating Radar Applications on Roads and Highways. *Research report 1923-2F*, Texas Transportation Institute, College Station, Texas, 36 pp.
- [17] Saarenketo T. (1997). Using Ground Penetrating Radar and Dielectric Probe Measurements in Pavement Density Quality Control. *Transportation Research record 1997*, pp. 34-41.
- [18] Saarenketo T, Roimela P. (1998). Ground Penetrating Radar Technique in Asphalt Pavement Density Quality Control. *Proceedings of the Seventh International Conference on Ground Penetrating Radar, May 27-30, 1998, Lawrence Kansas. 2*, pp. 461-466.
- [19] Saarenketo T, Scullion T. (2000). Road Evaluation with Ground Penetrating Radar, *Journal of Applied Geophysics* 43, 119-138.
- [20] Saarenketo T. (2008). NDT Transportation. Chapter 13 in text book. *Ground Penetrating Radar: Theory and Applications*. Ed- Harry M. Jol. Publisher Elsevier, 524 p.
- [21] Al-Qadi IL, Leng Z. Al Larkin, (2011). In-Place Hot Mix Asphalt Density Estimation Using Ground Penetrating Radar. *Technical Report of Research, Federal Aviation Administration Under Cooperative Agreement, DOT 05-C-AT-UIUC, ICT Report No. 11-096*.
- [22] Colagrande, S., Ranalli, D., Tallini, M., (2011). Ground Penetrating Radar Assessment of Flexible Road Pavement Degradation, *International Journal of Geophysics*, Article ID 989136, doi:10.1155/2011/989136
- [23] Ahmad. N. Lorenzl H., (2011). Crack Detection in Asphalt Pavements, How useful is the GPR?. *Wistuba Braunschweig Pavement Engineering Center (ISBS), Technische Universität Braunschweig, 978-1-4577-0333-1/11/2011 IEEE*

- [24] Mardeni, R., Raja Abdullah R.S.A., Shafri, H.Z.M., (2010). Road Pavement Density Analysis Using A New Non-Destructive Ground Penetrating Radar System, Progress In Electromagnetics Research B, 21, 399-417.
- [25] Al-Qadi IL, Wei Xie, Roger Roberts, (2008), Scattering analysis of ground-penetrating radar data to quantify railroad ballast contamination, NDT&E International 41, 441- 447
- [26] Zhou, F., & Scullion, T. (2007). Guidelines for evaluation of existing pavements for HMA overlay (No. FHWA/TX-07/0-5123-2). Texas Transportation Institute, Texas A & M University System.
- [27] Black, K., & Kopac, P. (1992). The application of Ground-Penetrating Radar in highway engineering. Public roads, 56(3).
- [28] Morcoux G, Erdoğan E. (2009). Use of Ground Penetrating Radar for Construction Quality Assurance of Concrete Pavement. NDOR Project Number P307, Final Report, Principal Investigators, University of Nebraska – Lincoln.
- [29] Gordon, M. O., Broughton, K., & Hardy, M. S. A. (1998). The assessment of the value of GPR imaging of flexible pavements. NDT & E International, 31(6), 429-438.
- [30] Serin S. (2014). Modelling of the Physical and Mechanical Properties of Flexible Pavements by Means of Non-Destructive Testing Methods. Süleyman Demirel University, Ph. D. Thesis.

## Seam Performance of Nonwoven Apparel Fabrics

Şükran KARA \*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dokuz Eylül University, Engineering Faculty, Textile Engineering Department, 35397, Izmir, Turkey

(Alınış / Received: 27.01.2022, Kabul / Accepted: 24.05.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Keywords

Nonwoven,  
Apparel,  
Seam strength,  
Sewn seam,  
Lock stitch,  
Seam efficiency

**Abstract:** Nonwoven fabrics have limited usage as durable apparel fabrics. Their relatively lower drape, mechanical properties and flexibility decrease their chance to be used as apparel fabrics. However, in the last decades, there are attempts to improve the nonwoven fabric properties in order to seize an opportunity for their use in durable apparel applications. At this point, usage of bicomponent fiber technology together with hydro-entanglement fixation method was found beneficial. In addition to the fabric properties, the suitability of nonwoven fabric for durable seams are quite important for their usability as apparel fabrics. Therefore, in this study, seam performance of nonwoven apparel fabrics made up of polyester: polyamide bicomponent fibers have been determined in order to reveal their usability for durable applications. For this purpose, nonwoven fabrics with 3 different unit masses were utilized. In order to mimic the seams of woven garments, nonwoven samples were sewn with lock stitch with 3 different stitch lengths. Results of the study showed that, unit mass was not a determinative factor for the seam performance of selected nonwoven samples. Also, it was inferred from the study that, sufficient seam strength and seam efficiency values could be obtained by using lower stitch lengths.

## Dokusuz Yüzey Giysilik Kumaşların Dikim Performansları

### Anahtar Kelimeler

Dokusuz yüzey kumaş,  
Giysi,  
Dikiş mukavemeti,  
Dikiş yeri,  
Çift baskı dikişi,  
Dikim verimliliği

**Öz:** Dokusuz yüzey kumaşların dayanıklı giysilerde kullanımı kısıtlıdır. Bu kumaşların görece düşük dökümlülüğe, mekanik özelliklere ve esnekliğe sahip olması, onların giysiliklerde kullanılması şansını azaltmaktadır. Buna karşılık son yıllarda, dokusuz yüzey kumaşların giysilerde kullanım olanaklarının artırılması amacıyla, kumaş özelliklerini geliştirmek üzere çalışmalar yapılmaktadır. Bu noktada, bikomponent lif çekim teknolojisi ile su jetli fiksasyon metotlarının birlikte kullanılması faydalı olmuştur. Kumaş özelliklerine ek olarak, dokusuz yüzey kumaşların dayanıklı dikimler oluşturabilmesi de giysilik olarak kullanılabilirlikleri açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle, bu çalışma kapsamında, poliester:poliamid bikomponent lifleri kullanılarak üretilmiş dokusuz yüzey kumaşların dikim performansları incelenmiştir. Bu amaçla, 3 farklı gramaja sahip kumaş kullanılmıştır. Dokuma giysilere benzetilmesi amacıyla dokusuz yüzey kumaşlar çift baskı dikişi ile 3 farklı dikiş uzunluğunda dikilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; seçilmiş dokusuz yüzey kumaşların dikiş mukavemetinde gramajın belirleyici bir faktör olmadığı görülmüştür. Ayrıca, daha düşük dikiş uzunluğu ile yeterli seviyede dikiş mukavemeti ve dikim verimliliği elde edildiği belirlenmiştir.

### 1. Introduction

Nonwoven fabrics are defined as sheet or web structures bonded together by entangling staple fibers or filaments (and by perforating films) mechanically, thermally or chemically [1]. In nonwoven fabric production, yarn production is generally eliminated and fabric structure is obtained by several methods,

excluding weaving and knitting [1, 2]. Thanks to their diversity in structure and properties, nonwoven fabrics can be used for different application areas such as automotive textiles, geotextiles, medical/surgical textiles, hygiene textiles, industrial textiles, upholsteries, insulation and apparel applications [1-3].

Usage of nonwoven fabrics in apparel production can be advantageous as they are low cost, lightweight and soft [4, 5]. However, due to their relatively lower drape, flexibility and mechanical properties, nonwoven fabrics find limited applications in durable/reusable apparel industry [3]. In the apparel industry, nonwoven fabrics are extensively used in the production of disposable apparels [5]. Also, they find usage in the production of interlinings and underwears [1, 2]. Here, the point is to develop the nonwoven fabric properties in order to make them usable for durable apparels. By the way, low cost and other advantages of nonwoven fabrics can be combined with required fabric properties for apparels. In recent years, some companies have attempts to produce more suitable nonwoven fabrics to be used for durable apparel applications. Combining bicomponent fiber spinning and hydro-entanglement is one of the key solutions to develop nonwoven fabric properties those can be suitable for durable apparels [3, 6, 7].

In addition to the fabric properties, seam properties of nonwoven fabrics should be examined, too. Some of the required seam properties of apparels can be summarized as seam strength, seam elasticity, seam slippage, drape, bending, seam puckering and etc. [8, 9]. Besides the hand and appearance related drape, bending and seam puckering properties, seam strength has a vital role for the durability of an apparel. In the literature, seam properties of nonwoven fabrics have been tested for different application areas. For example; Seif and Nasir compared the effects of traditional sewing and ultrasonic welding on some seam properties of nonwoven shopping bags [10]. Eryuruk, Kayaoglu and Kalaoglu studied the effects of ultrasonic welding and 5-yarn overlock stitch on the seam strength and some functional properties of disposable surgical gowns [11]. Grineviciute et al. investigated the seam properties of nonwoven fabrics which included taped seams. They used moisture barriers of firefighter clothes as nonwoven fabrics. [12]. In some other studies, usability of ultrasonic welding for assembling the nonwoven fabrics were investigated [5, 13-15]. According to the literature search, sewn seam performance of nonwoven apparel fabrics have not been studied in details, yet. Existing literature are highly focused on the ultrasonic welding of nonwoven fabrics for different applications.

According to the results of these studies, seam efficiencies of the ultrasonically welded nonwovens achieved to a level and were adequate for disposable apparel applications.

Therefore, different than the literature, seam performance of durable/reusable nonwoven apparel fabrics was investigated in this study. For this purpose, sewn seams were formed on the fabrics instead of other assembling methods, in order to obtain high ratios of seam efficiency. According to preliminary trials, lock stitch with 3 stitch length levels were selected to sew the samples. The nonwoven fabrics of this study were suitable for upperwear, and can be applied for shirt production.

## 2. Material and Method

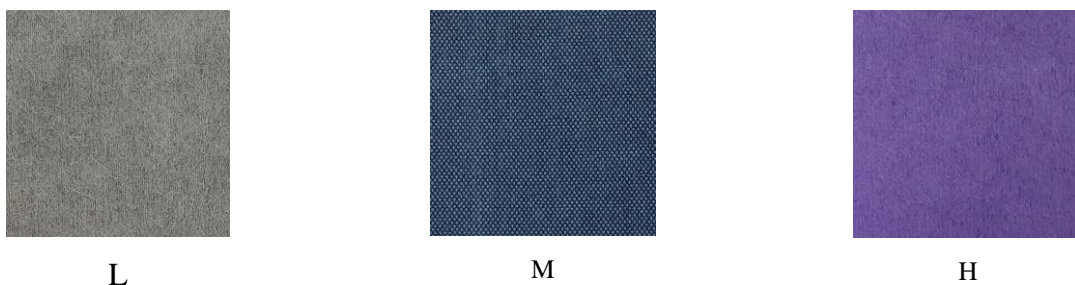
### 2.1. Materials

Materials of this study were nonwoven fabrics and sewing thread. Nonwoven apparel fabrics with 3 unit masses were supplied from a Turkish manufacturer. The fabrics were made of bicomponent microfilaments composed of 70:30 PET:PA6 (polyester: polyamide 6) raw materials. They were hydro-entangled via high pressure water jets. In addition to the apparel (sportswear, leisure wear, uniforms and workwear), these fabrics can be used in several end-use areas such as home textiles, mattress covers, dry wipes and towels [6]. Properties of nonwoven fabrics are given in Table 1. Also, photographs of nonwoven fabrics are given in Figure 1.

**Table 1.** Physical properties of fabrics

Sample code	Unit mass (g/m <sup>2</sup> )	Thickness (mm)
<b>L (Low)</b>	110	0.50
<b>M (Medium)</b>	138	0.59
<b>H (High)</b>	165	0.58

Sewing thread used in this study was a 2 ply 100% polyester spun sewing thread (Coats Astra). Thread fineness was 40 tex. Breaking strength and strain of the sewing thread was determined as 14.55 N and 56.53 %, respectively. Metric 90 sewing needle with light ball point (SES) was used.



**Figure 1.** Face view of nonwoven fabrics

## 2.2. Methods

### 2.2.1. Sample preparation

Samples of the study were prepared by sewing the L, M and H fabrics with lock stitch. Samples were varied by changing the stitch lengths. Stitch lengths were determined as 2.5, 3 and 4 mm according to preliminary trials. Stitch lengths of 2.5 mm, 3 mm and 4 mm corresponded to 4, 3.3 and 2.5 stitches/cm densities, respectively. Sample design of the study and sample codes are given in Figure 2.

Seam allowance was kept as 10 mm for all samples.

Seam and sample placements according to the nonwoven fabric directions are shown in Figure 3.

### 2.2.2. Seam strength and strain measurement

Seam strength and strain of samples were determined using an Instron 4411 Model Universal Test Machine,

according to TS EN ISO 13935-2 standard [16]. For the test, gauge length was used as 100 mm and test speed was 50 mm/min. For sewn samples; seam strength, strain and failure type were recorded. As reference samples, non-sewn fabrics were also tested with the same test machine and test parameters, and their strength and strain results were recorded. The test was repeated 5 times for each sample type in machine direction and cross direction.

Before testing, all the samples were conditioned under standard atmosphere conditions ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $65\pm 4\%$  relative humidity) for at least 24h.

Seam efficiencies of samples were calculated by using reference sample strengths and seam strengths, according to Equation 1 [17].

$$\text{Seam efficiency (\%)} = \frac{\text{Seam strength}}{\text{Fabric strength}} * 100 \quad (1)$$

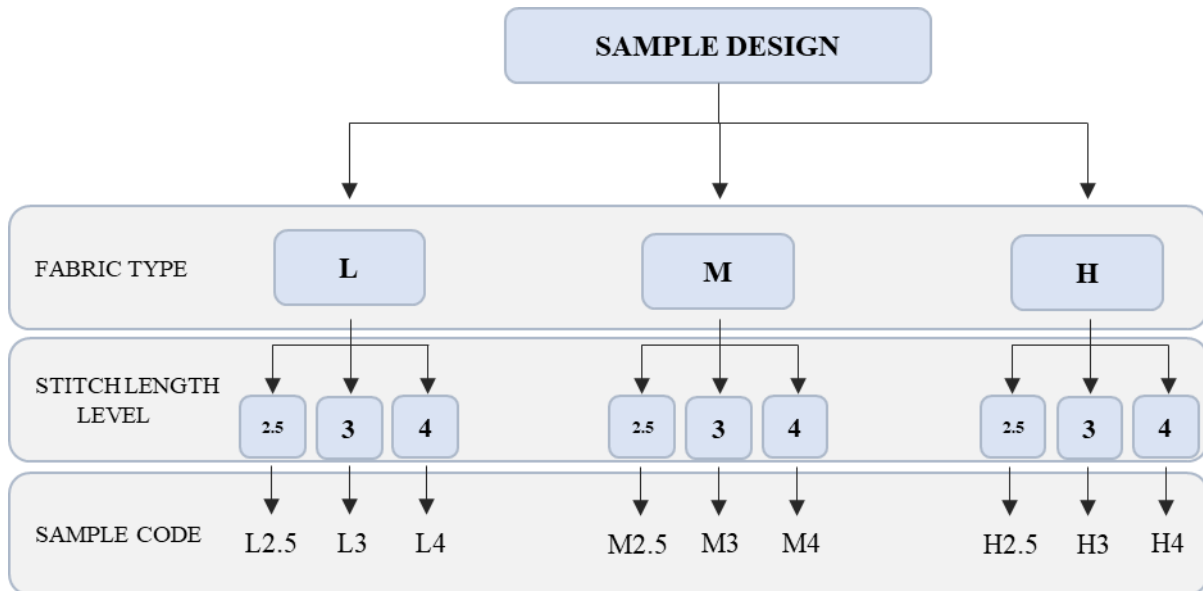


Figure 2. Sample design of the study

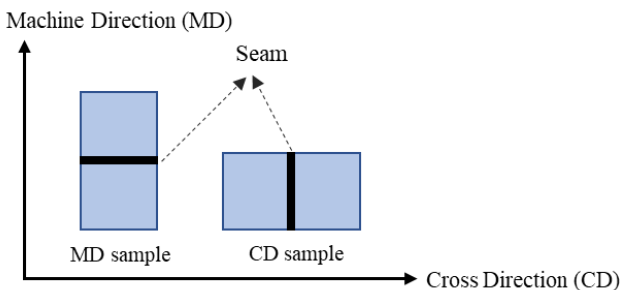


Figure 3. Seam and sample placements according to the fabric directions

### 2.2.3. Statistical analysis

Statistical evaluations were performed by using SPSS Package Program version 24. At the first step, normality and homogeneity of variance of samples

were examined. For normality decision; Shapiro-Wilk test, histograms, variation coefficients (%), Skewness/Kurtosis values and Q-Q plots were evaluated. For homogeneity of variances, Levene's tests were considered. As all the data showed normality and homogeneity of variances, one-way ANOVA and Tukey (Post-Hoc test) tests were used to make comparisons.

## 3. Results and Discussion

Strength of non-sewn reference samples and seam strengths of sewn samples are given in Table 2 and visualized in Figure 4. Strength of reference samples, namely L-R, M-R and H-R, are between 341 and 411 N in machine direction and, 190 and 252 N in cross direction. According to statistical analysis, strengths of

L-R, M-R and H-R samples in machine direction did not have any significant differences ( $p$  values  $> 0.05$ ). Also, in cross direction, only the strength difference between L-R and H-R was statistically significant and H-R exhibited lower strength ( $p < 0.05$ ). It shows that the unit mass increment did not enhance the tensile properties of the nonwoven fabrics used in this study. Lower strength of H fabric was not expected as it had higher mass. It can be due to any additional processes that could be done until the production of fabric. For all the non-sewn reference samples, strength values in machine direction were higher than the strength values in cross direction. It can be due to fiber orientation differences of the fabrics in machine and cross directions [18]. Similar anisotropic results were obtained for bicomponent fiber containing hydro-entangled nonwovens, in the literature [19].

When we focus on the failure type of samples in machine direction, we see that all L and M samples exhibited seam breakages. In contrary, only H4 sample exhibited seam breakage among all sewn H samples (H2.5, H3 and H4). It can be due to relatively lower

strength of H reference fabric when compared to L and M reference fabrics. So that, before the seam breakages, H fabric itself broke during the tests. Similar behavior was also detected for L3 and M2.5 samples in cross direction. Because of the fabric breakages of sewn H samples, in general, seam performance of L and M samples were compared.

According to the seam strength results of L and M samples, it was clearly seen that, seam strength decreased with the increasing stitch lengths, as expected [20]. However, according to statistical analysis, only 4 mm stitch lengths gave statistically significant lower seam strengths when compared to reference samples and other stitch lengths. It was valid for both machine direction and cross direction (only  $p$  values between L4 vs. L-R, L2.5, L3; and M4 vs. M-R, M2.5, M3  $< 0.05$ ).

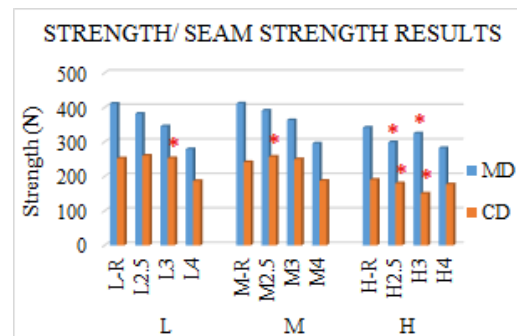
For the same stitch lengths, any significant differences were not detected for L and M competitors in both test directions (all  $p$  values for the same stitch lengths  $> 0.05$ ).

**Table 2.** Strength and seam strength results of samples

Fabric Type	Stitch Length (mm)	Sample Code	Strength/ Seam strength (N)					
			Machine Direction			Cross Direction		
			Mean	St. Dev.	Failure Type	Mean	St. Dev.	Failure Type
L	No stitch	L-R	411.3	23.4	-	252.2	23.9	-
	2.5	L2.5	381.6	27.2	Seam breakage	260.3	15.3	Mix
	3	L3	345.1	32.9	Seam breakage	252.9	30.7	Fabric breakage
	4	L4	278.9	17.9	Seam breakage	186.5	27.4	Seam breakage
M	No stitch	M-R	411.4	64.0	-	241.7	20.3	-
	2.5	M2.5	391.1	42.6	Seam breakage	257.4	21.9	Fabric breakage
	3	M3	363.2	26.5	Seam breakage	249.8	13.4	Mix
	4	M4	295.8	16.0	Seam breakage	187.6	17.4	Seam breakage
H	No stitch	H-R	341.7	37.7	-	190.6	16.4	-
	2.5	H2.5	299.0	51.0	Fabric breakage	180.2	24.0	Fabric breakage
	3	H3	324.9	21.2	Fabric breakage	150.2	18.6	Fabric breakage
	4	H4	282.4	11.2	Seam breakage	177.0	16.1	Seam breakage

When L4, M4 and H4 samples were compared, any statistically significant seam strength differences were not obtained for any fabric types in both machine and cross-directions ( $p$  values  $> 0.05$ ). So that, the fabric unit mass was not considered as a determinative parameter on the seam strength of selected nonwoven fabrics.

Seam efficiency results of samples are given in Table 3. According to the results, samples exhibited fairly high seam efficiency results. The lowest seam efficiency value was 67.8 % for L4 sample in machine direction. Normally, seam efficiencies around 60-80 % are common and it is hard to obtain seam efficiencies around 80-90 % [21, 22]. For this study, quite high seam efficiency values were obtained for nonwoven apparel fabrics.



**Figure 4.** Strength/ seam strength results of samples

(The columns with a \* show that fabric breakage was observed instead of seam breakage)

When the statistical analysis results of strength values are considered together with seam efficiency values, it can be concluded that, 2.5 and 3 mm stitch lengths



almost did not result any decrements in strengths of samples.

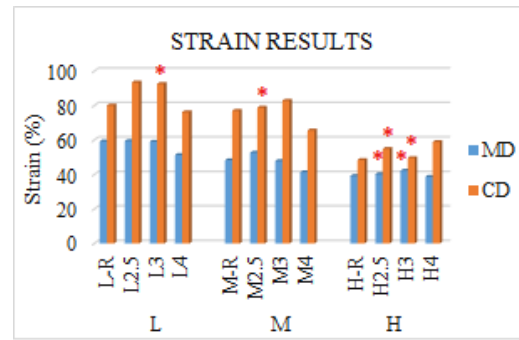
**Table 3.** Seam efficiency results of samples

Fabric type	Stitch length (mm)	Sample code	Seam efficiency (%)	
			Machine Direction	Cross Direction
L	No stitch	L-R	-	-
	2.5	L2.5	92.8	103.2
	3	L3	83.9	.*
	4	L4	67.8	73.9
M	No stitch	M-R	-	-
	2.5	M2.5	95.1	.*
	3	M3	88.3	103.4
	4	M4	71.9	77.6
H	No stitch	H-R	-	-
	2.5	H2.5	.*	.*
	3	H3	.*	.*
	4	H4	82.7	92.8

(The \* shows that fabric breakage was observed instead of seam breakages. Therefore, seam efficiencies could not be calculated for these samples)

Strain (%) values of samples are given in Table 4 with standard deviations. Also, strain results are visualized in Figure 5. When the strain results of non-sewn reference samples were compared, it was seen that strain values decreased as the unit mass increased. For machine direction, L-R exhibited the highest strain value and it was statistically significant (p values < 0.05). Similarly, for cross direction, L-R and M-R gave similar and higher strain values when compared to H-R (p values between L-R vs. H-R and M-R vs. H-R were <0.05).

According to results, stitch length did not have a statistically significant effect on the strain values of L and H samples of machine direction and also, it was valid for strain values of H samples of cross direction (all p values were >0.05 for these samples). As fabric breakages were observed for H2.5 and H3 samples, it was an expected result. In contrast, M4 generally gave statistically significant lower strain values when compared to other M samples, for both machine direction and cross direction (p values <0.05, in general). Similarly, in cross direction, L4 gave statistically significant lower values when compared to L2.5 and L3 (p values <0.05). L4 and M4 samples with the lowest seam strengths, exhibited the lowest strain values among the all stitch lengths. When L4, M4 and H4 were compared, it can be concluded that, lower unit mass samples showed higher strain values. This is partly supported by the statistical analysis results. For all samples, strain values in cross direction were higher than in machine direction.



**Figure 5.** Strain results of samples

(The columns with a \* show that fabric breakage was observed instead of seam breakage)

**Table 4.** Strain results of samples

Fabric Type	Stitch Length (mm)	Sample Code	Strain (%)			
			Machine Direction		Cross Direction	
			Mean	St. Dev.	Mean	St. Dev.
L	No stitch	L-R	59.3	4.5	80.0	4.7
	2.5	L2.5	59.5	7.6	93.4	6.0
	3	L3	59.0	6.3	92.6	5.5
	4	L4	51.3	3.0	76.1	5.6
M	No stitch	M-R	48.2	4.8	77.0	3.8
	2.5	M2.5	52.6	6.0	78.8	7.0
	3	M3	47.8	4.7	82.8	3.8
	4	M4	41.4	1.5	65.5	2.8
H	No stitch	H-R	39.2	1.8	48.5	3.6
	2.5	H2.5	40.2	3.6	54.8	5.9
	3	H3	42.3	1.8	49.6	6.2
	4	H4	38.7	1.3	58.9	2.9

#### 4. Conclusions

In this study, seam performance of nonwoven fabrics for durable apparel applications were examined. For this purpose, hydro-entangled nonwoven fabrics of bicomponent fibers with 3 different unit masses were utilized. They were sewn with lock stitch with 3 different stitch lengths, and examined for their seam performance. According to test results, quite high seam efficiencies were obtained for nonwoven samples. For most of the samples, seam breakages were observed instead of fabric breakages. It was found advantageous as the sewing thread broke instead of fabric damage. It gives the wearer the opportunity to repair the apparel after daily seam breakages.

For the selected samples, unit mass of the nonwoven fabric was not detected as an important criterion for the seam strengths of samples. It should be mentioned that, the average unit mass differences of the samples of this study were about 27 g/m<sup>2</sup>. Effects of higher unit mass differences can be found significant on seam performances, in a different sample design. In addition, thickness values of nonwoven samples were similar around 0.51-0.59 mm. This can be another reason for the non-significant seam performances of samples having different unit masses.

For most of the end-use areas of durable apparels, higher fabric strengths when compared to seam strengths are desirable. Otherwise, fabric breakages before seam breakages makes the apparel unrepairable [9]. Therefore, using higher stitch densities for H fabric was found unnecessary, as the fabric breakages were observed before seam breakages for this fabric type.

In the further studies, effects of different seam types and stitch types can be examined for the seam performance of nonwoven apparel fabrics. For these studies, it should be kept in mind that, a higher seam strength is not always preferred for apparel fabrics as it does not allow the repairability of the apparel. Instead of that, sewing can be optimized in order to achieve 80-100 % seam efficiencies.

### Acknowledgement

Nonwoven fabrics of the study were kindly supplied from Mogul Tekstil San. Tic. A.S. (Gaziantep, Turkey). Sewing yarn was supplied kindly from Coats Turkiye Iplik San. A.S. (Bursa, Turkey). The author thanks the companies for their supports.

### Declaration of Ethical Code

*In this study, we undertake that all the rules required to be followed within the scope of the "Higher Education Institutions Scientific Research and Publication Ethics Directive" are complied with, and that none of the actions stated under the heading "Actions Against Scientific Research and Publication Ethics" are not carried out.*

### References

- [1] Nonwovens, Association of the Nonwoven Fabrics Industry (INDA). <https://www.inda.org/about-nonwovens/> (Access date: 11.01.2022)
- [2] Batra, S. K., Pourdeyhimi, B. 2012. Introduction to nonwovens technology. DEStech Publications Inc., USA.
- [3] Karthik, T., Prabha Karan, C., Rathinamoorthy, R., eds. 2017. Nonwovens: Process, structure, properties and applications. WPI Publishing, India.
- [4] EDANA, "Why use nonwovens in clothing and footwear?". <https://www.edana.org/nw-related-industry/nonwovens-in-daily-life/clothing-and-footwear> (Access date: 11.01.2022)
- [5] Kayar, M., Mistik, S. I., Inan, D. 2015. Analysing effect of the factors on ultrasonic seam tensile properties of nonwoven fabrics by Nested Anova Design. International Journal of Clothing Science and Technology, 27(6), 803-817.
- [6] Madaline, <http://www.madalinefabric.com/en/technical-features/process> (Access date: 11.01.2022)
- [7] Evolon, <https://www.freudenberg-pm.com/Materials/evolon> (Access date: 11.01.2022)
- [8] Kurumer, G. 2012. Konfeksiyon üretimi ve teknolojisi, Printer Ofset Matbaacılık, Izmir.
- [9] Jones, I., Stylios, G. K. eds. 2013. Joining textiles: Principles and applications. Woodhead Publishing, USA.
- [10] Seif, M. A., Nasr, M. M. 2016. A comparative study of assembling methods of nonwoven bags traditional sewing vs welding seaming. International Journal of General Engineering and Technology (IJGET), 5(6), 7-22.
- [11] Eryuruk, S. H., Kayaoglu, B. K., Kalaoglu, F. 2017. A study on ultrasonic welding of nonwovens used for surgical gowns. International Journal of Clothing Science and Technology, 29(4), 539-552.
- [12] Grineviciute, D., Valaseviciute, L., Narviliene, V., Dubinskaite, K., Abelkiene, R. 2014. Investigation of sealed seams properties of moisture barrier layer in firefighters clothing. Materials Science, 20(2), 198-204.
- [13] Yıldız, E. Z., Boz, S., Pamuk, O. 2017. An investigation on the seam tensile properties of ultrasonically bonded nonwoven fabrics. Industria Textila, 68(2), 126-130.
- [14] Kayar, M. 2014. Analysis of ultrasonic seam tensile properties of thermal bonded nonwoven fabrics. Journal of Engineered Fibers and Fabrics, 9(3), 8-18.
- [15] Boz, S., Erdogan, M. Ç. 2011. Ultrasonic energy usage in apparel industry. Textile and Apparel, 21(1), 91-96.
- [16] TS EN ISO 13935-2. 2014. Textiles- Seam tensile properties of fabrics and made-up textile articles - Part 2: Determination of maximum force to seam rupture using the grab method. Turkish Standards Institution, Turkey.
- [17] ASTM D1683/D1683M – 17. 2018. Standard test method for failure in sewn seams of woven fabrics. ASTM International, West Conshohocken.
- [18] Moyo, D., Anandjiwala, R. D., Patnaik, A. 2017. Micromechanics of hydroentangled nonwoven fabrics. Textile Research Journal, 87(2), 135-146.
- [19] Durany, A., Anantharamaiah, N., Pourdeyhimi, B. 2009. High surface area nonwovens via fibrillating spunbonded nonwovens comprising Islands-in-the-Sea bicomponent filaments: structure-process-property relationships. Journal of Materials Science, 44(21), 5926-5934.

- [20] Ujevic, D., Kovacevic, S. 2004. Impact of the seam on the properties of technical and nonwoven textiles for making car seat coverings. *International Nonwovens Journal, INJ Spring 2004 (1)*, 33-41.
- [21] Gurarda A. 2019. Seam performance of garments. ss. 17-30. Uddin, F., ed. 2019. *Textile Manufacturing Processes*. Intechopen, UK.
- [22] Mukhopadhyay, A, Midha, V. K. 2013. The quality and performance of sewn seams. ss. 175-207. Jones, I., Stylios, G. K., eds. 2013. *Joining textiles*. Woodhead Publishing, Cambridge.

## CuCoO<sub>2</sub> Parçacıkları ile Yeni Metal Oksit Kompozitlerin Üretimi ve Kirleticilerin Uzaklaştırılmasında Kullanılması

Sami DURSUN\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Konya Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü,  
42250, Konya, Türkiye

(Alınış / Received: 01.02.2022, Kabul / Accepted: 28.03.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

### Anahtar Kelimeler

Delafosfit,  
Elektro-eğirme,  
Fotokataliz,  
Hidrotermal,  
Metal oksit

**Öz:** Elektro-eğirme metodu ile sentezlenen metal oksit nanofiberleri üzerine hidrotermal yöntem ile sentezlenen delafosfit parçacıkları ağırlıkça farklı oranlarda dekore edilerek heteroyapılı fotokatalizörler elde edilmiştir. Kalay kaynaklı metal oksitin, bakır kaynaklı delafosfitin ve oluşturdukları heteroyapılı malzemelerin mikroyapısal, morfolojik, optik ve elektrokimyasal özellikleri karakterize edilmiş ve bu malzemelerin başarılı bir şekilde üretildiği tespit edilmiştir. Ayrıca farklı ağırlık yüzdelerinde delafosfit dekore edilen heteroyapıların aktiviteler sistematik olarak incelenmiş, en iyi sonucu veren numunenin Ağ.%0,40 delafosfit içeren metal oksit nanofiberi olduğu görülmüştür. Bu fotokatalizör kullanılarak görünür ışık ışıması altında 90 dk'da metilen mavisi (MM) boyasının neredeyse tamamına yakınının (%95,8) bozunduğu tespit edilmiştir. Metal oksit nanofiber fotokatalizörüne kıyasla delafosfit dekore edilmiş metal oksit fotokatalizörü MM boyasının bozunma hızında %58,5'lik bir artış sağlamıştır. Fotokatalitik aktivitedeki bu gelişme; metal oksit nanofiberinin dar bant aralığına sahip delafosfit parçacıkları ile oluşturduğu heteroyapının daha fazla ışığı soğurumu sayesinde daha fazla  $e^-h^+$  çifti oluşturması ile ilişkilendirilebilir.

## Production of New Metal Oxide Composites with CuCoO<sub>2</sub> Particles and Their Use in Pollutant Removal

### Keywords

Delafossite,  
Electrospinning,  
Photocatalysis,  
Hydrothermal,  
Metal oxide

**Abstract:** Heterostructured photocatalysts were obtained by decorating delafossite particles synthesized by hydrothermal method on metal oxide nanofibers synthesized by electrospinning method at different weight ratios. Microstructural, morphological, optical and electrochemical properties of tin-sourced metal oxide, copper-derived delafossite and the heterostructured materials they formed were characterized and it was determined that these materials were produced successfully. In addition, the activities of heterostructures decorated with delafossite at different weight percentages were systematically examined, and it was seen that the best result was metal oxide nanofiber containing 0.40 wt.% delafossite. It was determined that almost all (95.8%) of the methylene blue (MB) dye was degraded in 90 min under visible light irradiation. Compared to the metal oxide nanofiber photocatalyst, the delafossite decorated metal oxide photocatalyst provided a 58.5% increase in the degradation rate of the MB dye. This improvement in photocatalytic activity; It can be associated with the heterostructure formed by the metal oxide nanofiber with the narrow band gap delafossite particles, forming more  $e^-h^+$  pairs thanks to more light absorption.

### 1. Giriş

Organik kirleticilerin doğa tarafından ayrıştırılması veya yok edilmesi oldukça zordur ve çevreye verdikleri zararın yanı sıra insan sağlığı için de ciddi tehdit oluşturmaktadırlar [1, 2]. Örneğin, sularda bulunan kirlilikler, sulardaki canlıların biyolojik ve

fotokimyasal aktivitelerini engelleyebilir ve bu canlıların yaşamını önemli ölçüde etkiler [3, 4]. Ayrıca, boyaların büyük bir kısmı, oldukça toksik ve kanserojen özelliğe sahip olup insanlarda, karaciğer, böbrek ve hatta beyin hasarına bile neden olabilirler [3, 5]. Şimdiye kadar, boya içeren atık suların arıtılmasında; çöktürme, filtrasyon, adsorpsiyon gibi

metodlar kullanılmıştır [6]. Ancak, mikro kirleticileri parçalamak için özel olarak tasarlanmadıkları için ortaya çıkan kirleticilerin tamamen giderilmesinde yetersiz kalabilmektedirler [7, 8]. Son yıllarda, elektrokimyasal, sonoliz ve fotokataliz gibi organik kirleticilerin giderilmesi için birkaç gelişmiş oksidasyon prosesi kullanılmıştır. Bu proseslerden biri olan fotokataliz, kolay uygulanabilirliği, yüksek verimliliğe sahip oluşu, tekrarlanabilirliği, toksik olmayışı, uygulama esnasında sadece atmosferik oksijeni kullanması ve ekonomik olması nedeniyle organik kirleticilerin uzaklaştırılmasında oldukça tercih edilmektedir [9, 10]. Fotokataliz tekniğinde ki en önemli iki unsur, UV veya güneş ışığı ve kullanılan fotokatalizördür. Fotokataliz tekniğinde fotokatalizör olarak yarı iletken metal oksitler oldukça tercih edilmektedir [11].

Yarı iletken metal oksitler, organik kirleticilerin giderilmesi için dikkate değer bir fotokatalitik aktivite sergilerler [3]. Titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), kalay dioksit (SnO<sub>2</sub>) ve çinko oksit (ZnO) yarı iletken metal oksitler arasında en çok dikkat çeken yarı iletken fotokatalizörlerdir. Bu malzemeler genellikle yüksek fotokatalitik aktivite sergilerler. Ayrıca bu malzemeler, yüksek fotokararlılık gösteren, düşük toksisiteli, ekonomik malzemelerdir. Özellikle TiO<sub>2</sub>, son zamanlarda fotokataliz uygulamalarında hem araştırma hem de endüstriyel açıdan oldukça ilgi çekmektedir [12, 13]. SnO<sub>2</sub>'de, TiO<sub>2</sub>'ye benzer fiziksel, kimyasal ve elektriksel özellikler sergilemesiyle, fotokatalizör olarak kullanılmaya elverişli bir yarı iletken [14-18]. SnO<sub>2</sub> yüksek kimyasal ve termal kararlılığı sahiptir [19]. Ek olarak SnO<sub>2</sub>, ikincil bir kirlilik oluşturmamaktadır [20]. Ancak, SnO<sub>2</sub>'nin fotokataliz uygulamalarda kullanılmasının diğer birçok yarı iletken olduğu gibi bazı önemli sınırlamaları mevcuttur. Bu sınırlamalardan ilki, SnO<sub>2</sub>'nin, geniş bant aralığı sahip olması nedeniyle güneşten gelen ışığın büyük bir kısmı kullanamamasıdır. Bir diğer sınırlama ise, diğer yarı iletkenlerde olduğu gibi SnO<sub>2</sub> yarı iletkeninde de, elektron-boşluk ( $e^-h^+$ ) çiftlerinin rekombinasyon eğiliminde olması fotokatalitik aktiviteyi düşürebilir. Son sınırlama ise, yarı iletkendeki yük taşıyıcıların zayıf ayrılma isteği sergilemesidir [21]. Bahsi geçen bu sınırlamaları gidermek için kullanılan yöntemlerden birisi, dar bant aralığına sahip p-tipi delafositlerin kullanılmasıdır [22].

Şimdiye kadar ki çalışmalar delafositlerin hem kendilerinin hem de n-tipi bir malzeme ile oluşturdukları p-n heteroyapılı bileşiklerinin, boya kirleticilerinin giderilmesi gibi uygulamalarda oldukça önemli olduğunu ortaya koymuştur [23, 24]. Delafositler, birlikte kullanıldıkları malzemenin yük taşıyıcıların yüksek mobilitte göstermesini sağlar. Delafositler ayrıca, malzemedeki  $e^-h^+$  çiftlerinin ayrılmasını kolaylaştırır. Bu özellikler araştırmacıları, delafositleri fotokatalizör olarak kullanma düşüncesine teşvik etmiştir [25, 26]. Delafositlerin,

gaz sensörü, fotokatalizör ve güneş pili olarak kullanıldığı çalışmalar [24, 25, 27, 28]. CuCo<sub>2</sub> delafositi, etkinliği, kimyasal ve elektrokimyasal stabilite, yüksek katalitik aktivitesi ve iyi korozyon direnci sergilemesi nedeniyle oldukça dikkat çekmiştir [29]. CuCo<sub>2</sub> delafositi, termo-elektrik malzemesi ve süper kapasitör v.b olarak çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır [30, 31]. Ayrıca, bir çalışmada CuCo<sub>2</sub>, BiVO<sub>4</sub> filminin yük ayrımını ve transfer verimliliğini artırmak için yardımcı fotokatalizör olarak da kullanılmıştır [32]. Şu ana kadar CuCo<sub>2</sub> ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur ve bildiğimiz kadarıyla CuCo<sub>2</sub>'nin fotokatalitik özellikleri ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada, literatürde ilk defa bakır kaynaklı delafosit (CuCo<sub>2</sub>) parçacıkları, metal oksit (SnO<sub>2</sub>) ile birlikte fotokataliz çalışmasında kullanılmıştır. CuCo<sub>2</sub> delafositleri hidrotermal yöntemle parçacık formunda üretilmiştir. CuCo<sub>2</sub> parçacıkları, elektro-eğirme yöntemiyle üretilen SnO<sub>2</sub> nanofiberleri üzerine dekore edilmiş ve yeni bir p-n heteroyapılı fotokatalizör elde edilmiştir. CuCo<sub>2</sub>'nin ve SnO<sub>2</sub> ile oluşturdukları heteroyapıların karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Metilen mavisinin (MM) görünür ışık ışıması altında fotodegradasyon çalışmaları yapılmış ve karakterizasyon sonuçları ile fotodegradasyon özelliği arasındaki ilişki ayrıntılı bir şekilde tartışılmıştır. Ayrıca fotokatalizörlerin bant yapısı ve aktif tür tespiti gerçekleştirilmiştir.

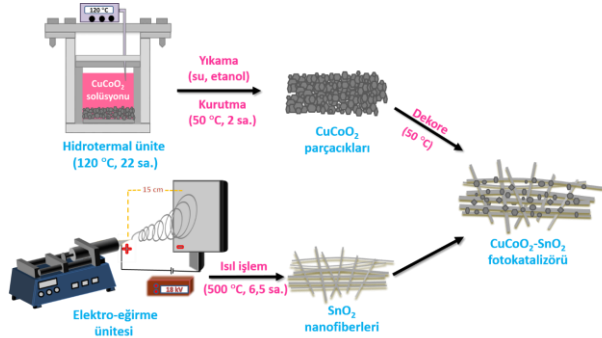
## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. CuCo<sub>2</sub> parçacıklarının ve SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin sentezi

Saf CuCo<sub>2</sub> parçacıklarının eldesinde kullanılan tüm başlangıç kimyasalları ek bir saflaştırma uygulanmadan kullanılmıştır. CuCo<sub>2</sub> parçacıkları üç basamakta üretilmiş olup, birinci basamakta, oda sıcaklığında 15 mmol bakır nitrat hemipentahidrat (Cu[NO<sub>3</sub>]<sub>2</sub>.2.5H<sub>2</sub>O, %98, Alfa Aesar), 15 mmol kobalt nitrat hekzahidrat (Co[NO<sub>3</sub>]<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, %98, Alfa Aesar) ve 30 mmol polivinilpirolidon (PVP, M<sub>A</sub>=1300000, Sigma Aldrich) ultra saf su içerisinde (H<sub>2</sub>O, Direnç >18.2MΩ.cm) 15 dakika boyunca karıştırılarak çözülmüştür. Aynı zamanda başka bir beher içerisinde sodyum hidroksit (4,40 g) ultra saf su (15 ml) içersine ilave edilerek çözülmüştür. Ardından sodyum hidroksit çözeltisi, karışmakta olan diğer çözelti içersine ilave edilmiştir. Eflatun renkli çözelti (100 ml toplam hacim) homojenleştirme için 10 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. İkinci aşamada, çözelti bir hidrotermal üniteye aktarılmış ve hidrotermalin kapağı sıkıca kapatılmıştır. Ardından 120 °C'ye ısıtılmış ve bu sıcaklıkta 22 saat tutulmuştur.

Daha sonra hidrotermal kabın oda sıcaklığına kadar soğuması sağlanmıştır. Nihai aşamada ise, çökelti teflon kap içersinden alınmış ve üç defa saf su ile ardından üç defa etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, %99, Sigma Aldrich)

ile temizlenmiştir. Elde edilen ürün fırında 12 saat boyunca 50 °C'de kurutulmuştur. Elde edilen gri renkli parçacıklar gerekli karakterizasyonlar için hazırlanmıştır. CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının ve SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin üretimi ile ilgili şematik gösterim Şekil 1'de verilmiştir.



**Şekil 1.** CuCoO<sub>2</sub> parçacıkları ve SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin sentezine ait şematik gösterim

SnO<sub>2</sub> nanofiberleri, üretim yöntemi önceki çalışmamızda ayrıntılı bir şekilde verildiği gibi elektro-eğirme yöntemi kullanılarak üretilmiştir [33]. Çalışmada kullanılacak heteroyapılar, SnO<sub>2</sub> nanofiberlerine farklı miktarlarda (ağ.%0,25-1,25) CuCoO<sub>2</sub> dekore edilerek üretilmiştir. Elde edilen örneklerin yapısal, morfolojik ve optik özellikleri Fourier dönüşümlü infrared (FT-IR, Bruker, VERTEX-70 marka), X-ışını kırınım (XRD, Bruker D8 Advance marka), Alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM, Zeiss Gemini 500 marka), UV-Visible spektrofotometresi (UV-Vis, VWR 3100-PC marka) yöntemleri ve Mott-Schottky (Gamry Interface 1010B marka) ölçümleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Analiz yöntemlerinin detayları ve fotokataliz testleri daha önceki çalışmamızda ayrıntılı bir biçimde verilmiştir [34].

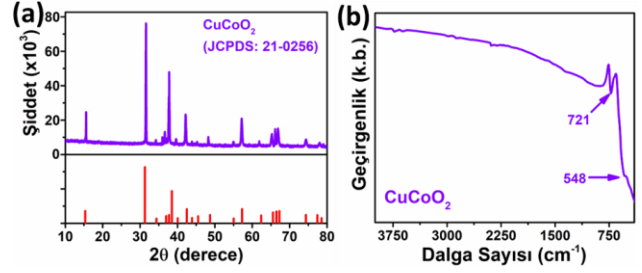
### 3. Bulgular

#### 3.1. CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının karakterizasyonu

Hidrotermal yöntemle üretilen CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının kristal yapısı ve faz tanımlaması XRD analizi ile belirlenmiştir. Şekil 2a'da CuCoO<sub>2</sub>'ye ait XRD deseni verilmiştir. XRD desenindeki piklerin 2θ değerleri, CuCoO<sub>2</sub>'nin monoklinik tenorit yapısına (JCPDS: 45-0937) sahip olduğunu göstermiştir. Bu XRD deseninde herhangi bir safsızlık pikine rastlanmamıştır ve tüm pikler CuCoO<sub>2</sub>'ye aittir. Ayrıca Şekil 2a'nın alt kısmında ilgili JCPDS kartına dayalı teorik pik konumları verilmiştir [35].

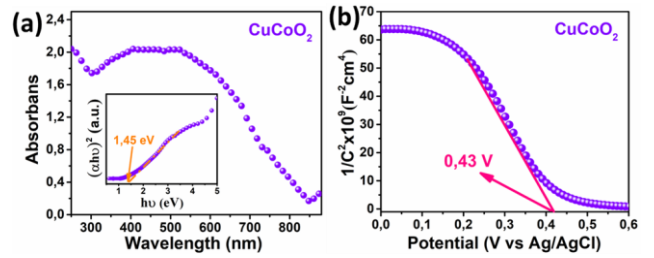
CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının başarılı bir şekilde üretildiğini daha da ortaya çıkarmak için FT-IR analizi yapılmıştır (Şekil 2b). Şekil 2b'de verilen FT-IR spektrumu, hidrotermal yöntemle üretilmiş CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarına aittir. 800 ila 450 cm<sup>-1</sup> frekansları arasında bulunana pikler sırasıyla CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının bükülme ve gerilme titreşimleri ile

ilişkilidir [36]. Ayrıca bu spektrum, organik bileşiklerin ve safsızlıkların başarılı bir şekilde uzaklaştırıldığını göstermektedir.



**Şekil 2.** (a) CuCoO<sub>2</sub> parçacığına ait X-ışını kırınım deseni ve (b) FT-IR spektrumu

UV-Vis spektrofotometre kullanılarak CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının optik özellikleri incelenmiştir. CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarına ait soğurum spektrumu Şekil 3a'da verilmiştir. Soğurum spektrumundan da anlaşılacağı üzere, CuCoO<sub>2</sub> sadece UV bölgesinde değil aynı zamanda görünür ışık bölgesinde de soğurum kapasitesine sahiptir. CuCoO<sub>2</sub> parçacıkları için soğurum kıyısı 880 nm olarak belirlenmiştir. CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarına ait bant aralığı Tauc denklemi kullanılarak 1,45 eV olarak hesaplanmış olup, Şekil 3a'da iç resim olarak verilmiştir. Bu değer literatürde CuCoO<sub>2</sub> için bildirilen değerlerle uyumluluk göstermektedir [37].

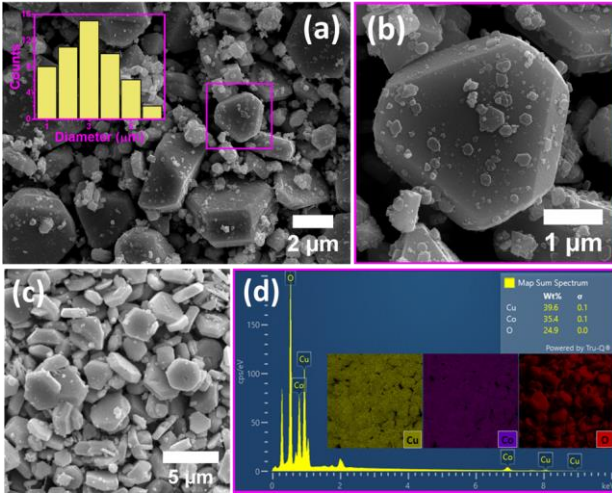


**Şekil 3.** CuCoO<sub>2</sub>'nin (a) UV-Vis spektrumu ve (b) Mott-Schottky grafiği (şekil 3a'da iç resim olarak  $(ahv)^2-hv$  grafiği verilmiştir)

Şekil 3b, CuCoO<sub>2</sub> filmleri için elektriksel potansiyele karşılık 1/C<sup>2</sup> değişimini göstermektedir. CuCoO<sub>2</sub>'ye ait Mott-Schottky eğrisinin negatif eğime sahip olması CuCoO<sub>2</sub>'nin p-tipi yarı iletken olduğunu göstermektedir.

Şekil 4a'da, CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarına ait FE-SEM görüntüsü verilmiştir. Şekilden CuCoO<sub>2</sub>'lerin başarılı bir şekilde sentezlendiği görülmektedir. Şekilden, CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının mikron boyutunda olduğu anlaşılmaktadır. FE-SEM görüntüsünün farklı bölgelerinden imageJ programı kullanılarak yapılan ölçümler neticesinde CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının boyutlarının ortalama 3±2 µm olduğu tespit edilmiştir (parçacık boyutu dağılım histogramı Şekil 4a'da iç resim olarak verilmiştir). Şekil 4c'deki FE-SEM görüntüsü üzerinden elementel haritalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4d'de verilen EDX spektrumu, numunenin Cu, Co ve O elementlerinden oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca Cu, Co ve O

elementlerinin elementel haritalamaları Şekil 4d'de iç resim olarak verilmiştir.



**Şekil 4.** CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının (a) 10000 büyütme FE-SEM görüntüsü (parçacık boyutu dağılım histogramı iç resim olarak verilmiştir), (b) yakınlaştırılmış (50000 büyütme) FE-SEM görüntüsü, (c) elementel haritalamanın gerçekleştirildiği 10000 büyütme FE-SEM görüntüsü ve (d) EDX spektrumu (Cu, Co ve O elementlerine ait FE-SEM element haritalama görüntüleri iç resim olarak verilmiştir)

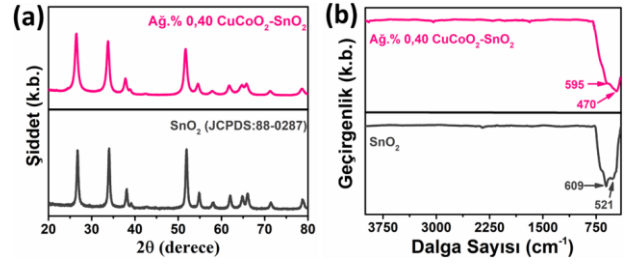
### 3.2. CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapılarının karakterizasyonu

İlk olarak, farklı ağırlıkça yüzdelerde ki (%0,25, 0,40, 0,50, 0,75, 1,00 ve 1,25) CuCoO<sub>2</sub> içeren CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapıları hazırlanıp, fotokatalitik aktiviteleri test edilmiştir. En yüksek fotokatalitik aktivite ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapısı tarafından sergilenmiştir. En iyi fotokatalitik aktivite sergileyen heteroyapının karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

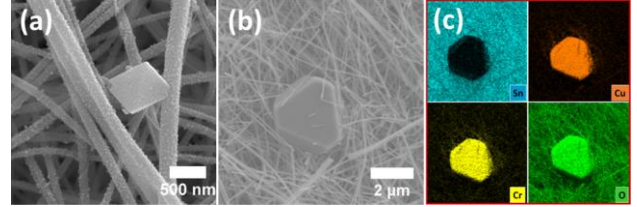
Şekil 5a'da, SnO<sub>2</sub>'nin ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapısının XRD desenleri verilmektedir. Şekil 5a'da alt kısımda verilen X-ışını kırınım deseni, 500 °C'de tavllanmış SnO<sub>2</sub> nanofiberine ait olup, tüm pikler SnO<sub>2</sub>'nin rutil yapısına (JCPDS:88-0287) aittir. Şekil 5a'da üst kısımda verilen X-ışını kırınım deseni ise ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapısına ait olup, SnO<sub>2</sub> nanofiberinin desenine benzerlik göstermektedir ve CuCoO<sub>2</sub>'ya ait belirgin bir pik gözlemlenmemektedir.

Bu durum, CuCoO<sub>2</sub>'ya ait piklerin, SnO<sub>2</sub> nanofiberine ait piklerle örtüşebilme ihtimaline bağlanmıştır. Ayrıca heteroyapıdaki ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>, oldukça düşük bir miktar olduğu için muhtemelen XRD'nin saptama sınırının altındadır.

SnO<sub>2</sub>'nin ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapısının FT-IR spektrumları Şekil 4b'de verilmiştir. Ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapısına ait spektrumdaki piklerin daha düşük frekanslara kayması SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinde CuCoO<sub>2</sub> varlığı ile ilişkilendirilir [22].



**Şekil 5.** SnO<sub>2</sub> nanofiberleri ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapılarına ait (a) X-ışını kırınım desenleri ve (b) FT-IR spektrumları

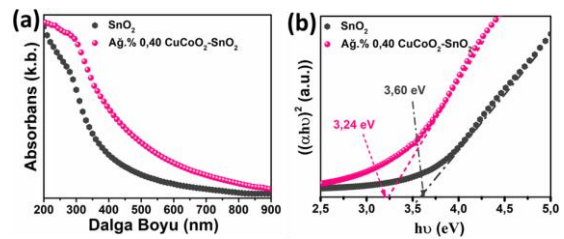


**Şekil 6.** Ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub> dekore edilmiş SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin (a) yakınlaştırılmış 100000 büyütme FE-SEM ve (b) 30000 büyütme FE-SEM görüntüsü

Şekil 6'da, ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub> dekore edilmiş SnO<sub>2</sub> nanofiberlerine ait FE-SEM görüntüleri verilmiştir. Şekil 6a'da, dekore numuneye ait FE-SEM görüntüsü verilmiştir. Alınan görüntülerden SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin yüzeylerinin oldukça pürüzlü ve ortama çaplarının 170 nm civarında olduğu gözlemlenmiştir. Diğer taraftan dekore edilen CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının SnO<sub>2</sub> nanofiberlerine nazaran daha pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Elementel haritalama işlemleri Şekil 6b'de verilen FE-SEM görüntüsü üzerinden gerçekleştirilmiştir. FE-SEM görüntüsü üzerinden gerçekleştirilen haritalama ile Sn, Cu, Co ve O elementlerinin varlığı kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar dikkate alındığında, CuCoO<sub>2</sub> parçacıkları ile SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin temas halinde olduklarını kanıtlanmaktadır.

SnO<sub>2</sub> ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapılarının optik özellikleri; soğurum ve bant aralığı ölçümleri Şekil 7'de verilmiştir. Şekil 7a'da, SnO<sub>2</sub> ve dekore numuneye ait soğurum spektrumları verilmiştir.

Şekilden anlaşılacağı üzere, ağırlıkça heteroyapının malzemenin soğurum kenarının SnO<sub>2</sub>'ye göre görünür bölgeye doğru kaydığı aşırıdır. Bunun nedeni CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının SnO<sub>2</sub>'ye kıyasla dar bir bant aralığına sahip olması gösterilebilir.



**Şekil 7.** SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapılarının (a) UV-Vis spektrumları ve (b)  $(\alpha h\nu)^2$ - $h\nu$  grafikleri

SnO<sub>2</sub> ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> numunelerine ait bant aralığı değerleri Tauc eşitliği kullanarak hesaplanmıştır. SnO<sub>2</sub>'ye ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapısına ait bant aralığı enerjileri sırasıyla 3,60 ve 3,24 eV olarak hesaplanmış olup, Şekil 7b'de verilmiştir [38]. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapısının SnO<sub>2</sub> nanofiberine kıyasla daha iyi fotokatalitik aktivite sergilemesi beklenir.

### 3.3. Fotokatalitik özellikler

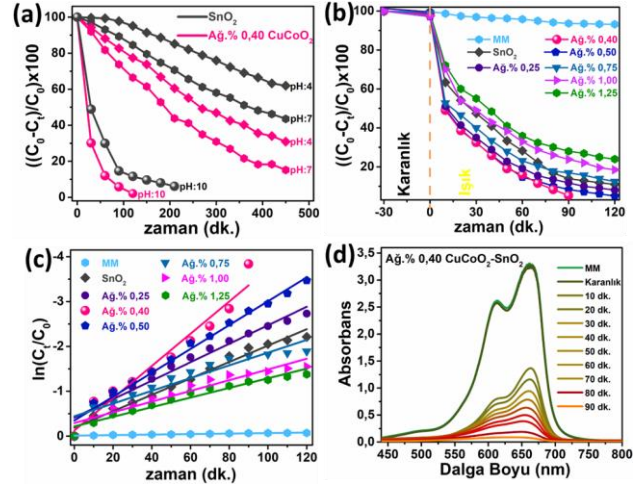
SnO<sub>2</sub> ve ağırlıkça farklı oranlarda CuCoO<sub>2</sub> dekore edilen SnO<sub>2</sub> fotokatalizörlerinin fotokatalitik aktiviteleri farklı pH değerlerinde MM boyasını kullanarak incelenmiştir. pH, fotooksidasyon işlemlerinin verimini ve kinetiğini önemli ölçüde etkileyen parametrelerden biri olduğu için, fotokataliz deneyleri öncelikle farklı pH değerlerinde gerçekleştirilmiştir. pH değerindeki değişiklik fotokatalizöre ait  $e-h^+$  çiftlerinin, fotokatalizör yüzeyinden ayrılması etkileyebilmektedir. Ayrıca organik kirletici boyalar ortamın asiditesi veya alkanitesine göre değişken aktivite sergileyebilmektedir [34, 39]. Bu durumlar dikkate alınarak fotokataliz çalışmalarında üç farklı başlangıç pH değerine sahip çözeltiler hazırlanıp, saf ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> fotokatalizörlerinin MM'nin bozunması üzerine etkisi araştırılmıştır (Şekil 8a).

SnO<sub>2</sub> nanofiberleri için pH=10'da 210 dk'da maksimum bozunma sağlanmış olup bu değer %94,3 olarak ölçülmüştür. pH=4 ve pH=7 için ise 450 dk'da sırasıyla %33,2 ve %52,7 olarak ölçülmüştür. Ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub> dekore edilmiş SnO<sub>2</sub> fotokatalizörü için ölçülen bozunma değeri ise pH=4 ve pH=7'de sırasıyla %66,8 ve %83,1 olarak ölçülmüştür. Heteroyapılı fotokatalizör en iyi sonucu pH=10'da sergilemiş olup, 90 dk içerisinde MM boyasının neredeyse tamamı (%95,8) yok etmiştir.

pH'ta meydana gelen artış ile fotokatalitik aktivitenin artışı, yüzeyde bulunan yüklerin modifikasyonu ve yüzey adsorpsiyonunun artmasından kaynaklanmaktadır. Bunlara ek olarak, SnO<sub>2</sub>'nin pH=10 civarında en yüksek zeta potansiyeli sahip olduğu ve bu sebeple bazik ortamda daha etkin aktivite sergilediğinden literatür raporlarında bahsedilmiştir [40].

Şekil 8b'de SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin, CuCoO<sub>2</sub> parçacıklarının ve ağırlıkça farklı oranlarda CuCoO<sub>2</sub> dekore edilmiş (ağırlıkça %0,25-1,25) heteroyapıların varlığında, boyanın konsantrasyonunda meydana gelen %bozunma değeri hesaplanmıştır. Şekilden de anlaşılacağı gibi, ilk 30 dk'da (karanlıkta), boya konsantrasyonu çok cüzi miktarda değişikliğe uğramıştır. 90 dk'lık fotokataliz sonrası SnO<sub>2</sub> nanofiberleri ile boyanın %88'lik kısmını yok ettiği tespit edilmiştir. Heteroyapılı numunelerde ise bozunma davranışı CuCoO<sub>2</sub> miktarı ile değişiklik

göstermektedir. Ağırlıkça %0,25, 0,40 ve 0,50 CuCoO<sub>2</sub> içeren fotokatalizörler 90 dk içerisinde MM'nin sırasıyla %90,2, 95,8 ve 92,6'sını uzaklaştırmaktadır.

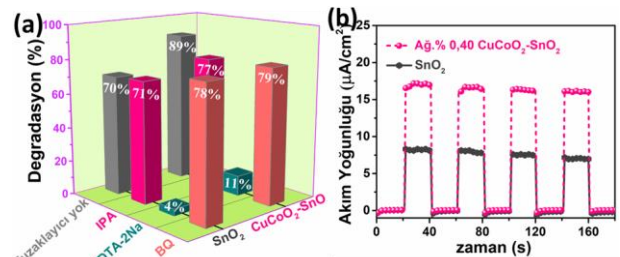


Şekil 8. (a) SnO<sub>2</sub> ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> varlığında pH'ın boya bozunumu üzerine etkisi, (b) ağırlıkça farklı oranlardaki heteroyapıların boya bozunumu üzerine etkisi, (c) bozunma hız sabitine ait ln grafiği ve (d) ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapısı kullanarak gerçekleştirilen fotokataliz çalışmasına ait gerçek zamanlı soğurum spektrumları

Ağırlıkça %0,75, 1,00 ve 1,25 CuCoO<sub>2</sub> içeren numunelerde ise bozunma değerinin bir miktar azaldığı (%82,5, 73,5 ve 66,8) görülmüştür. Dekore CuCoO<sub>2</sub> miktarı arttıkça büyük miktardaki CuCoO<sub>2</sub> parçacıkları SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin foton soğurumunu düşürerek fotokatalitik aktivitede düşüşe neden olabilir [23].

Şekil 8c'de SnO<sub>2</sub> ve farklı oranlarda CuCoO<sub>2</sub> içeren heteroyapıların boya bozunma hızını karşılaştırılmasında birinci dereceden kinetik modeli kullanılmıştır. SnO<sub>2</sub> nanofiberleri için reaksiyon hız sabiti 1,18 sa<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. 1,25, 1,87, 1,54, 0,79, 0,68 ve 0,59 sa<sup>-1</sup> olarak hesaplanan boya bozunma hız sabitleri sırasıyla, ağırlıkça %0,25, 0,40, 0,50, 0,75, 1,00 ve 1,25 CuCoO<sub>2</sub> içeren numunelerin aittir.

Ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub>'nin hız sabiti, 1,87 sa<sup>-1</sup> olarak SnO<sub>2</sub>'nin hız sabitinin (1,18 sa<sup>-1</sup>) 1,5 katından fazladır. Ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> numunesine ait gerçek zamanlı soğurum spektrumları Şekil 8d'de verilmiştir. Bu şekilde, MM'ye ait pik fotokataliz başladıktan hemen sonra hızla azalmaya başlamış ve 90 dk içerisinde neredeyse tamamen yok olmuştur.



Şekil 9. SnO<sub>2</sub> nanofiberinin ve ağırlıkça %0,40 CuCoO<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> heteroyapılı fotokatalizörünün (a) tuzaklayıcı kimyasal



(EDTA, IPA veya BQ) yokluğunda/varlığında boyanın bozunması üzerine etkisi ve (b) foto-akım yoğunluğu (kronoamperometri deneyleri, görünür ışık ortamında, açma/kapama döngüleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir)

SnO<sub>2</sub> ve ağırlık %0,40 CuCo<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> fotokatalizörlerinin, fotokatalitik aktivitesini belirleyen mekanizmaları belirlemede tuzaklayıcı (scavenger) kimyasallar kullanılarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. EDTA-2Na, İPA ve BQ kimyasalları sırasıyla,  $\cdot\text{OH}$ ,  $h^+$  ve  $\cdot\text{O}_2^-$  radikallerini belirlemede tuzaklayıcı olarak kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, Şekil 9a'da verilmiştir. Şekildeki ön kolonlar, SnO<sub>2</sub> fotokatalizörüne ait sonuçlar olup, İPA, EDTA-2Na ve BQ varlığında sırasıyla yaklaşık %71, 4 ve 78'lik bir bozunma gözlemlenmiştir. Tuzaklayıcı kimyasal kullanılmadığında ise bu değer yaklaşık %70'tir. Bu bulgular, SnO<sub>2</sub> varlığında boya bozunumunda  $h^+$  yardımıyla doğrudan oksidasyon mekanizması ile gerçekleştiğini göstermektedir. Şekil 9a'nın arka tarafındaki kolonlar ise ağırlık %0,40 CuCo<sub>2</sub>-SnO<sub>2</sub> fotokatalizörünün tuzaklayıcı testine aittir. Herhangi bir tuzaklayıcı kimyasal kullanılmadığında yaklaşık %89'luk bozunma sergiler. Bu değer, İPA, EDTA-2Na ve BQ tuzaklayıcıları kullanıldığında sırasıyla yaklaşık %77, 11 ve 79 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, heteroyapılı fotokatalizör ile gerçekleştirilen fotokatalizde  $h^+$ 'ya kıyasla,  $\cdot\text{O}_2^-$  ve  $\cdot\text{OH}$  radikallerinin daha az pasif rol oynadıklarını göstermiştir.

Yukarıdaki tartışmalara dayanarak, CuCo<sub>2</sub> parçacıklarının SnO<sub>2</sub> ile oluşturdukları heteroyapı sayesinde sistemdeki yük ayrımının daha verimli olması sağlanarak için fotokatalitik aktivitenin arttığından bahsedilebilir. Ayrıca, n-tipi SnO<sub>2</sub> ile p-tipi CuCo<sub>2</sub>'nin oluşturduğu kompozit malzeme, bir iç elektrik alan oluşmaktadır. Bu durumda, p-tipi yarı iletkenin iletim bandında oluşan  $e^-$ 'ler n-tipi yarı iletkenin iletim bandına, n-tipi yarı iletkenin değerlilik bandında oluşan  $h^+$ 'lar ise p-tipi yarı iletkenin değerlilik bandına geçmekte olup,  $e^-$ - $h^+$  çiftlerinin etkili bir şekilde birbirinden ayrılması sağlanır. Sonuç olarak, saf SnO<sub>2</sub>'ye kıyasla heteroyapılı malzeme daha yüksek fotokatalitik aktivite sergilemektedir.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, CuCo<sub>2</sub> parçacıkları hidrotermal yöntemle başarılı bir şekilde üretilmiş ve SnO<sub>2</sub> nanofiberlerinin fotokatalitik özelliklerinin geliştirilmesinde kullanılmıştır. Üretilen CuCo<sub>2</sub> parçacıklarının p-tipi bir delafosit ve bant aralığının 1,45 eV olduğu belirlenmiştir. CuCo<sub>2</sub>, dar bant aralığına sahip olduğundan görünür ışık fotokataliz uygulamaları için oldukça uygundur. Farklı oranlarda CuCo<sub>2</sub> dekore edilmiş (ağırlık %0,25-1,25) heteroyapılar, MM'nin bozundurulmasında kullanılmıştır. Fotokataliz çalışmalar sonucunda, kompozit numunelerin fotokatalitik verimliliklerinin dekore edilen CuCo<sub>2</sub>'nin miktarına bağlı olduğu

gözlemlenmiştir. Ağırlık %0,40 CuCo<sub>2</sub> dekore edilerek elde edilen kompozit fotokatalizör, 90 dk içerisinde %95,8'lik bir boya bozunumu göstererek en yüksek bozunma hızına sahip kompozit malzeme olmuştur ( $k=1,87 \text{ sa}^{-1}$ ).

#### Teşekkür

Bu çalışma, Konya Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından 202219056 numaralı hibe ile desteklenmiştir. Yazar, Doç. Dr. Volkan KALEM ve Doç. Dr. Hasan AKYILDIZ'a verdikleri destekten dolayı ayrıca teşekkür eder.

#### Etik Beyanı/Declaration of Ethical Code

*Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.*

#### Kaynakça

- [1] Mandal, S., Adhikari, S., Pu, S., Wang, X., Kim, D. H., Patel, R. K. 2019. Interactive Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/porous SiO<sub>2</sub> nanospheres for photocatalytic degradation of organic pollutants: Kinetic and mechanistic approach. Chemosphere, 234, 596-607.
- [2] Shaban, M., Abukhadra, M. R., Hamd, A., Amin, R. R., Khalek, A. A. 2017. Photocatalytic removal of Congo red dye using MCM-48/Ni<sub>2</sub>O<sub>3</sub> composite synthesized based on silica gel extracted from rice husk ash; fabrication and application. Journal of environmental management, 204, 189-199.
- [3] Gusain, R., Gupta, K., Joshi, P., Khatri, O.P. 2019. Adsorption removal and photocatalytic degradation of organic pollutants using metal oxides and their composites: A comprehensive review. Advances in colloid and interface science, 272, 1-16.
- [4] Mishra, A., Mehta, A., Basu, S. 2018. Clay supported TiO<sub>2</sub> nanoparticles for photocatalytic degradation of environmental pollutants: A review. Journal of environmental chemical engineering, 6, 6088-6107.
- [5] Pereira, W. S., Gozzo, C. B., Longo, E., Leite, E. R., Sczancoski, J. C. 2019. Investigation on the photocatalytic performance of Ag<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> microcrystals for the degradation of organic pollutants. Applied Surface Science, 493, 1195-1204.
- [6] Isik, Z., Bilici, Z., Adiguzel, S. K., Yatmaz, H. C., Dizge, N. 2019. Entrapment of TiO<sub>2</sub> and ZnO powders in alginate beads: Photocatalytic and reuse efficiencies for dye solutions and toxicity effect for DNA damage. Environmental Technology & Innovation, 14, 100358.

- [7] Kanakaraju, D., Glass, B. D., Oelgemöller, M., 2018. Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: a review. *Journal of environmental management*, 219 189-207.
- [8] Rosman, N., Salleh, W., Mohamed, M. A., Jaafar, J., Ismail, A., Harun, Z. 2018. Hybrid membrane filtration-advanced oxidation processes for removal of pharmaceutical residue. *Journal of colloid and interface science*, 532, 236-260.
- [9] Sharma, B., Boruah, P. K., Yadav, A., Das, M. R. 2018. TiO<sub>2</sub>-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocomposite heterojunction for superior charge separation and the photocatalytic inactivation of pathogenic bacteria in water under direct sunlight irradiation. *Journal of environmental chemical engineering*, 6, 134-145.
- [10] Hasija, V., Raizada, P., Sudhaik, A., Sharma, K., Kumar, A., Singh, P., Jonnalagadda, S. B., Thakur, V. K. 2019. Recent advances in noble metal free doped graphitic carbon nitride based nanohybrids for photocatalysis of organic contaminants in water: a review. *Applied Materials Today*. 15, 494-524.
- [11] Zhu, D., Zhou, Q. 2019. Action and mechanism of semi-conductor photocatalysis on degradation of organic pollutants in water treatment: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 12, 100255.
- [12] Yamada, T., Otsubo, K., Makiura, R., Kitagawa, H. 2013. Designer coordination polymers: dimensional crossover architectures and proton conduction. *Chemical Society Reviews*, 42, 6655-6669.
- [13] Spadavecchia, J., Apchain, E., Albéric, M., Fontan, E., Reiche, I. 2014. One-Step Synthesis of Collagen Hybrid Gold Nanoparticles and Formation on Egyptian-like Gold-Plated Archaeological Ivory. *Angewandte Chemie*, 126, 8503-8506.
- [14] Bargougui, R., Omri, K., Mhemdi, A., Ammar, S. 2015. Synthesis and characterization of SnO<sub>2</sub> nanoparticles: Effect of hydrolysis rate on the optical properties. *Advantage Materials Letters*, 6 816-819.
- [15] Williams, O. L. 2007. A theoretical study of charge confinement in quantum dots: Modelling the SnO<sub>2</sub> charge writing process. Swansea University (United Kingdom).
- [16] Pálincás, A., Molnár, G., Magda, G. Z., C. Hwang, C., Tapasztó, L., Samuely, P., Szabó, P., Osváth, Z. 2017. Novel graphene/Sn and graphene/SnOx hybrid nanostructures: Induced superconductivity and band gaps revealed by scanning probe measurements. *Carbon*, 124 611-617.
- [17] Lim, S. S., Baek, I. H., Kim, K. C., Baek, S. H., Park, H. H., Kim, J. S., Kim, S. K. 2019. Atomic layer deposition of SnO<sub>2</sub> thin films using tetraethyltin and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, *Ceramics International*, 45, 20600-20605.
- [18] T. ÖZTÜRK, Mezo-gözenekli SnO<sub>2</sub> Nanokompozitlerin Fotokatalitik Aktivitelerinin İncelenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 25 (2021) 466-472.
- [19] Yadav, A. K., Malik, H., Chandel, S. 2014. Selection of most relevant input parameters using WEKA for artificial neural network based solar radiation prediction models. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31, 509-519.
- [20] Bhattacharjee, A., Ahmaruzzaman, M., Sinha, T. 2015. A novel approach for the synthesis of SnO<sub>2</sub> nanoparticles and its application as a catalyst in the reduction and photodegradation of organic compounds. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 751-760.
- [21] Pelaez, M., Nolan, N. T., Pillai, S. C., Seery, M. K., Falaras, P., Kontos, A. G., Dunlop, P. S., Hamilton, J. W., Byrne, J. A., O'shea, K. 2012. A review on the visible light active titanium dioxide photocatalysts for environmental applications. *Applied Catalysis B: Environmental*, 125 331-349.
- [22] Dursun, S., Kaya, I. C., Kalem, V., Akyildiz, H. 2018. UV/visible light active CuCrO<sub>2</sub> nanoparticle-SnO<sub>2</sub> nanofiber p-n heterostructured photocatalysts for photocatalytic applications. *Dalton Transactions*, 47, 14662-14678.
- [23] Xiong, D., Chang, H., Zhang, Q., Tian, S., Liu, B., Zhao, X. 2015. Preparation and characterization of CuCrO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> heterostructure photocatalyst with enhanced photocatalytic activity. *Applied Surface Science*, 347, 747-754.
- [24] Ahmad, T., Phul, R., Alam, P., Lone, I. H., Shahzad, M., Ahmed, J., Ahamad, T., Alshehri, S. M. 2017. Dielectric, optical and enhanced photocatalytic properties of CuCrO<sub>2</sub> nanoparticles. *RSC advances*, 7, 27549-27557.
- [25] Dong, F., Wang, Z., Li, Y., Ho, W. K., Lee, S. 2014. Immobilization of polymeric g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> on structured ceramic foam for efficient visible light photocatalytic air purification with real indoor illumination. *Environmental science & technology*, 48, 10345-10353.
- [26] Santra, S., Das, N., Chattopadhyay, K. 2013. Wide band gap p-type nanocrystalline CuBO<sub>2</sub> as a novel UV photocatalyst. *Materials Research Bulletin*, 48 2669-2677.
- [27] Yu, M., Draskovic, T. I., Wu, Y. 2014. Cu (I)-based delafossite compounds as photocathodes in p-type dye-sensitized solar cells, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16, 5026-5033.

- [28] Thirumalairajan, S., V., Mastelaro, R., Escanhoela Jr, C. A. 2014. In-depth understanding of the relation between CuAlO<sub>2</sub> particle size and morphology for ozone gas sensor detection at a nanoscale level, *ACS applied materials& interfaces*, 6, 21739-21749.
- [29] Bouakaz, H., Abbas, M., Brahimi, R., Trari, M. 2021. Physical properties of the delafossite CuCoO<sub>2</sub> synthesized by co-precipitation/hydrothermal route. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 136 106132.
- [30] Kurita, K., Yagisawa, M., Okazaki, R. 2021. Electrical resistivity and thermopower of hole-doped delafossite CuCoO<sub>2</sub> polycrystals. *Japanese Journal of Applied Physics*, 60, 013001.
- [31] Isacfranklin, M., Yuvakkumar, R., Ravi, G., Pannipara, M., Al-Sehemi, A. G. 2021. CuCoO<sub>2</sub> electrodes for supercapacitor applications. *Materials Letters*, 296, 129930.
- [32] Zhong, X., He, H., Du, J., Ren, Q., Huang, J., Tang, Y., Wang, J., Yang, L., Dong, F., Bian, L. 2019. Boosting solar water oxidation activity and stability of BiVO<sub>4</sub> photoanode through the Co-catalytic effect of CuCoO<sub>2</sub>. *Electrochimica Acta*, 304, 301-311.
- [33] Dursun, S., Akyildiz, H., Kalem, V. 2021. PMN-PT nanoparticle/SnO<sub>2</sub> nanofiber heterostructures: Enhanced photocatalytic degradation performance by ultrasonic wave induced piezoelectric field. *Journal of Alloys and Compounds*, 889, 161769.
- [34] Dursun, S., Kaya, İ. C., Kocabaş, M., Akyildiz, H., Kalem, V. 2020. Visible light active heterostructured photocatalyst system based on CuO plate-like particles and SnO<sub>2</sub> nanofibers. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 17, 1479-1489.
- [35] Du, Z., Xiong, D., Verma, S. K., Liu, B., Zhao, X., Liu, L., Li, H. 2018. A low temperature hydrothermal synthesis of delafossite CuCoO<sub>2</sub> as an efficient electrocatalyst for the oxygen evolution reaction in alkaline solutions. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 5, 183-188.
- [36] Poienar, M., Sfirloaga, P., Martin, C., Ursu, D., Vlazan, P. 2018. Hydrothermal synthesis of crednerite CuMn<sub>1-x</sub>MxO<sub>2</sub> (M=Mg, Al; x= 0-0.08): structural characterisation and magnetic properties. *Journal of Materials Science*, 53, 2389-2395.
- [37] Du, Z., Xiong, D., Qian, J., Zhang, T. Bai, J. Fang, D., Li, H. 2019. Investigation of the structural, optical and electrical properties of Ca<sup>2+</sup> doped CuCoO<sub>2</sub> nanosheets. *Dalton Transactions*, 48, 13753-13759.
- [38] Tauc, J., Grigorovici, R., Vancu, A. 1966. Optical properties and electronic structure of amorphous germanium, *physica status solidi (b)*, 15, 627-637.
- [39] Chu, W., Choy, W., So, T. 2007. The effect of solution pH and peroxide in the TiO<sub>2</sub>-induced photocatalysis of chlorinated aniline. *Journal of hazardous materials*, 141, 86-91.
- [40] Shi, F. 2012. *Ceramic Coatings: Applications in Engineering*. BoD-Books on Demand, 12p.